



REVISIÓN

Actualización en cáncer gástrico. Nuevas clasificaciones moleculares

Cristina Díaz del Arco^{a,b,*}, Lourdes Estrada Muñoz^c, Luis Ortega Medina^{a,b}
y M^a Jesús Fernández Aceñero^{a,d}

^a Universidad Complutense de Madrid, España

^b Anatomía Patológica, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

^c Anatomía Patológica, Hospital Rey Juan Carlos, Madrid, España

^d Anatomía Patológica, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

Recibido el 21 de febrero de 2020; aceptado el 1 de junio de 2020

PALABRAS CLAVE

Actualización;
Gástrico;
Molecular;
Clasificación;
Marcador

KEYWORDS

Update;
Gastric;
Molecular;
Classification;
Target

Resumen El cáncer gástrico (CG) es un tumor agresivo que suele diagnosticarse en estadios avanzados y presenta altas tasas de mortalidad. Se han realizado múltiples clasificaciones del CG, dependiendo de factores como su localización, aspecto endoscópico o características microscópicas. Actualmente, el sistema TNM continúa siendo el pilar básico en la estratificación pronóstica y planificación del manejo de los pacientes. En las últimas décadas, el desarrollo de las técnicas moleculares ha permitido descubrir la heterogeneidad biológica del CG y realizar nuevas clasificaciones que refinan y complementan las disponibles hasta la fecha, con el potencial de individualizar el manejo del paciente e identificar nuevas dianas terapéuticas. En esta revisión actualizamos brevemente los aspectos epidemiológicos, diagnósticos, de clasificación y tratamiento del CG, centrándonos en las alteraciones moleculares identificadas y las clasificaciones moleculares más importantes publicadas hasta la fecha.

© 2020 Sociedad Española de Anatomía Patológica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Update on gastric cancer. New molecular classifications

Abstract Gastric cancer (GC) is an aggressive tumor, which is usually diagnosed at an advanced stage and shows high mortality rates. Several GC classifications have been published, based on features such as tumor location, endoscopic features or microscopic architecture. However, TNM stage remains the mainstay of GC management and treatment. In the last years, technical advances have allowed us to investigate the biological heterogeneity of GC and develop

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: crisdelarco@gmail.com (C. Díaz del Arco).

new molecular classifications. This knowledge may enhance current classifications, and has the potential to refine GC management and aid in the identification of new molecular targets. In this literature review we have summarized the main findings in epidemiology, screening, classification systems and treatment of GC, focusing on the molecular alterations and new molecular classifications published in the last years.

© 2020 Sociedad Española de Anatomía Patológica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El cáncer gástrico (CG) es una neoplasia agresiva que en países occidentales suele diagnosticarse en estadios avanzados¹. La clasificación TNM es el mejor sistema de estratificación disponible actualmente, pero el pronóstico de los pacientes con CG es muy pobre, con una supervivencia a cinco años que raramente supera el 30%². La investigación en cáncer y los avances moleculares que se han producido en la última década todavía no han tenido un gran impacto en la práctica clínica en CG, más allá de hitos puntuales como la determinación de HER2 en tumores avanzados³. Por tanto, se hace necesario el descubrimiento de nuevos biomarcadores y el estudio de la biología del CG, con el fin de hallar herramientas que nos permitan mejorar la estratificación de los pacientes e identificar aquellos que se puedan beneficiar de nuevas dianas terapéuticas. En esta revisión hemos actualizado brevemente los aspectos epidemiológicos, diagnósticos, de clasificación y tratamiento del CG, centrándonos en las alteraciones moleculares identificadas y las clasificaciones moleculares más importantes publicadas hasta la fecha.

Epidemiología

Según la última estimación de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (GLOBOCAN, 2018), el CG es el quinto tumor más frecuente en el mundo y constituye la tercera causa de mortalidad por cáncer⁴. Presenta una amplia variación entre regiones geográficas, siendo más habitual en Asia y Europa del Este y menos en Norteamérica y África. En 2018 se diagnosticaron más de un millón de casos nuevos y se produjeron 783.000 muertes debidas a CG en el mundo. En España, el informe anual «Las cifras del cáncer en España», publicado por la Sociedad Española de Oncología (SEOM) en su página web, estima que se diagnosticarán más de 7.500 casos nuevos en 2020 (representando el noveno tumor más frecuente). En este país fue el séptimo en mortalidad en 2018, ocasionando más de 5.000 muertes^{4,5}.

La incidencia y mortalidad de CG está disminuyendo en los últimos años, tanto en países desarrollados como en desarrollo⁶, dato que se atribuye a la reducción de la infección por *Helicobacter pylori*.

El CG puede clasificarse, dependiendo de su localización, en cáncer proximal (cardias) y distal, teniendo estos subtipos una incidencia y factores de riesgo diferentes. El

CG es un proceso complejo, reflejo de interacciones entre elementos infecciosos, del huésped y ambientales⁶. Los factores de riesgo más importantes identificados en CG distal son la infección por *H. pylori*, el sexo masculino, el tabaquismo y los hábitos dietéticos (como la dieta rica en sal o el consumo de carnes procesadas)^{7,8}. La infección por *H. pylori* se ha considerado el factor etiológico más importante en el desarrollo de CG distal, que es también el más frecuente⁹. Esta asociación ha sido analizada en estudios epidemiológicos y experimentales, y los mecanismos carcinogénicos propuestos incluyen la interferencia con vías de supresión tumoral, la disrupción de uniones célula-célula y el fomento de la transición epitelio-mesénquima o la inducción de la expresión de PD-L1¹⁰. El cáncer proximal muestra similitudes con el adenocarcinoma esofágico y se ha relacionado con la obesidad, el reflujo gastroesofágico y el esófago de Barrett⁴. La incidencia de CG en cardias, que de por sí supone una pequeña aportación a la totalidad de CG diagnosticado en el mundo, está en aumento, posiblemente debido al aumento de la obesidad y la enfermedad por reflujo gastroesofágico^{6,7,9}. El virus Epstein-Barr (VEB) es otro agente etiológico infeccioso conocido: el CG asociado a VEB supone el 9% del total de CG, y suele aparecer en el estómago medio o proximal¹¹.

Además del incremento de CG proximal, el CG parece estar aumentando en adultos jóvenes (menores de 50 años)¹⁰. En 2018, Anderson et al. publicaron un estudio en el que analizaron datos de CG recopilados del registro central de tumores norteamericano¹². Estos autores observaron un cambio epidemiológico en población blanca no hispana: identificaron un incremento de CG en personas jóvenes, en mujeres y en cuerpo gástrico. Este cambio en la tendencia solo se mantuvo en estados con menos del 20% de prevalencia de pobreza, por lo que parece ligado al nivel socioeconómico. Tanto estos como otros autores han sugerido que este nuevo perfil de paciente con CG (joven, mujer, cuerpo gástrico) podría haber aparecido por el paso de factores etiológicos infecciosos a autoinmunitarios¹⁰. La prevalencia de infección por *H. pylori* está en descenso generación tras generación, sobre todo en países desarrollados, probablemente debido al crecimiento económico y al uso extendido de antibióticos¹⁰. Por otra parte, la gastritis autoinmune (GI) cada vez está más reconocida como elemento etiológico en el CG¹². Song et al. observaron que los casos de GI en pacientes jóvenes (35-44 años) se triplicaron entre 1990 y 2009 en Suecia¹³. Además, la GI es tres veces más frecuente en mujeres que en hombres, lo que encaja

con esta nueva tendencia¹². Otras posibles etiologías propuestas son las modificaciones en la microbiota gástrica o el tratamiento prolongado con inhibidores de la bomba de protones¹².

Cáncer gástrico hereditario

La mayor parte de CG son esporádicos, pero se ha observado agregación familiar en aproximadamente un 10% de los casos, y entre 1 y 3% del total de CG son hereditarios^{8,14}. Los tres síndromes que producen CG como neoplasia principal son el CG difuso hereditario (CGDH), el CG intestinal familiar (CGIF) y el CG con poliposis proximal del estómago (CGPPE)¹⁵. El CGDH es una enfermedad autosómica dominante. Se han identificado mutaciones germinales del gen de la E-cadherina (*CDH1*) en el 15-50% de las familias afectadas, y en menor medida en el gen de la alfa-E-catenina (*CTNNA1*)^{14,15}. Se caracteriza por la aparición de CG difuso a edad temprana. La segunda neoplasia más frecuente en el CGDH es el carcinoma lobulillar de mama (en mujeres). El CGDH muestra alta penetrancia y se ha estimado un riesgo de desarrollo de CG a los 80 años del 70% en hombres y 56% en mujeres^{15,16}, por lo que en estos pacientes se recomienda la realización de gastrectomía profiláctica¹⁷. El CGIF es también autosómico dominante, pero la alteración genética subyacente no ha sido identificada¹⁵. En este síndrome se desarrollan CG de tipo intestinal sin poliposis gástrica asociada¹⁴. El CGPPE es un trastorno autosómico dominante con penetrancia incompleta en el que aparecen entre decenas y cientos de pólipos en el cuerpo gástrico, tanto hiperplásicos como adenomatosos. Algunos de ellos pueden mostrar displasia o CG de tipo intestinal o mixto^{15,16}. Estudios recientes han identificado mutaciones puntuales en el gen *APC* en las familias afectadas¹⁶. Los criterios clínicos de sospecha de cada uno de los síndromes pueden encontrarse en el artículo de actualización de van der Post et al.¹⁶.

Además, el CG forma parte de otros síndromes, entre los que se encuentran el síndrome de Lynch (por mutaciones en *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*, *EPCAM*) el síndrome de Li-Fraumeni (mutación de *TP53*), la poliposis adenomatosa familiar (mutación en el gen *APC*), el síndrome de Peutz-Jeghers (mutaciones en *STK11*), el síndrome de poliposis juvenil (mutaciones en *SMAD4* o *BMPR1A*), el síndrome de Cowden (mutaciones en *PTEN*), la poliposis asociada al gen *MYH* o el síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario (mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*)^{14,17}.

Cribado y diagnóstico

Solo países con alta incidencia de CG, como Japón y Corea, han puesto en marcha programas de cribado oportunista, utilizando la endoscopia digestiva alta o estudios radiológicos (serie gastrointestinal superior)¹⁸. En Corea se realiza endoscopia cada dos años en pacientes de más de 40 años, con una tasa de participación de aproximadamente el 50% de la población diana en el año 2011⁷. Debido a estos protocolos, en estos países se observa un mayor porcentaje de diagnóstico en estadios tempranos con supervivencia a cinco años mucho mayor que en otras localizaciones geográficas, que algunos estudios estiman en un 75%¹⁹.

Sin embargo, en países no asiáticos más del 60% de CG se diagnostican en estadios avanzados, con tasas de supervivencia global a cinco años del 30,4%^{20,21}. La enfermedad avanzada tiene muy mal pronóstico, con tasas de supervivencia global a cinco años de <5%²⁰.

Como las tasas de incidencia en la mayor parte de países no justifican la implementación de protocolos de cribado, y en países asiáticos las pruebas disponibles son costosas, invasivas (o ambas cosas), múltiples estudios han tratado de encontrar métodos menos invasivos y más rentables para la detección temprana de CG. En la práctica lo más utilizado es la determinación analítica de CEA, CA 19-9 y CA 72-4, pero estos marcadores no tienen la sensibilidad ni especificidad suficientes para la detección temprana de CG²². Tampoco se recomienda el análisis de las concentraciones de pepsinógeno o anticuerpos contra *H. pylori* como cribado de CG¹⁸.

Se está investigando el papel de la determinación de patrones de metilación en ADN en muestras de suero o plasma y de las concentraciones de moléculas como: microARN (*miARNs*, secuencias de 21-25 nucleótidos que no se traducen a proteínas pero pueden intervenir en la transcripción genética), ARN de cadena larga no codificante (*LncARNs*, >200 nucleótidos), ARN circulares (*CircARNs*, con sus extremos 3' y 5' unidos de forma covalente, lo que podría hacerlos más resistentes a la degradación), células tumorales circulantes o ADN circulante^{22,23}. El análisis de estas moléculas y estructuras en biopsia líquida podría tener impacto tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de los pacientes con CG. Sin embargo, todavía debe esclarecerse el papel de cada una de estas ellas en este contexto, optimizar las técnicas de laboratorio, aumentar su sensibilidad y seleccionar el método más idóneo para su traslación a la práctica clínica.

Por tanto, actualmente el diagnóstico de CG se realiza en biopsia endoscópica evaluada por un patólogo experto, y no se han estandarizado métodos alternativos de cribado o diagnóstico más allá de técnicas endoscópicas o radiológicas²⁴.

Tras el diagnóstico, para la estadificación del CG se debe realizar una exploración física, una analítica incluyendo función renal y hepática, ecografía endoscópica (EUS) y tomografía computarizada (TC)²⁴. La tomografía por emisión de positrones/TC (PET/TC) también puede ser útil en algunos casos para evaluar la enfermedad a distancia, aunque podría no ser informativa en tumores difusos o coloides. Se recomienda además llevar a cabo una laparoscopia en pacientes con cáncer resecable, para descartar enfermedad metastásica oculta.

Clasificación

El CG se puede clasificar según su localización anatómica en proximal y distal, y estos tumores presentan diferencias epidemiológicas, como hemos expuesto anteriormente. En algunos casos esta clasificación no resulta fácil, porque no hay consenso en la definición anatómica de cardias y la definición de tumor esofágico y gástrico ha variado en los últimos años. La última clasificación del Comité Estadounidense sobre el Cáncer (AJCC, 8ª edición) define los tumores como esofágicos si tienen el epicentro en los 2 cm más

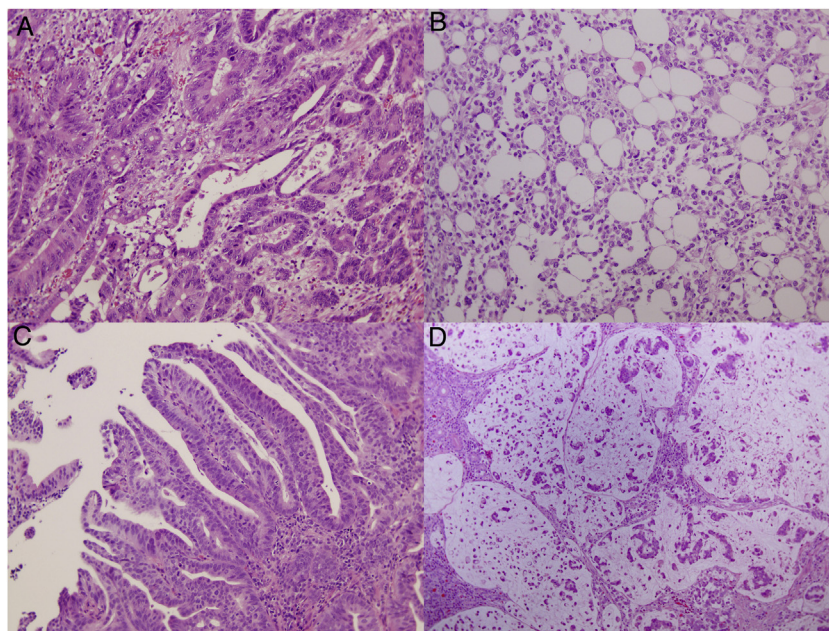


Figura 1 Subtipos de cáncer gástrico según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud. A) Tubular. H-E, $\times 200$. B) Discohesivo. H-E, $\times 200$. C) Papilar. H-E, $\times 200$. D) Mucinoso. H-E, $\times 200$. Imágenes A y C cortesía de la Dra. Isabel Casado Fariñas (Hospital Clínico San Carlos, Madrid).

proximales del estómago y afectan a la unión esófago-gástrica. Los tumores con epicentro en los 2-5 cm proximales de estómago y todos los que no cruzan la unión esófago-gástrica se consideran tumores gástricos²⁵.

El CG también puede clasificarse dependiendo de su imagen endoscópica o macroscópica según diferentes sistemas, entre los que se encuentran la clasificación de París (para lesiones de aspecto superficial), la de Borrmann (para CG avanzado) y la de la Sociedad Japonesa de Endoscopia (que incluye CG temprano y avanzado)^{26,27}.

Más del 90% de los CG son adenocarcinomas⁴. En 1965, Laurén definió dos tipos histológicos de CG: intestinal y difuso²⁸. El subtipo intestinal muestra arquitectura tubular y se ha asociado con más frecuencia a la infección por *H. pylori* y al proceso carcinogénico gastritis crónica-metaplasia intestinal-displasia⁶. El subtipo difuso está formado por células poco cohesivas que pueden presentar morfología en anillo de sello. Ming, en 1977, dividió al CG en expansivo o infiltrativo dependiendo de su patrón de crecimiento en el frente de avance²⁹. La clasificación de Goseki et al. (1992) combina el grado de diferenciación glandular y la cantidad de moco en el citoplasma de las células que lo componen, para así dividir al CG en cuatro subtipos (grados I-IV)³⁰. Finalmente, la última clasificación de la OMS identifica cuatro subtipos básicos de CG, además de variantes menos frecuentes: tubular, papilar, mucinoso y pobremente cohesivo³¹ (fig. 1). Otras clasificaciones publicadas son las de Grundmann et al. y de Carneiro.^{32,33} Grundmann et al. estudiaron CG en estadio temprano y definieron una clasificación basada en 1) el tipo celular y el patrón arquitectural y 2) la extensión y dirección del crecimiento invasivo. Así, el CG puede ser dependiendo del tipo celular tubular, de células en anillo de sello o anaplásico; dependiendo de la orientación del crecimiento focal, multifocal o de extensión superficial; y la invasión vertical se divide en ocho niveles

de profundidad³². Carneiro propuso subdividir al CG en tipo glandular (equivalente a intestinal de Laurén), tipo «células sueltas» (equivalente a difuso de Laurén), tipo sólido y tipo mixto (con componente glandular y de células sueltas)³³.

A pesar de estos esfuerzos, la clasificación histológica más utilizada, tanto en investigación como en la práctica clínica, es la de Laurén, que ha demostrado ser factor pronóstico independiente en algunos estudios^{34,35}. La única con una importancia similar es la propuesta por la OMS, actualizada por última vez en 2019.

Independientemente de la subdivisión del CG según su localización, aspecto macroscópico e histológico, la clasificación con mayor impacto pronóstico, que determina el manejo del paciente, es el sistema anatómico TNM³⁶. Este sistema valora la profundidad de invasión (T), el número de ganglios linfáticos afectados (N) y la presencia de metástasis a distancia (M). Aunque es la mejor estratificación disponible actualmente, se ha observado que el CG es una enfermedad heterogénea y el pronóstico de los pacientes puede variar sustancialmente dentro del mismo estadio, por lo que la incorporación de otros parámetros podría ser útil para refinarla³⁷.

La era molecular del cáncer gástrico

Los avances tecnológicos que se han producido en las últimas décadas han generado gran cantidad de datos en relación a las características biológicas y moleculares del CG. Una búsqueda en PubMed, introduciendo las palabras clave «molecular» y «gastric», devuelve más de 25.000 resultados. Entre los originales disponibles encontraremos principalmente tres tipos de artículo: 1) descripción de alteraciones aisladas o vías implicadas en la patogénesis del CG, con posibles implicaciones en tratamiento y/o pronóstico; 2) perfiles

de expresión génica, que generan paneles amplios para diagnóstico, pronóstico o tratamiento del CG y 3) integración de la información disponible para realizar clasificaciones con un número limitado de alteraciones moleculares. En esta revisión nos hemos centrado en estas últimas clasificaciones, que, como se ha visto en otros tipos de tumores, probablemente sean las que mayor impacto tengan en un futuro próximo en la práctica clínica.

Alteraciones moleculares

A modo de resumen, las alteraciones genéticas aisladas detectadas en CG incluyen principalmente mutaciones y alteraciones en el número de copias (en su mayoría ampliaciones), aunque también se ha observado pérdida de heterocigosidad y genes de fusión.

Se han identificado mutaciones en *TP53* (gen supresor de tumores implicado en la parada del ciclo celular e inducción de la apoptosis), en *BRCA2* (reparación de roturas de la doble hebra de ADN), en genes encargados de la adhesión celular, citoesqueleto y la motilidad celular (*FAT4*, *CDH1*, *CTNNA1*, *RHOA*), y en genes que codifican para proteínas de los complejos reguladores de cromatina³⁸. Cabe aclarar que la estructura de la cromatina está regulada fundamentalmente por dos tipos de complejos, los que modifican las histonas y los que remodelan los nucleosomas, dependientes de ATP. La modificación de la estructura de la cromatina tiene impacto en la accesibilidad e interacción entre el ADN y los reguladores transcripcionales, influyendo en la transcripción y por tanto en la expresión génica. Los complejos remodeladores de nucleosomas actúan como genes supresores de tumores, y pueden subdividirse en cinco familias dependiendo de su composición proteínica: *SWI/SNF*, *ISWI*, *INO80*, *SWR1* y *NuRD/Mi2/CHD*³⁹. En CG, se han identificado mutaciones en los componentes de estos complejos que incluyen *ARID1A*, *PBRM1*, *SMARCB1* (también conocida como *INI1*), *KMT2D* y *KMT2C*, *SMARCA1*, *CDH3* o *CDH4*. Se han identificado, asimismo, mutaciones en componentes de complejos reguladores de histonas como *SIRT1* y *SETD2*³⁸. Estos complejos catalizan la unión covalente de diferentes moléculas al extremo N-terminal de las proteínas histónicas y no histónicas. Producen acetilaciones, metilaciones, fosforilaciones o ubiquitinaciones, lo que genera un mayor o menor compactamiento del ADN alrededor de las histonas⁴⁰.

Por otra parte, las vías moleculares alteradas, con posible aplicación clínica, incluyen: la vía WNT/ β -catenina, que cumple funciones importantes en la diferenciación, proliferación y muerte celular (se han observado mutaciones activadoras de *CTNNB1* [codifica para β -catenina], e inactivadoras de *APC* o *RNF43*); y las vías asociadas a receptores tirosina-cinasa, entre las que se encuentran mutaciones en miembros de la familia de factores de crecimiento epidérmico (como *ERBB1* o *ERBB3*), o la activación de la vía PI3K/AKT/mTOR (con mutaciones en *PI3K*, *AKT*, *PTEN* y/o *mTOR*)^{41,42}.

En cuanto a las alteraciones en el número de copias, se han detectado principalmente ampliaciones en genes de las vías asociadas a receptores tirosina-cinasa, en concreto en *ERBB2* (también conocido como *HER2/neu*), *EGFR*, *MET*, *FGFR2* y *KRAS*. Deng et al. observaron que el 37% de los casos de CG presentan ampliaciones de estos genes, siendo las

más frecuentes en su estudio las de *FGFR2*. La mayor parte de CG solo mostró ampliación de uno de los componentes de la vía (73,6%) o ampliación de alto grado de uno de ellos y de bajo grado de otro (en 26,4% de los casos). Además, la ampliación de *ERBB2*, *KRAS* y *MET* se asocia a peor pronóstico⁴³. Se han identificado también ampliaciones de *PD-L1* y *PD-L2* (más frecuentes en tumores virus Eptein-Barr positivos y con inestabilidad de microsatélites), de genes relacionados con el ciclo celular (*CCND1*, *CCNE1*, *CDK6*, *CDKN2A/B*, *Rb*) y de factores de transcripción (como *KLF5*, *GATA4* o *GATA6*, que forman parte del mismo complejo y promueven la proliferación celular)³⁸.

Por otra parte, se han descubierto genes de fusión, producidos por reordenamientos cromosómicos, como *CD44-SLC1A2* (implicado en vías metabólicas), *CLDN18-ARHGAP26* (en la transición epitelio mesénquima) o *SLC34A2-ROS1* (que produce la activación constitutiva de *ROS1*)⁴⁴⁻⁴⁶.

Por último, también se ha descrito pérdida de heterocigosidad en distintos *locus*, algunos de ellos relacionados con genes supresores de tumores como *APC*, *nm23*, *Rb* y *TP53*^{47,48}.

Los estudios moleculares en CG también han detectado alteraciones epigenéticas, esencialmente inactivación de genes supresores de tumores por metilación del promotor (*CDH1*, *CDKN2a*, *FHL1*, *LOX*, *MLH1*, *SFRP*, *PTEN*). De hecho, se ha observado que en CG estos genes se inactivan con mayor frecuencia por mecanismos epigenéticos que genéticos⁴⁹. La infección por *H. pylori* parece ser un factor importante en la metilación del ADN y el proceso carcinogénico, probablemente a través del estrés inflamatorio inducido por la infección y factores de virulencia inherentes a la bacteria (*cagPAI*)⁵⁰.

Estos estudios epigenéticos han motivado que en CG, de manera similar al cáncer colorrectal, se describa y estudie un posible «fenotipo metilador». Estos tumores parecen asociarse a mutación de otros oncogenes y presentar mejor pronóstico^{49,51}.

Perfiles de expresión génica

El desarrollo de las técnicas moleculares ha llevado a la generación de perfiles de expresión génica con los que se crean mapas de expresión de decenas, cientos o miles de genes simultáneamente. Los resultados de estos perfiles han permitido comparar y detectar patrones de expresión diferenciales («firmas génicas»). Estos patrones pueden ser útiles para establecer el diagnóstico, clasificación, pronóstico y/o respuesta al tratamiento de diversos tumores. En CG se han publicado decenas de firmas génicas, cada una de las cuales incluye diferente número y tipo de genes, algunas orientadas a grupos de pacientes seleccionados y enfocadas a diversas aplicaciones clínicas. En la revisión publicada por Lin et al., en 2015, se incluyen muchas de ellas⁵².

Clasificaciones moleculares en cáncer gástrico

Por orden de importancia, la clasificación molecular de CG con más impacto ha sido la publicada por el Instituto Nacional del Cáncer (Atlas del Genoma del Cáncer, TCGA) en 2014⁵³. Este grupo de investigadores recogió muestras de CG de 295 pacientes con tumores *naive* (no habían

recibido tratamiento quimioterápico ni radioterápico). La referencia utilizada para detectar alteraciones somáticas fue ADN obtenido de la sangre de los pacientes o de mucosa gástrica no neoplásica. Analizaron las muestras por seis métodos distintos: realizaron un análisis del número de copias, secuenciación de exoma completo, perfil de metilación de ADN, secuenciación de ARN mensajero y micro ARN, y *array* de proteínas. El 77% de las muestras fueron analizadas en las seis plataformas. Posteriormente, se agruparon e integraron los datos obtenidos, dando lugar a cuatro subtipos de CG, con características moleculares y terapéuticas distintivas. La correlación con datos clínicos e histológicos en este y otros estudios ha detectado también diferencias clinicopatológicas entre los subtipos^{54,55}:

- Virus Epstein-Barr positivo (9%): mostraban con frecuencia mutación de *PIK3CA* (80%), amplificación de *ERBB2* y *JAK2*, sobreexpresión de *PD-L1* y *PD-L2*. Son los tumores que presentaban con mayor frecuencia metilación de ADN. Todos los tumores asociados a VEB presentaban hipermetilación del promotor de *CDKN2A* (p16), pero no mostraban hipermetilación de *MLH1*. Se observó mayor expresión de genes relacionados con la respuesta inmunitaria que en otros subtipos. La inhibición de la vía PI3K y la inmunoterapia podrían ser útiles en este subgrupo de pacientes. Estos tumores se dan en pacientes más jóvenes, varones, y son menos frecuentemente antrales.
- Inestabilidad de microsatélites (IMS, 22%): presentaban alta tasa de mutaciones (en genes como *PIK3CA*, *ERBB3*, *ERBB2*, *EGFR*) y metilación de regiones promotoras. Al contrario que en tumores colorrectales, no se observó mutación V600E de *BRAF*. En este subgrupo no fueron frecuentes las amplificaciones de receptores tirosina-cinasa. En tumores con IMS también podría ser útil la inmunoterapia, por los neoantígenos generados por la reparación alterada de defectos en ADN. Son más frecuentes en mujeres, pacientes mayores, y en la parte distal del estómago.
- Genómicamente estable (20%): identificaron mutaciones en *RHOA* (15%), *ARID1A* y *CDH1*, y fusión de *CLDN18-ARHGAP26*. La alteración de *RHOA* y el gen de fusión eran mutuamente excluyentes. Estos tumores presentaban expresión aumentada de vías que intervienen en la adhesión celular y angiogénesis, que podrían constituir dianas terapéuticas. Se desarrollan principalmente en antro gástrico, seguido de porción proximal y cuerpo o *fundus*, se dan en pacientes más jóvenes y son más frecuentemente de tipo difuso.
- Inestabilidad cromosómica (50%): eran tumores con amplificaciones de receptores tirosina-cinasa (como *VEGF*, *FGFR2*, *ERBB2*), muchos de los cuales podrían ser utilizados como diana terapéutica. También presentaban amplificación de genes relacionados con el ciclo celular (ciclina E1, ciclina D1 y cinasa dependiente de ciclinas 6) y mutaciones en genes como *TP53* (71%), *ARID1A*, *KRAS*, *PIK3CA*, *ERBB3*, *PTEN* o *HLA-B*. Suelen ser tumores de tipo intestinal y se dan con más frecuencia en la unión esófago-gástrica o en el cardias.

Por su parte, el Grupo Asiático de Investigación en Cáncer (ACRG), en 2015, estudió el CG de 251 pacientes realizando perfiles de expresión génica, análisis del número de copias y

secuenciación dirigida (paneles de genes)⁵⁶. Definieron cuatro subtipos que validaron en distintas cohortes de pacientes con CG. Para determinar los subtipos es necesario realizar un algoritmo diagnóstico. Primero, dividieron los CG en tumores estables y con IMS. Los tumores estables los subdividieron en tumores tipo mesenquimal (con transición epitelio mesénquima [TEM]) y tipo epitelial. Los de tipo epitelial se dividieron finalmente en CG con p53 intacto (p53 activos) y con alteración de p53 (p53 inactivos). La pérdida funcional de p53 no se evaluó de forma directa secuenciando el gen *TP53*, sino que se valoró de la actividad de los genes p21 (*CDKN1A*) y *MDM2*, como marcadores subrogados de la actividad de p53. La baja expresión de estos dos genes se consideró equivalente a pérdida funcional de p53.

- Inestabilidad de microsatélites (IMS, 23%): se caracterizaban por la pérdida de expresión de *MLH1* y extensa metilación del ADN. Presentaban mutaciones frecuentes (*KRAS*, genes de la vía *PI3K-AKT-mTOR*, *ALK*, *ARID1A*, *TP53*). Son tumores de tipo intestinal en más del 60% de los casos, más frecuentemente antrales, y es el subtipo con menos recurrencias y mejor pronóstico.
- Tipo mesenquimal (15%): con pérdida de expresión de *CDH1*. Presentaban baja frecuencia de mutaciones y amplificaciones. Los CG tipo mesenquimal aparecen en pacientes más jóvenes, el 80% son de tipo difuso, se diagnostican en estadios avanzados, producen más recurrencias y tienen peor pronóstico.
- p53 inactivo (36%): el grupo con mayor cantidad de alteraciones en número de copias. Se observó amplificación de *ERBB2*, *EGFR*, *CCNE1*, *CCND1*, *KRAS* o *MET*. Presentaban mutación de *TP53* en el 60%. Este subtipo tiene un pronóstico intermedio.
- p53 activo (27%): mayor cantidad de mutaciones que el tipo p53 inactivo (*APC*, *PIK3CA*, *KRAS*, *ARID1A*, *SMAD4*). Se observó mutación de *TP53* en el 23,7%. El pronóstico de estos tumores es también intermedio, pero ligeramente mejor que el del grupo p53 inactivo.

Los subtipos moleculares de CG definidos por el ACRF son similares a los definidos por TCGA, pero no son del todo equivalentes. Los subgrupos p53 activo, IMS, TEM y p53 inactivo equivaldrían al VEB positivo, IMS, genómicamente estable y con inestabilidad cromosómica de la clasificación de TCGA, respectivamente.

En la [figura 2](#) se ha incluido un esquema comparando las clasificaciones del Instituto Nacional del Cáncer (TCGA) y el Grupo Asiático de Investigación en Cáncer (ACRG), con la correlación entre subtipos moleculares. En la [figura 3](#) hemos incluido los datos moleculares más reseñables del CG de tipo intestinal y difuso de Laurén.

En estudios previos, los CG asociados a VEB han mostrado hallazgos histopatológicos característicos^{11,57}. Los CG VEB positivos pueden ser carcinomas tipo linfopitelioma con prominente infiltración linfocítica o adenocarcinomas convencionales de bajo grado con infiltrado linfocitario asociado variable⁵⁷ ([fig. 4](#)). Los CG con IMS son más frecuentemente múltiples y de tipo intestinal. En CG los estudios sobre fenotipo de tumores con IMS son menos numerosos que en cáncer colorrectal, aunque algunos autores han descrito que

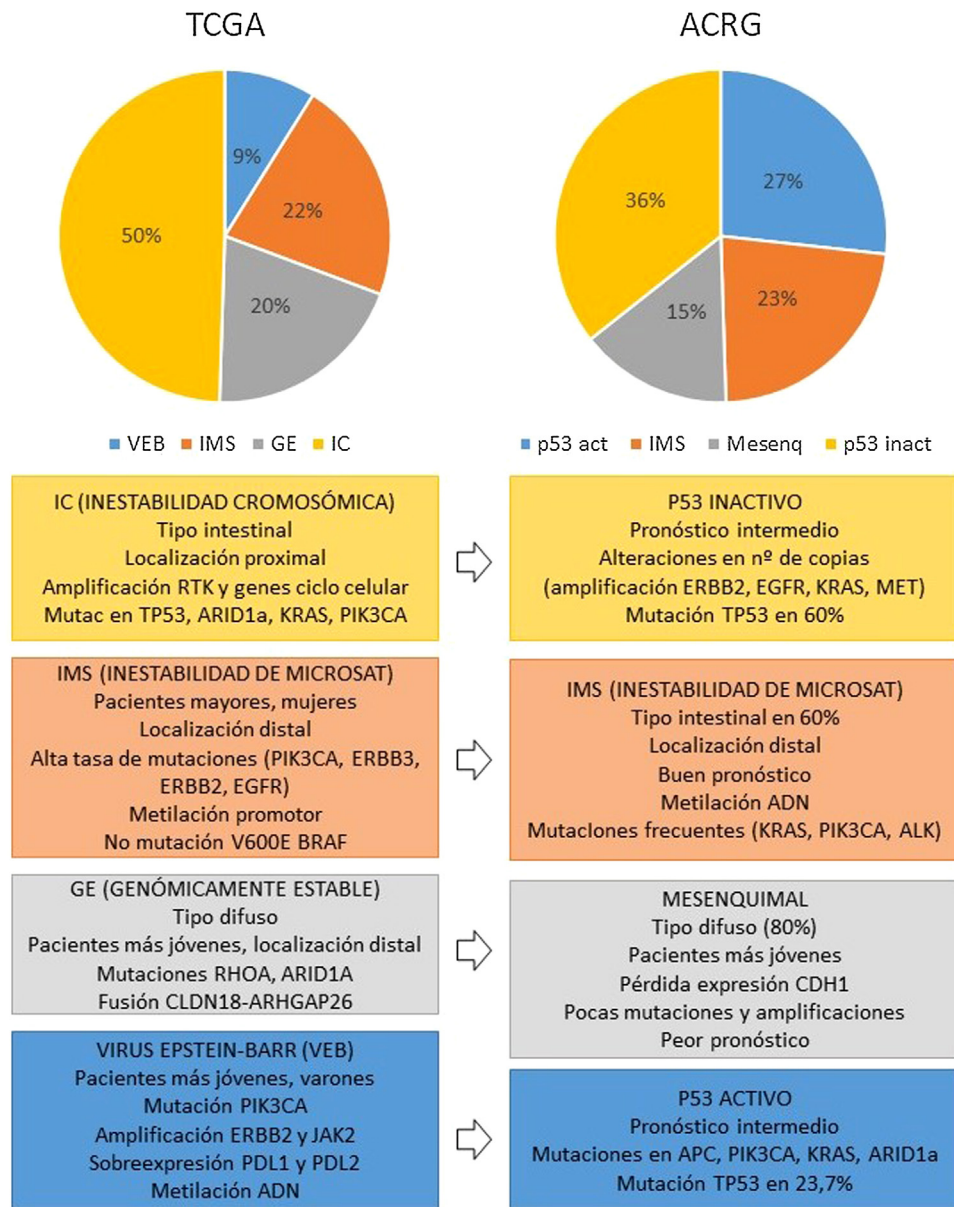


Figura 2 Clasificaciones moleculares del Instituto Nacional del Cáncer (TCGA) y el Grupo Asiático de Investigación en Cáncer (ARCG). Características esenciales y correlación entre subtipos moleculares.

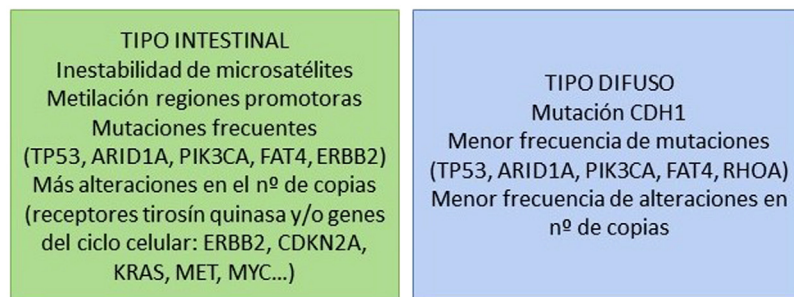


Figura 3 Clasificación de Laurén. Características moleculares esenciales de cada subtipo.

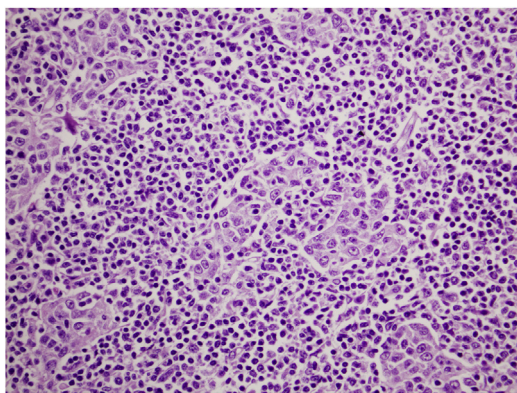


Figura 4 Lesión de 3 cm en cuerpo gástrico: carcinoma gástrico tipo linfopiteloma. Neoplasia formada por pequeños nidos y trabéculas epiteliales, con estroma rico en linfocitos. H-E, $\times 400$.

pueden presentar células tumorales pleomórficas con estroma inflamatorio y borde expansivo⁵⁸.

Otras clasificaciones moleculares publicadas, aparte de las del Instituto Nacional del Cáncer y del Grupo Asiático de Investigación en Cáncer, son las de Tan et al. (2011), Shah et al. (2011) Lei et al. (2013) y Wang et al. (2014).

Tan et al. estudiaron perfiles de expresión génica en 37 líneas celulares de CG, y posteriormente validaron sus resultados en 521 pacientes de cuatro cohortes independientes⁵⁹. Definieron los tipos «G-INT» y «G-DIF», que presentan similitudes pero no una correlación total con la clasificación de Laurén. Los tumores G-INT mostraron sobreexpresión de genes relacionados con la adhesión celular, metabolismo proteínico y de hidratos de carbono. Los tumores G-DIF presentaban mayor expresión de genes relacionados con proliferación celular y metabolismo lipídico. Los autores propusieron el uso de dos marcadores inmunohistoquímicos (LGALS4 y CDH17) para poder trasladar esta clasificación a la práctica clínica. Además, esta clasificación tiene valor pronóstico y terapéutico. Los tumores G-DIF presentan peor pronóstico. Los G-INT son más sensibles a 5-fluorouracilo y oxaliplatino, pero más resistentes a cisplatino.

Shah et al. analizaron perfiles de expresión génica en 36 pacientes con CG localizado⁶⁰. Predefinieron tres subtipos de CG: proximal no difuso, difuso y distal no difuso. Tras el análisis, observaron que había un número significativo de genes expresados de forma diferencial, tanto entre subtipos como con respecto a estómago no tumoral. Identificaron 10, 9 y 9 genes que permitían distinguir entre proximal no difuso/difuso, proximal no difuso/distal no difuso, y difuso/distal no difuso, respectivamente.

Wang et al. dividieron al CG en tres tipos: tumores con IMS, estables asociados a VEB y estables no asociados a VEB⁶¹. Tanto los tumores IMS como los estables asociados a VEB presentaban fenotipo metilador y mostraban una estabilidad cromosómica relativa. Los asociados a VEB mostraban los mayores niveles de hipermetilación (20-25% de los loci estudiados), sin desmetilación. Los inestables presentaban tanto hipermetilación como desmetilación extensa del genoma, y mayor frecuencia de mutaciones de genes como *MUC6*, *ARID1A* o *RNF43*. Los tumores estables no asociados a VEB mostraban inestabilidad cromosómica, desmetilación

extensa del genoma y mayor frecuencia de mutaciones de *TP53*. Dentro de este grupo, los subtipos intestinal y difuso de Laurén presentaban distintas alteraciones, teniendo los intestinales mayor inestabilidad cromosómica y desmetilación extensa del genoma y los difusos mayor frecuencia de metilación de la región del promotor.

Como apunte, la inestabilidad cromosómica podría deberse a que la desmetilación produce áreas «frágiles» del genoma más propensas a romperse. Los autores hipotetizan que este proceso podría estar modulado por p53, ya que el subgrupo de CG con IMS, a pesar de su patrón de desmetilación extensa, no presentó inestabilidad cromosómica.

Lei et al. analizaron los perfiles de expresión génica de 248 CG e identificaron tres tipos moleculares de CG: proliferativo, metabólico y mesenquimal⁶². El tipo proliferativo se caracterizaba por hipometilación del ADN, inestabilidad genómica, mutación de *TP53* y amplificación de genes como *MYC*, *HER2*, *KRAS* y *CCNE1*. Los CG metabólicos mostraron alta actividad de la vía SPEM y expresión de genes de mucosa gástrica normal. Los mesenquimales presentaban características de células madre (alta expresión de CD44 y baja de CD24) y de células mesenquimales (alta expresión de *CDH2* y baja de *CDH1*). Los autores no observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a pronóstico, pero sí encontraron relación con la clasificación de Laurén y la respuesta al tratamiento. Los tumores proliferativos y mesenquimales eran más frecuentemente intestinales y difusos, respectivamente. Los metabólicos eran más sensibles a 5-fluorouracilo, y los mesenquimales a los inhibidores de la vía PI3K-AKT-mTOR.

Las clasificaciones moleculares en la práctica clínica: inmunohistoquímica como marcador subrogado

La última guía de CG de la Red Oncológica Nacional de EE.UU. (NCCN, *Clinical Practice Guidelines in Oncology*, versión 1.2020), recomienda la determinación de HER2, PD-L1 y el estado de IMS por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o inmunohistoquímica (IHQ), si no se ha realizado previamente, en todo paciente con CG avanzado, recurrente o metastásico en el que se plantee tratamiento con anti-HER2 (trastuzumab) o inmunoterapia. La IHQ parece ser un buen marcador subrogado de la IMS, aunque los estudios sobre concordancia entre IHQ y PCR en CG son escasos⁶³. En el estudio de Martínez-Ciarpaglini et al., la IHQ mostró una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de 91%, 98%, 91% y 98%, respectivamente⁶³. En este mismo artículo, publicado en la revista de la Sociedad Europea de Oncología (ESMO), se recomienda además la identificación del CG asociado a VEB, ya que muestra mayor respuesta a inmunoterapia. Sin embargo, la indicación de la realización de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para VEB en CG no está tan clara⁶⁴.

En cuanto a la clasificación molecular del CG, varios autores han aplicado algunas de las clasificaciones expuestas anteriormente a series de CG de sus propias instituciones, utilizando marcadores inmunohistoquímicos como sustitutos de las alteraciones moleculares descritas, asociados o no a otras técnicas (PCR o FISH). Estos estudios han encontrado impacto pronóstico en la estratificación de los pacientes

y destacan la posible utilidad del empleo de marcadores subrogados para trasladar estas nuevas clasificaciones a la práctica clínica.

Gonzalez et al.⁶⁵ utilizaron técnicas IHQ para MLH1 y p53, y FISH para detectar el VEB (EBER). El algoritmo diagnóstico propuesto supone realizar en primer lugar FISH para VEB, después MLH1 a los FISH negativos y por último p53 a los que no presentan alteración en FISH ni MLH1. Bösch et al.⁶⁶ aplicaron la misma clasificación. Setia et al., Ramos et al., Birkman et al. y Koh et al. realizaron primero FISH para VEB, después proteínas reparadoras, E-cadherina y por último p53⁶⁷⁻⁷⁰. En nuestro hospital realizamos un estudio aplicando la clasificación del Grupo Asiático de Investigación en Cáncer, que no incluye el subtipo asociado a VEB⁷¹. Finalmente, Kim et al.⁷² y Martinson et al.⁷³ no subclasificaron los tumores en grupos mutuamente excluyentes, sino que utilizaron la IHQ como marcador subrogado de alteraciones que podrían ser útiles como diana terapéutica.

El número de marcadores utilizados y los criterios de interpretación de cada uno de ellos varían considerablemente entre estudios. Respecto a la IMS, la mayoría de los investigadores incluyen los cuatro marcadores de proteínas reparadoras y consideran tumores inestables a los que presentan pérdida completa de al menos un marcador IHQ. E-cadherina se considera alterada si se observa pérdida completa de expresión. Algunos autores realizan puntos de corte de < 5% de expresión y otros especifican que interpretaron la pérdida de refuerzo de membrana como alteración en la tinción^{69,71}. La mayor falta de consenso se observa en la tinción IHQ para p53. La pérdida de expresión no se interpreta como alteración en p53 en todos los estudios, y los puntos de corte para considerar «sobreexpresión» varían entre el 70-90%, en los casos en los que se describen, siendo más utilizado el 70%^{66,69}. En cuanto a la pérdida de expresión, probablemente lo más correcto sería considerarla como alteración en p53, aunque deben tenerse en cuenta las limitaciones de los estudios realizados sobre *tissue microarrays*, en los que se evalúa una pequeña área de tumor, y la valoración de la ausencia total de expresión puede resultar problemática con marcadores IHQ que no tiñen habitualmente de manera homogénea.

No existe, por tanto, un procedimiento de referencia para aplicar clasificaciones moleculares con marcadores subrogados. Este hecho supone un problema que obstaculiza la aplicación de estas clasificaciones en la práctica y exige estudios con mayor número de pacientes, así como consenso entre patólogos expertos sobre qué marcadores subrogados utilizar y con qué puntos de corte.

Manejo y tratamiento del cáncer gástrico

La última guía de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO), publicada en 2016 con algunas modificaciones posteriores, da las claves del manejo de CG sustentadas en la evidencia científica disponible²⁴. El único tratamiento que se considera curativo en CG es la cirugía.

Los tumores T1a confinados a la mucosa, bien diferenciados, de ≤ 2 cm y no ulcerados, pueden tratarse con resección endoscópica (resección mucosa endoscópica o disección submucosa endoscópica, siendo esta última más recomendable). En los tumores estadio IB-III se recomienda

gastrectomía radical asociada a terapia perioperatoria, aunque puede realizarse una gastrectomía subtotal si se obtiene un margen proximal de 5 cm en tumores de tipo intestinal y de 8 cm en los de tipo difuso. Existe debate en cuanto a la extensión de la linfadenectomía, pero en pacientes con buen estado general se recomienda una disección D2, que incluye ganglios perigástricos y los de las arterias gástrica izquierda, hepática común, esplénica y el tronco celíaco.

Los tumores avanzados se tratan principalmente con quimioterapia. En primera línea se recomiendan las combinaciones de platinos y fluoropirimidinas, y en segunda línea pueden utilizarse taxanos, irinotecan o ramucirumab (anti-VEGFR-2). También en primera línea se añade anti-HER2 (trastuzumab) en tumores HER2 positivos²⁰.

Avances en el tratamiento del cáncer gástrico: posible impacto de las clasificaciones moleculares

Como hemos expuesto anteriormente, el principal tratamiento en CG es la cirugía, generalmente asociada a terapia perioperatoria. En pacientes con CG no resecable, la base del tratamiento es la quimioterapia. Sin embargo, los regímenes quimioterápicos no han aumentado significativamente su efectividad en los últimos años, y se hace necesaria la detección de nuevos marcadores para incluir fármacos dirigidos en los protocolos de tratamiento²¹. Los únicos fármacos no quimioterápicos aprobados en CG son ramucirumab y trastuzumab⁷⁴. En cuanto a otros fármacos anti-HER2, lapatinib ha mostrado una eficacia limitada, y pertuzumab está actualmente en estudio. La terapia anti-EGFR, MET, PI3K/mTOR y PARP no ha mostrado beneficio significativo²¹. Algunos investigadores subrayan el hecho de que la falta de efectividad de terapias dirigidas en CG podía deberse a una inadecuada selección de los pacientes con las clasificaciones utilizadas actualmente⁷⁵. En tercera línea se están estudiando fármacos como apatinib (VEGFR-2), trifluridina/tipiracilo (quimioterápico oral) o regorafenib (inhibidor multikinasa)⁷⁶.

Por otra parte, la Administración de Alimentos y Medicamentos estadounidense (FDA) aprobó en 2017 el uso de pembrolizumab en todo tumor sólido con inestabilidad de microsatélites (MSI-H). Es una indicación agnóstica del tipo de tumor, que incluye por tanto al cáncer gástrico^{21,77}. Se encuentran en estudio las combinaciones con Nivolumab, que han mostrado resultados esperanzadores²⁰. También en el campo de la inmunoterapia la clasificación molecular del CG podría tener su aplicación. Se han detectado respuestas objetivas a inmunoterapia incluso en pacientes PD-L1 negativos, y los subtipos con inestabilidad de microsatélites, positivos para virus Epstein-Barr y con alta tasa mutacional parecen ser más sensibles a tratamiento con estos fármacos^{78,79}.

Con respecto al CG localizado o resecable, en países con baja-moderada incidencia se observan supervivencias a cinco años de menos del 50%, a pesar de realizarse tratamiento combinado con cirugía y terapia perioperatoria²¹. En estos casos la clasificación molecular podría ser útil para seleccionar aquellos pacientes que se beneficiarían más del tratamiento posquirúrgico, evitando toxicidades y modulándolo en función del riesgo.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Los autores declaramos no haber recibido financiación externa para la realización de la investigación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Serra O, Galán M, Ginesta MM, Calvo M, Sala N, Salazar R. Comparison and applicability of molecular classifications for gastric cancer. *Cancer Treat Rev*. 2019;77:29–34.
- Jin H, Pinheiro PS, Callahan KE, Altekruze SF. Examining the gastric cancer survival gap between Asians and whites in the United States. *Gastric Cancer*. 2017;20:573–82.
- Szász AM, Lánckzy A, Nagy Á, Förster S, Hark K, Green JE, et al. Cross-validation of survival associated biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data of 1,065 patients. *Oncotarget*. 2016;7:49322–33.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:394–424.
- Sánchez MJ, Payer T, De Angelis R, Larrañaga N, Capocaccia R, Martínez C, et al. Cancer incidence and mortality in Spain: Estimates and projections for the period 1981–2012. *Ann Oncol*. 2010;21:30–6.
- Ang TL, Fock KM. Clinical epidemiology of gastric cancer. *Singapore Med J*. 2014;55:621–8.
- Arnold M, Park JY, Camargo MC, Lunet N, Forman D, Soerjomataram I. Is gastric cancer becoming a rare disease? A global assessment of predicted incidence trends to 2035. *Gut*. 2020;69:823–9, gutjnl-2019-320234.
- Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: Global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol*. 2019;14:26–38.
- Petryszyn P, Chapelle N, Matysiak-Budnik T. Gastric cancer: Where are we heading? *Dig Dis*. 2020, 10.1159/000506509.
- Camargo MC, Figueiredo C, Machado JC. Review: Gastric malignancies: Basic aspects. *Helicobacter*. 2019;26:e12642.
- Nishikawa J, Iizasa H, Yoshiyama H, Shimokuri K, Kobayashi Y, Sasaki S, et al. Clinical importance of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer. *Cancers (Basel)*. 2018;10:167.
- Anderson WF, Rabkin CS, Turner N, Fraumeni JF Jr, Rosenberg PS, Camargo MC. The changing face of noncardia gastric cancer incidence among US Non-Hispanic Whites. *J Natl Cancer Inst*. 2018;110:608–15.
- Song H, Held M, Sandin S, Rautelin H, Eliasson M, Söderberg S, et al. Increase in the prevalence of atrophic gastritis among adults age 35 to 44 years old in Northern Sweden between 1990 and 2009. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:1592–600.
- Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: Genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *Lancet Oncol*. 2015;16:e60–70.
- Colvin H, Yamamoto K, Wada N, Mori M. Hereditary gastric cancer syndromes. *Surg Oncol Clin N Am*. 2015;24:765–77.
- van der Post RS, Oliveira C, Guilford P, Carneiro F. Hereditary gastric cancer: What's new? Update 2013–2018. *Fam Cancer*. 2019;18:363–7.
- Polom K, Marrelli D, D'Ignazio A, Roviello F. Hereditary diffuse gastric cancer: How to look for and how to manage it. *Updates Surg*. 2018;70:161–6.
- Hamashima C. Systematic Review Group and Guideline Development Group for Gastric Cancer Screening Guidelines. Update version of the Japanese Guidelines for Gastric Cancer Screening. *Jpn J Clin Oncol*. 2018;48:673–83.
- Jun JK, Choi KS, Lee H-Y, Suh M, Park B, Song SH, et al. Effectiveness of the Korean National Cancer Screening Program in reducing gastric cancer mortality. *Gastroenterology*. 2017;152:1319–28, e7.
- Charalampakis N, Economopoulou P, Kotsantis I, Tolia M, Schizas D, Liakakos T, et al. Medical management of gastric cancer: A 2017 update. *Cancer Med*. 2018;7:123–33.
- Salati M, Orsi G, Smyth E, Aprile G, Beretta G, De Vita F, et al. Gastric cancer: Translating novel concepts into clinical practice. *Cancer Treat Rev*. 2019;79:101889.
- Necula L, Matei L, Dragu D, Neagu AI, Mambet C, Nedeianu S, et al. Recent advances in gastric cancer early diagnosis. *World J Gastroenterol*. 2019;25:2029–44.
- Shan C, Zhang Y, Hao X, Gao J, Chen X, Wang K. Biogenesis, functions and clinical significance of circRNAs in gastric cancer. *Mol Cancer*. 2019;18:136.
- Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D, et al. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016;27:v38–49.
- Rice TW, Ishwaran H, Ferguson MK, Blackstone EH, Goldstraw P. Cancer of the esophagus and esophagogastric junction: An eighth edition staging primer. *J Thorac Oncol*. 2017;12:36–42.
- The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: Esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. *Gastrointest Endosc*. 2003;58:53–43.
- Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer*. 2011;14:101–12.
- Laurén P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965;64:31–49.
- Ming SC. Gastric carcinoma: A pathobiological classification. *Cancer*. 1977;39:2475–85.
- Goseki N, Takizawa T, Koike M. Differences in the mode of the extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma. *Gut*. 1992;33:606–12.
- World Health Organization. WHO Classification of Tumours of the Digestive System. 5th ed. Lyon, France: IARC Press; 2019.
- Grundmann E, Schlake W. Histological classification of gastric cancer from initial to advanced stages. *Pathol Res Pract*. 1982;173:260–74.
- Carneiro F. Classification of gastric carcinomas. *Curr Diagnostic Pathol*. 1997;4:51–9.
- Wang H, Xing X-M, Ma L-N, Liu L, Hao J, Feng L-X, et al. Metastatic lymph node ratio and Lauren classification are independent

- prognostic markers for survival rates of patients with gastric cancer. *Oncol Lett.* 2018;15:8853.
35. Jiménez Fonseca P, Carmona-Bayonas A, Hernández R, Custodio A, Cano JM, Lacalle A, et al. Lauren subtypes of advanced gastric cancer influence survival and response to chemotherapy: Real-world data from the AGAMENON National Cancer Registry. *Br J Cancer.* 2017;117:775–82.
 36. Son T, Sun J, Choi S, Cho M, Kwon IG, Kim H-I, et al. Multi-institutional validation of the 8th AJCC TNM staging system for gastric cancer: Analysis of survival data from high-volume Eastern centers and the SEER database. *J Surg Oncol.* 2019;120:676–84. jso.25639.
 37. Zubarev M, Min E-K, Son T. Clinical and molecular prognostic markers of survival after surgery for gastric cancer: Tumor-node-metastasis staging system and beyond. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2019;4:59.
 38. Chia N-Y, Tan P. Molecular classification of gastric cancer. *Ann Oncol.* 2016;27:763–9.
 39. Wilson BG, Roberts CWM. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011;11:481–92.
 40. Marmorstein R, Trievel RC. Histone modifying enzymes: structures, mechanisms, and specificities. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1789:58–68.
 41. Tapia O, Riquelme I, Leal P, Sandoval A, Aedo S, Weber H, et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway is activated in gastric cancer with potential prognostic and predictive significance. *Virchows Arch.* 2014;465:25–33.
 42. Chen K, Yang D, Li X, Sun B, Song F, Cao W, et al. Mutational landscape of gastric adenocarcinoma in Chinese: Implications for prognosis and therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112:1107.
 43. Deng N, Goh LK, Wang H, Das K, Tao J, Tan IB, et al. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. *Gut.* 2012;61:673–84.
 44. Lee J, Lee SE, Kang SY, Do I-G, Lee S, Ha SY, et al. Identification of ROS1 rearrangement in gastric adenocarcinoma. *Cancer.* 2013;119:1627.
 45. Yao F, Kausalya JP, Sia YY, Teo ASM, Lee WH, Ong AGM, et al. Recurrent fusion genes in gastric cancer: CLDN18-ARHGAP26 induces loss of epithelial integrity. *Cell Rep.* 2015;12:272–85.
 46. Tao J, Deng NT, Ramnarayanan K, Huang B, Oh HK, Leong SH, et al. CD44-SLC1A2 gene fusions in gastric cancer. *Sci Transl Med.* 2011;3:77ra30.
 47. Yu J, Liu P, Cui X, Sui Y, Ji G, Guan R, et al. Identification of novel subregions of LOH in gastric cancer and analysis of the HIC1 and TOB1 tumor suppressor genes in these subregions. *Mol Cells.* 2011;32:47–55.
 48. Gazvoda B, Juvan R, Zupanič-Pajnič I, Repše S, Ferlan-Marolt K, Balažič J, et al. Genetic changes in Slovenian patients with gastric adenocarcinoma evaluated in terms of microsatellite DNA. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007;19:1082.
 49. Kim JG, Takeshima H, Niwa T, Rehnberg E, Shigematsu Y, Yoda Y, et al. Comprehensive DNA methylation and extensive mutation analyses reveal an association between the CpG island methylator phenotype and oncogenic mutations in gastric cancers. *Cancer Lett.* 2013;330:33–40.
 50. Muhammad JS, Eladl MA, Khoder G. Helicobacter pylori-induced DNA methylation as an epigenetic modulator of gastric cancer: Recent outcomes and future direction. *Pathogens.* 2019;8:23.
 51. Shigeyasu K, Nagasaka T, Mori Y, Yokomichi N, Kawai T, Fuji T, et al. Clinical significance of MLH1 methylation and CpG island methylator phenotype as prognostic markers in patients with gastric cancer. *PLoS One.* 2015;10:e0130409.
 52. Lin X, Zhao Y, Song W-M, Zhang B. Molecular classification and prediction in gastric cancer. *Comput Struct Biotechnol J.* 2015;13:448–58.
 53. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014;513:202–9.
 54. Garattini SK, Basile D, Cattaneo M, Fanotto V, Ongaro E, Bonotto M, et al. Molecular classifications of gastric cancers: Novel insights and possible future applications. *World J Gastrointest Oncol.* 2017;9:194–208.
 55. Alessandrini L, Manchi M, De Re V, Dolcetti R, Canzonieri V. Proposed molecular and miRNA classification of gastric cancer. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1683.
 56. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim K-M, Ting JC, Wong SS, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med.* 2015;21:449–56.
 57. Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (Review). *Int J Oncol.* 2015;46:1421–34.
 58. Ratti M, Lampis A, Hahne JC, Passalacqua R, Valeri N. Microsatellite instability in gastric cancer: Molecular bases, clinical perspectives, and new treatment approaches. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75:4151–62.
 59. Tan IB, Ivanova T, Lim KH, Ong CW, Deng N, Lee J, et al. Intrinsic subtypes of gastric cancer, based on gene expression pattern, predict survival and respond differently to chemotherapy. *Gastroenterology.* 2011;141:476–85. e111.
 60. Shah MA, Khanin R, Tang L, Janjigian YY, Klimstra DS, Gerdes H, et al. Molecular classification of gastric cancer: A new paradigm. *Clin Cancer Res.* 2011;17:2693–701.
 61. Wang K, Yuen ST, Xu J, Lee SP, Yan HHN, Shi ST, et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat Genet.* 2014;46:573–82.
 62. Lei Z, Tan IB, Das K, Deng N, Zouridis H, Pattison S, et al. Identification of molecular subtypes of gastric cancer with different responses to PI3-Kinase inhibitors and 5-Fluorouracil. *Gastroenterology.* 2013;145:554–65.
 63. Martinez-Ciarpaglini C, Fleitas-Kanonnikoff T, Gambardella V, Llorca M, Mongort C, Mengual R, et al. Assessing molecular subtypes of gastric cancer: Microsatellite unstable and Epstein-Barr virus subtypes. Methods for detection and clinical and pathological implications. *ESMO Open.* 2019;4:e000470.
 64. Naseem M, Barzi A, Brezden-Masley C, Puccini A, Berger MD, Tokunaga R, et al. Outlooks on Epstein-Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev.* 2018;66:15–22.
 65. Gonzalez RS, Messing S, Tu X, McMahon LA, Whitney-Miller CL. Immunohistochemistry as a surrogate for molecular subtyping of gastric adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2016;56:16–21.
 66. Bösch F, Todorova R, Link H, Westphalen CB, Boeck S, Heineemann V, et al. Molecular subtyping of gastric cancer with respect to the growth pattern of lymph-node metastases. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019;145:2689–97.
 67. Setia N, Agoston AT, Han HS, Mullen JT, Duda DG, Clark JW, et al. A protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer. *Mod Pathol.* 2016;29:772–84.
 68. Ramos MFKP, Pereira MA, Amorim LC, de Mello ES, Faraj SF, Ribeiro U, et al. Gastric cancer molecular classification and adjuvant therapy: Is there a different benefit according to the subtype? *J Surg Oncol.* 2020;121:804–13. jso.25792.
 69. Birkman E-M, Mansuri N, Kurki S, Ålgars A, Lintunen M, Ristamäki R, et al. Gastric cancer: immunohistochemical classification of molecular subtypes and their association with clinicopathological characteristics. *Virchows Arch.* 2018;472:369–82.
 70. Koh J, Lee K-W, Nam SK, Seo AN, Kim J-W, Kim JW, et al. Development and validation of an easy-to-implement, practical algorithm for the identification of molecular subtypes of gastric cancer: Prognostic and therapeutic implications. *Oncologist.* 2019;24:e1321–30.
 71. Díaz del Arco C, Estrada Muñoz L, Molina Roldán E, Cerón Nieto M, Ortega Medina L, García Gómez de las Heras S, et al.

- Immunohistochemical classification of gastric cancer based on new molecular biomarkers: A potential predictor of survival. *Virchows Arch.* 2018;473:687–95.
72. Kim HS, Shin S-J, Beom S-H, Jung M, Choi YY, Son T, et al. Comprehensive expression profiles of gastric cancer molecular subtypes by immunohistochemistry: Implications for individualized therapy. *Oncotarget.* 2016;7:44608–20.
73. Martinson HA, Mallari D, Richter C, Wu T-T, Tiesinga J, Alberts SR, et al. Molecular classification of gastric cancer among Alaska native people. *Cancers (Basel).* 2020;12:198.
74. Digkila A, Wagner AD. Advanced gastric cancer: Current treatment landscape and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2016;22:2403–14.
75. Lutz MP, Zalcberg JR, Ducreux M, Adenis A, Allum W, Aust D, et al. The 4th St. Gallen EORTC Gastrointestinal Cancer Conference: Controversial issues in the multimodal primary treatment of gastric, junctional and oesophageal adenocarcinoma. *Eur J Cancer.* 2019;112:1–8.
76. Smyth EC, Moehler M. Late-line treatment in metastatic gastric cancer: today and tomorrow. *Ther Adv Med Oncol.* 2019;11, 175883591986752.
77. Boyiadzis MM, Kirkwood JM, Marshall JL, Pritchard CC, Azad NS, Gulley JL. Significance and implications of FDA approval of pembrolizumab for biomarker-defined disease. *J Immunother Cancer.* 2018;6:35.
78. Fuchs CS, Doi T, Jang RW, Muro K, Satoh T, Machado M, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol.* 2018;4:e180013.
79. Kim ST, Cristescu R, Bass AJ, Kim K-M, Odegaard JI, Kim K, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. *Nat Med.* 2018;24:1449–58.