



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ONCOLOGIA**

**Cuantificación de células tumorales circulantes y
su asociación con reseabilidad en pacientes con adenocarcinoma
ductal de páncreas.**

TESIS

Para obtener el grado de especialista en:

Cirugía Oncológica

Presenta:

Dra. Cinthya Jazmín González Garduño

Investigador responsable:

Dr. Rafael Medrano Guzmán

Asesor Metodológico:

Dr. Juan José Montesinos Montesinos

Ciudad de México, Octubre 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Responsable Técnico Sustituto:

Dr. Juan José Montesinos Montesinos(montesinosster@gmail.com).

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas. UMAE Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI. Tel 5523 15 6025.

Tutor:

Dr. Rafael Medrano Guzmán (rafael.medrano66@prodiy.net.mx). Jefe del Servicio de Sarcomas y tubo digestivo alto. UMAE Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI. Tel. 55 2653 6010.

Alumna:

Dra. Cinthya Jazmín González Garduño (cinthya.gard@gmail.com).Residente de Cirugía Oncológica de UMAE Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI. Tel. 7445 88 4375.

CONTENIDO

Resumen.....	5
Antecedentes.....	7
1.- Cáncer de páncreas (adenocarcinoma ductal de páncreas).....	7
2.- Criterios de resecabilidad y protocolo prequirúrgico.....	10
3.- Metástasis: Células tumorales circulantes en adenocarcinoma ductal de páncreas.....	12
JUSTIFICACIÓN.....	15
Planteamiento del Problema.....	16
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	16
Objetivo General.....	17
Objetivos Específicos.....	17
Hipótesis.....	18
Material y metodos.....	19
Diseño del estudio.....	20
Características del estudio:.....	20
Ubicación espacio temporal.....	20
Muestra.....	21
Criterios de Selección.....	21
1. Criterios de inclusión.....	21
2. Criterios de exclusión.....	21
3. Criterios de eliminación.....	21
Intervención.....	22
Aspectos Éticos.....	22
Consideraciones de la Norma e Instructivos Institucionales.....	22
Bioseguridad.....	22
Recursos, Financiamiento y Factibilidad.....	22
Recursos humanos.....	23
Cronograma de Actividades.....	25
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	35

Referencias Bibliográficas.....	36
ANEXOS	42
Hoja de captura de recolección de datos.....	43
consentimiento informado.....	44

RESUMEN

Cuantificación de células tumorales circulantes y su asociación con resecabilidad en pacientes con adenocarcinoma ductal de páncreas.

Antecedentes: El cáncer de páncreas es un tumor con una letalidad del 92.5%. Y solo el 20% de los pacientes son candidatos a cirugía. Una estrategia novedosa para valorar la presencia de tumores *in situ*, es la identificación de CTC's en adenocarcinoma ductal de páncreas en sangre periférica donde un número mayor de CTC's podría estar asociado a la irresecabilidad. Objetivo: Evaluar la asociación entre la cuantificación de células tumorales circulantes y la resecabilidad en pacientes con adenocarcinoma ductal de páncreas. Material y métodos: se trata de un estudio retrospectivo, que medirá el número de CTC's; procesamiento de la muestra: separadas por tamaño con un filtro de nitrocelulosa de 0.8um e identificadas con pancitoqueratina, y posterior análisis por un patólogo experto para determinar si se trata de una célula tumoral. Se realizará un análisis clínico, mediante una prueba de Cox, si la presencia de CTC es un factor dependiente para resecabilidad. Experiencia del grupo: En el grupo multidisciplinario están involucrados investigadores expertos como biólogos, oncólogos y patólogos especializados para esta neoplasia; se tiene una experiencia de 5 años en el estudio de cáncer de páncreas, en estudios retrospectivos con una base de datos desde 2007 al 2012. Recursos e infraestructura: Pertenece a un protocolo mayor con registro R-2016-3602-37 con la convocatoria 2016 del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (FOSISS) de Conacyt. Con el respaldo por el Laboratorio de Células Troncales Mesenquimales de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas perteneciente a la Coordinación de Investigación en Salud y por el Servicio de Sarcomas y Tumores de Tubo digestivo de la UMAE del Hospital de Oncología, ambas del CMN SXXI, IMSS. Tiempo a desarrollarse: Durante el periodo de febrero del 2017 a junio del 2018. Resultados: Se encontraron un total de 12 pacientes con diagnóstico de cáncer

de páncreas, dentro de un total de aproximadamente 152 pacientes. Con resecabilidad en un 20%, encontrándose más CTC's en aquellos que son irresecables. Discusión: Los resultados al compararlos con la bibliografía entrar en el porcentaje de resecabilidad, sin embargo al comparar el numero de pacientes sometidos a exploración quirúrgica con diagnostico final de cáncer de páncreas fue mucho menor a la bibliografía esto podría explicarse en el supuesto de que el gran porcentaje de pacientes enviados a nuestro hospital para manejo es en etapas avanzadas, los cuales únicamente reciben tratamiento de mejores cuidados de soporte sin completarse en muchos casos el diagnóstico. Conclusiones el cáncer de páncreas es una neoplasia maligna de alta letalidad, con bajo porcentaje de resecabilidad, este da pie para la valoración de cuantificación de CTC's en pacientes en otros estadios, para demostrar su valor pronostico.

ANTECEDENTES.

1.- Cáncer de páncreas (adenocarcinoma ductal de páncreas).

Uno de los principales problemas de salud a nivel mundial es el cáncer. El cáncer es una de las principales causas de muerte tanto a nivel nacional como a nivel mundial¹. Tan sólo se le atribuyen cerca de 7.9 millones de defunciones (13% a nivel mundial), se calcula que podría llegar a los 12 millones de defunciones para el 2030. En México dentro de las tres principales causas de mortalidad se encuentra el cáncer en la tercera posición sólo por detrás de la diabetes en la segunda posición y las enfermedades cardiovasculares en la primera posición.¹ Dentro de todos los tumores que se pueden generar en el cuerpo humano, uno de los que tiene un alto índice de mortalidad es el cáncer de páncreas, si bien no es el más frecuente comparado con otro tipo de tumores como pulmón, estómago, hígado entre otros, ocupa la primer posición en letalidad a nivel nacional e internacional ^{2,3}

El cáncer de páncreas en México tiene una tasa de mortalidad de 3.3 por cada 100,000 habitantes³. En el hospital de oncología de Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) durante el periodo comprendido entre el 2005 al 2012 se reportaron 1,588 casos nuevos de cáncer de páncreas, con una edad media de 63 años, representando el 2.1% del total de incidencias ⁴. Pese a ser un tumor poco frecuente, el cáncer de páncreas presenta una letalidad del 92.5% a nivel mundial y a nivel nacional ³.

Aunque la causa del cáncer de páncreas es multifactorial y compleja, se ha asociado a diferentes factores de riesgo, dentro de los principales están el tabaquismo asociado en un 20% y los antecedentes familiares que se presentan entre el 7 al 10% de los pacientes, con mutaciones en los genes BRCA2, PALB2, CDKN2A, STK11 y PRSS1 y el síndrome de Lynch, y otros menos claros como pancreatitis crónica, edad avanzada, sexo masculino,

etnia afroamericana, diabetes mellitus, obesidad, grupo sanguíneo O, exposiciones ocupacionales, dieta con alto contenido de grasa y carne y bajas en vegetales y ácido fólico, infección por *Helicobacter pylori* y enfermedad periodontal^{5,6}.

La fisiopatología que describe a los adenocarcinomas ductales pancreáticos es el desarrollo a través de lesiones precursoras no invasivas, más típicamente neoplasias intraepiteliales pancreáticas adquiriendo alteraciones genéticas y epigenéticas seleccionadas clonalmente en el camino, también pueden evolucionar de neoplasias mucinosas papilares intraductales o quísticas mucinosas⁵.

El cáncer de páncreas en estadio temprano suele ser asintomático y la enfermedad se hace evidente después de que el tumor invade los tejidos circundantes o hace metástasis a órganos distantes. Síntomas típicos incluyen dolor abdominal o de espalda media, ictericia obstructiva y pérdida de peso. La pérdida de peso puede surgir de la anorexia, la mala digestión por la obstrucción ductal pancreática y la caquexia. Un 25 % pueden presentar diabetes mellitus al diagnóstico y un 40% intolerancia a la glucosa. La obstrucción del conducto pancreático puede provocar pancreatitis. Otros síntomas como trombosis venosa profunda y superficial, obstrucción gástrica con náuseas y vómitos a veces ocurre con una enfermedad más avanzada⁵.

Según las guías de la red internacional integral del cáncer (“NCCN” por sus siglas en inglés: National Comprehensive Cancer Network) versión 2019 de adenocarcinoma de páncreas, una vez que se tiene la sospecha clínica, es necesario realizar como primer estudio de imagen la tomografía trifásica contrastada, con esta se valorar la extensión y presencia de metástasis por un grupo multidisciplinario. En caso de no haber evidencia de metástasis para completar el protocolo puede ser necesario solicitar tomografía de tórax y abdomen contrastadas, considerar ultrasonido endoscópico, resonancia magnética si es necesario para la evaluación de lesiones hepáticas

sospechosas, PET/CT en pacientes de alto riesgo, colocación de stent endoscópica, pruebas de función hepática y Ca 19-9 posterior al drenaje de la vía biliar.⁷

Estadificación de cáncer de páncreas según NCCN 2019

Table 1. Definitions for T, N, M
American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM Staging of Pancreatic Cancer (8th ed., 2017)

T	Primary Tumor	N	Regional Lymph Nodes
TX	Primary tumor cannot be assessed	NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumor	N0	No regional lymph node metastases
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> This includes high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN-3), intraductal papillary mucinous neoplasm with high-grade dysplasia, intraductal tubulopapillary neoplasm with high-grade dysplasia, and mucinous cystic neoplasm with high-grade dysplasia	N1	Metastasis in one to three regional lymph nodes
T1	Tumor ≤2 cm in greatest dimension	N2	Metastasis in four or more regional lymph nodes
T1a	Tumor ≤0.5 cm in greatest dimension	M	Distant Metastasis
T1b	Tumor >0.5 cm and <1 cm in greatest dimension	M0	No distant metastases
T1c	Tumor 1–2 cm in greatest dimension	M1	Distant metastasis
T2	Tumor >2 cm and ≤4 cm in greatest dimension		
T3	Tumor >4 cm in greatest dimension		
T4	Tumor involves the celiac axis, superior mesenteric artery, and/or common hepatic artery, regardless of size		

Table 2. AJCC Prognostic Groups

	T	N	M
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1	N0	M0
Stage IB	T2	N0	M0
Stage IIA	T3	N0	M0
Stage IIB	T1, T2, T3	N1	M0
Stage III	T1, T2, T3	N2	M0
	T4	Any N	M0
Stage IV	Any T	Any N	M1

A pesar de que la cirugía es el tratamiento más eficaz, pocos pacientes pueden ser intervenidos quirúrgicamente debido a que la mayor parte de ellos (80%) son detectados en estadios avanzados de la enfermedad (etapa clínica III y IV)^{5,6}, donde la invasión a vasos macroscópicos así como la diseminación a distancia (metástasis) favorece que el tumor sea irreseccable, lo que impacta en el mal pronóstico de los pacientes.^{8–10}

Los pacientes con cáncer de páncreas tienen una supervivencia del 5% a 5 años, inclusive aquellos que son candidatos a cirugía curativa (20%) tienen una tasa de supervivencia de 20 % a 5 años con una supervivencia media de 20 meses^{5,8,11,12}. Los pacientes que presentan una mejor supervivencia después de cirugía incluyen dentro de sus características: ganglios linfáticos negativos, un tamaño tumoral menor de 3 cm, y la resección completa del tumor con un margen de al menos 1.5 mm³.

Uno de los principales objetivos en la intervención quirúrgica, son los bordes quirúrgicos negativos a neoplasia, que se asocian con una mejor supervivencia. Por ello es importante la resección completa del tumor sin bordes quirúrgicos. Los bordes quirúrgicos con tumor se clasifican en: ausencia de tumor residual o bordes sin tumor (R0); tumor residual microscópico (R1); tumor residual macroscópico (R2); el tumor residual no puede ser evaluado (RX)¹³

Cabe resaltar que la mayor parte de los tumores generados en el páncreas son adenocarcinomas ductales (85%). Los adenocarcinomas ductales de páncreas se originan en las células ductales epiteliales que recubren los conductos de este órgano.⁸ Este subtipo se caracteriza por presentar abundante matriz extracelular y tejido fibrótico, una característica biológica conocida como desmoplasia, la cual se observa en el 95% de los adenocarcinomas ductales de páncreas¹⁴ e inclusive se ha reportado que la desmoplasia favorece la transformación de células tumorales epiteliales a células tumorales mesenquimatosas con mayor capacidad migratoria, las cuales pueden entrar a la circulación y por lo tanto generar metástasis.¹⁵⁻¹⁸ Hasta el momento se conoce que existen células tumorales en la circulación (CTC's) venosa de pacientes con adenocarcinoma de páncreas desde estadios tempranos de la enfermedad¹⁹, sin embargo se desconoce si el número de células tumorales circulantes correlaciona con la resecabilidad del tumor.

2.- Criterios de resecabilidad y protocolo prequirúrgico.

Las guías NCCN del 2019 refiere que los objetivos del manejo quirúrgico del cáncer pancreático se centran en el logro de una resección R0, como ya se ha comentado debido a que el margen positivo se asocia con una pobre supervivencia a largo plazo. Como criterios de resecabilidad se establecen un tumor sin infiltración a tronco celiaco, arteria mesentérica superior, vena mesentérica superior, arteria hepática común y vena porta; así como tumores limítrofes para resección a nivel de la cabeza de páncreas y de proceso uncinado, los cuales son tumores sólidos en contacto con la arteria hepática

común, pero sin extensión al eje celiaco o a la bifurcación de la arteria hepática
7.

Los estudios de gabinete preoperatorios son indispensables como parte del protocolo prequirúrgico en el cáncer de páncreas, con el fin de selección a los pacientes candidatos a cirugía y evitar las exploraciones quirúrgicas sin éxito; los estudios de gabinete advierten a los cirujanos sobre la anatomía irregular del órgano afectado, por lo que son un arma fundamental para determinar la resecabilidad y valorar la anatomía arterial aberrante.

Shrikhande y colaboradores, reportaron por medio de un metaanálisis que la tomografía computarizada cuenta con una sensibilidad de 68-77% para lesiones con un tamaño de ≤ 2 cm y del 77% para tumores > 2 cm. Este método de detección incluso puede tener una sensibilidad del 98% en algunos casos, similar a la resonancia magnética nuclear la cual es del 100%, esta última cuenta con una precisión del 83% para la determinación de resecabilidad, y del 87% y 95% en carcinomas de cabeza de páncreas para afectación arterial y venosa respectivamente.²⁰

El ultrasonido endoscópico se prefiere para afecciones < 2 cm con sensibilidad cercana al 100% y especificidad mayor del 95%. En el trabajo de Shrikhande y colaboradores se concluye que tanto la tomografía computarizada como la resonancia magnética nuclear son comparables para el diagnóstico y estadificación como la primera modalidad de imagen ²⁰.

Otro método de detección es la tomografía de emisión de positrones que tiene un límite de resolución de 4-10mm, por lo que solo detecta el 50% de las metástasis hepáticas ²⁰.

Pese a todas a estas herramientas no existe un método totalmente eficiente para determinar el nivel de resecabilidad de tumores en pacientes con cáncer de páncreas, por lo cual se han buscado estrategias que permitan la detección de tumores pancreáticos en estadios tempranos los cuales puedan en conjunto con

las herramientas actuales de imagen mejorar la resecabilidad en los pacientes. Una de esas posibles estrategias es la detección de CTC's, las cuales se han observado en pacientes diagnosticados para adenocarcinoma de páncreas en estadios tempranos ¹⁹.

3.- Metástasis: Células tumorales circulantes en adenocarcinoma ductal de páncreas.

La metástasis es un proceso complejo que ocurre en tumores de origen maligno, donde la célula tumoral se desprende del tumor primario alterando su microambiente, entrando a la circulación y colonizando un órgano diferente al de su origen²¹.

Para que la metástasis ocurra, la célula tumoral requiere modificar su fenotipo, esto lo hace a través de un proceso biológico llamado: transición epitelio mesénquima (TEM).²² Así, en este proceso se pierden marcadores de epitelio como E-cadherina y citoqueratinas, características de su sitio de origen y se expresan marcadores mesenquimatosos (vimentina, N-cadherina entre otros), así como factores de transcripción que regulan esta transformación en la célula tumoral (snail, slug, ZEB1, ZEB2).^{10,17,22-30}

Se sabe que las células que tiene su origen en el tumor primario y que presentan la capacidad de intravasarse a la circulación, son las células tumorales circulantes (CTC's) ³¹. Estas células son indetectables por imágenes clínicas y por lo tanto inaccesibles en cirugía. Las CTC's se han reportado en distintos tipos de cáncer, incluidos el cáncer de próstata, pulmón, colorrectal, mama y páncreas ³²⁻³⁴

Las CTC's pueden expresar marcadores tanto de epitelio como de mesénquima, por la transición en la que se encuentran y que las distinguen del sitio de origen de donde se desprenden.^{30,31,33,35} La localización de las CTC's indica la presencia de tumores primarios *in situ*^{19,36} y se ha demostrado que impacta en la supervivencia de los pacientes. Las CTC's son una población heterogénea que expresan distintos marcadores como: EPCAM+; pancitoqueratina+; vimentina+ y no expresan marcadores hematopoyéticos como CD45^{31,32,37-39}.

Las células tumorales circulantes se han clasificado en dos fenotipos: el epitelial y el mesenquimal asociado a TEM. En los adenocarcinomas ductales de páncreas la presencia y el número de CTC's se ha asociado a una baja supervivencia y regresión de la enfermedad en los pacientes.^{31,37-41} Además en modelos murinos inmunocomprometidos se ha demostrado que las células

tumorales circulantes son capaces de generar tumores.⁴²De hecho, a nivel clínico, las células tumorales circulantes de adenocarcinoma ductal de páncreas se han identificado desde estadios tempranos (I y II), hasta estadios avanzados, no así en pacientes con enfermedades benignas de este órgano.^{19,43,44}

Por lo tanto, una estrategia novedosa para valorar la presencia de tumores *in situ*, es la identificación de CTC's en adenocarcinoma ductal de páncreas en sangre periférica donde el número mayor de CTC's podría estar asociado a la irresecabilidad de los pacientes que padecen esta enfermedad.

La toma de sangre venosa para la identificación de CTC's otorga varias ventajas, ya que es un método no invasivo que permite el acceso al material biológico durante el curso de la enfermedad (previo y post tratamiento), su presencia se ha propuesto como un biomarcador en cáncer colorrectal ⁴⁵, de próstata ⁴⁶ y de mama ⁴⁷. Hay que señalar que no en todos los casos las CTC's tendrán la capacidad de hacer metástasis, ya que estas pueden permanecer pocas horas en la circulación , de hecho solo el 0.01% de las CTC's pueden generar metástasis⁴⁸⁻⁵⁰ sin embargo la presencia de las CTC's sólo se ha reportado en pacientes con cáncer no así en sujetos sanos⁵¹.

En adenocarcinoma ductal de páncreas más del 40% de los pacientes presentan CTC's durante el diagnóstico y se ha reportado la presencia entre 1 – 240 CTC en 3 a 15 ml de sangre periférica ^{10,51-53}

Kuleman y colaboradores en el 2015 validaron una técnica para recuperación de CTC's, utilizando una cohorte pequeña de 11 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma ductal de páncreas y 9 sujetos control. Mediante el sistema Screen Cell para aislamiento por filtrado de tamaño se observó una eficiencia en la recuperación de CTC's del 73% mientras que en los sujetos control, no se encontraron CTC's. ³² por lo que la recuperación de CTC's por esta técnica hace permisible incursionar en un estudio a nivel nacional en lo que se refiere a la búsqueda de CTC's en adenocarcinoma ductal de páncreas y su posible

asociación con respecto a la resecabilidad en pacientes diagnosticados para esta enfermedad.

JUSTIFICACIÓN

El cáncer de páncreas es un tumor agresivo, de progresión rápida, con tasa alta de letalidad y periodo de sobrevida corto, que se detecta en la mayoría de los casos en etapas avanzadas. El principal tratamiento es la resección quirúrgica. Los métodos de imagen son imprescindibles para valorar la resección quirúrgica, pero no tienen una certeza del 100%. La resecabilidad tiene especial relevancia en el pronóstico y sobrevida, por lo que es importante implementar nuevos métodos de apoyo en la toma de decisiones para determinar al candidato a cirugía. El estudio en el número de CTC's es considerado un procedimiento no invasivo, de menor costo en comparación con la exploración quirúrgica y ha sido capaz de brindar información sobre si un paciente presenta un tumor en estadio temprano o avanzado (en otras neoplasias), por lo que es importante estudiar la asociación entre el número de CTC's y la resecabilidad del tumor en el cáncer de páncreas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hasta el momento se conoce que si el número de CTC's en adenocarcinoma ductal de páncreas se asocia a estadios avanzados y a una peor sobrevida. El uso de nuevas metodologías para que puedan apoyar el diagnóstico por imagen y poder determinar la resecabilidad que es de suma importancia ya que implica una mejora en la indicación del posible tratamiento quirúrgico. Hasta el momento se desconoce si el número de CTC's se asocian con la resecabilidad del tumor.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Hay asociación entre el número de células tumorales circulantes y la resecabilidad en pacientes con adenocarcinoma ductal de páncreas?

OBJETIVO GENERAL

- Conocer si hay asociación entre la cuantificación de células tumorales circulantes y la resecabilidad en pacientes con adenocarcinoma ductal de páncreas.

Objetivos Específicos

1. Conocer el número de células tumorales circulantes en los pacientes con adenocarcinoma ductal de páncreas.
2. Conocer si hay asociación entre el número de células tumorales circulantes con el estadio clínico.
3. Conocer si hay asociación entre el número de células tumorales circulantes con características clínicas de los pacientes como: T, N, ictericia, pérdida ponderal, Ca 19-9.

HIPÓTESIS

El número menor de células tumorales circulantes se asociará con mayor resecabilidad del tumor en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma ductal de páncreas.

MATERIAL Y METODOS

1.- Establecer un grupo retrospectivo de pacientes diagnosticados con cáncer de páncreas que estaban programados para exploración quirúrgica con intento de resección, a quienes se realizara la toma de sangre periférica para cuantificación de células tumorales circulantes.

Con base en la libreta de programación quirúrgica, se obtendrá los datos de los pacientes programados para cirugía, posteriormente estos casos son seleccionados durante la sesión de patología del servicio de sarcomas con diagnóstico presuntivo de adenocarcinoma de páncreas o bien pueden tomarse los datos directamente de la consulta externa de pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de páncreas. Se realizará una base de datos que contenga: datos demográficos, histopatológicos, de imagen y clínicos (ANEXO), los cuales serán registrados en la hoja de captura, por medio de la revisión del expediente clínico. A estos pacientes se toma de forma preoperatoria la muestra de sangre periférica.

2.- Procesamiento de muestra: Establecer un método de detección de células tumorales circulantes en biopsias líquidas (sangre periférica) mediante separación por tamaño a través de filtros e identificación de CTC's.

Se tomarán 10 ml de sangre periférica preoperatoria en tubos con heparina (como máximo 5 horas previas al procedimiento y con procesamiento inmediato de la muestra). Las células serán separadas por tamaño a través de un filtro de nitrocelulosa de 0.8µm. Las CTC's serán identificadas con el anticuerpo pancitoqueratina. La sangre se filtra con una bomba de eyección. Las células atrapadas en el filtro son teñidas, y evaluadas por un patólogo experto en adenocarcinoma ductal de páncreas utilizando un microscopio confocal, posteriormente se escanearán y cuantificarán las muestras obtenidas en el software Aperio.

3- Pruebas estadísticas

Una vez que se tenga a los pacientes y la cuantificación del número de células tumorales circulantes, se realizará un análisis clínico, en la que se probará mediante una prueba de Cox, si la presencia de CTC es un factor dependiente de resecabilidad.

Se trabajará con el software SPSS Statistics 21, Para comparar las variables categóricas (sexo, estadio clínico, edad, si/no) será utilizada la prueba de X^2 . Para comparar variables cuantificables y no cuantificables (categóricas) se realizará mediante la prueba de t-student, anova de un factor. Para comparar variables cuantificables se correrá la prueba de correlación de Pearson.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Características del estudio:

- Por el objeto que se estudia: Descriptivo
- Por la participación del investigador: Observacional
- Por la temporalidad del estudio: Transversal
- Por el momento de medición del evento: Retrospectivo
- Por el sitio de captura de datos: Unicéntrico
- Por el tipo de población: Heterodémico

Ubicación espacio temporal

Este trabajo se desarrollará en la UMAE del hospital de oncología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social, en un trabajo multidisciplinario de los departamentos de Sarcomas, Patología e Investigación del hospital antes mencionado.

Muestra

En este trabajo se estudiarán los expedientes de los pacientes en el periodo de febrero del 2017 a junio del 2018, que hayan sido seleccionados según los criterios de inclusión del presente manuscrito y que también se obtenga biopsia líquida para cuantificación de células tumorales circulantes. El número de pacientes (11 como mínimo) se basó en el artículo de Kuleman y colaboradores del 2015 quienes utilizan la misma técnica para recuperación de CTC's. El tamaño de muestra debe ser al menor de 11 casos según lo establecido en la bibliografía y por frecuencia de al menos 4 casos.

Criterios de Selección

Se incluirán todos los pacientes recibidos en el servicio de sarcomas de la UMAE H. de Oncología, CMN Siglo XXI, IMSS, con diagnóstico presuntivo de cáncer de páncreas, a partir de aprobado el proyecto y durante la vigencia de este, que cumplan con los siguientes criterios:

1. Criterios de inclusión

- a. Pacientes que acudan al servicio de Sarcomas dentro del periodo de febrero del 2017 a junio del 2018.
- b. Pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de páncreas.
- c. Derechohabientes del IMSS.
- d. Pacientes que cuenten con material biológico (sangre periférica).
- e. Pacientes a quienes se haya realizado el tratamiento quirúrgico en esta unidad.

2. Criterios de exclusión

- a. Pacientes con segundo primario.
- b. Pacientes que hayan recibido tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

3. Criterios de eliminación

- a. Insuficiente material biológico.

- b. Pacientes de los que no se cuente con la información clínica y la correspondiente a la resecabilidad.

Intervención

No hay intervención

Aspectos Éticos

Este estudio se ajusta a las normas éticas institucionales y a la Ley General de Salud en materia de experimentación en seres humanos, y así como a la declaración de Helsinki, con modificación en el congreso de Tokio, Japón en 1983. De acuerdo con el artículo 17 del reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, es un estudio con riesgo mínimo, al tratarse de un estudio prospectivo y de toma de sangre venosa, en la que se incluye la carta de consentimiento informado (de acuerdo al artículo 21 de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud y de las recomendaciones emitidas por la Coordinación de Investigación en Salud, del IMSS).

Consideraciones de la Norma e Instructivos Institucionales

Este estudio se ajusta a las normas e instructivos institucionales en materia de investigación científica, por lo tanto, se realizará hasta que haya sido aprobado por el comité local de investigación.

Bioseguridad

El proyecto involucra el manejo de material biológico de riesgo bajo.

Recursos, Financiamiento y Factibilidad

Recursos: Los recursos financieros para la cuantificación de las células tumorales circulantes fueron obtenidos mediante la Convocatoria 2016 del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (FOSISS) de Conacyt con el proyecto registrado con el nombre de “Detección y caracterización genómica de células tumorales y troncales tumorales en biopsias

líquidas como factor pronóstico e identificación de blancos terapéuticos en cáncer de páncreas como un modelo de tumor en etapa avanzada” la cual cuenta con el número de registro: R-2016-3602-37.

Experiencia del grupo: En el grupo multidisciplinario están involucrados investigadores expertos como biólogos, oncólogos y patólogos especializados para esta neoplasia; se tiene una experiencia de 5 años en el estudio de cáncer de páncreas, en estudios retrospectivos con una base de datos desde 2007 al 2012.

Factibilidad: Este protocolo es parte de un proyecto mayor llamado “Detección y caracterización genómica de células tumorales y troncales tumorales en biopsias líquidas como factor pronóstico e identificación de blancos terapéuticos en cáncer de páncreas como un modelo de tumor en etapa avanzada.” Que solicita como resultados dos proyectos de tesis. Las muestras han sido colectadas durante el periodo de febrero del 2017 a Junio del 2018 de acuerdo a la aprobación ética del proyecto R-2016-3602-37 por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a cargo de la Dra. Eugenia Flores Figueroa y posteriormente del Dr. Juan José Montesinos Montesinos, investigadores asociados a la Unidad Médica en Enfermedades Oncológicas.

Recursos humanos

Investigador:

Dra. Cinthya Jazmín González Garduño (cinthya.gard@gmail.com), residente de cirugía oncológica, Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI.

Tutor:

Dr. Rafael Medrano Guzmán (rafael.medrano66@prodigy.net.mx), Jefe del Servicio de sarcomas, tumores de tubo digestivo alto y primario no conocido, Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE), Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI.

Responsable Técnico:

Dr. Juan José Montesinos (montesinosster@gmail.com). Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas. UMAE Hospital de Oncología. IMSS Siglo XXI.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

I: Agosto 2016 - Enero 2017

I: Febrero 2017- Julio 2017

III: Agosto 2017 – Enero 2018

IV: Febrero 2018- Julio 2018

V: Agosto 2018 – Enero 2019

VI: Febrero 2019- Julio 2019

VII: Julio 2019 – Octubre 2019

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES							
Periodo	I	II	III	IV	V	VI	VII
Recopilación bibliográfica			X	x			
Elaboración del proyecto			X	X			
Desarrollo de investigación	X	X	X	X	X	X	
Captura de la información						X	
Redacción del proyecto				X	X		
Aprobación de enmienda						X	
Análisis de datos							X

RESULTADOS

Edad de los pacientes con cáncer de páncreas

A continuación, se pondrá en tabla y figura la edad de aquellos pacientes que fueron sometidos a la exploración quirúrgica en general, sin diagnóstico confirmado de cáncer de páncreas

Edad	
< 45 años	6
45 a 50 años	37
50 a 60 años	69
60 a 70 años	33
> 70 años	7
	152

Tabla 1. Edad de los pacientes sometidos a exploración de cancer de pancreas.

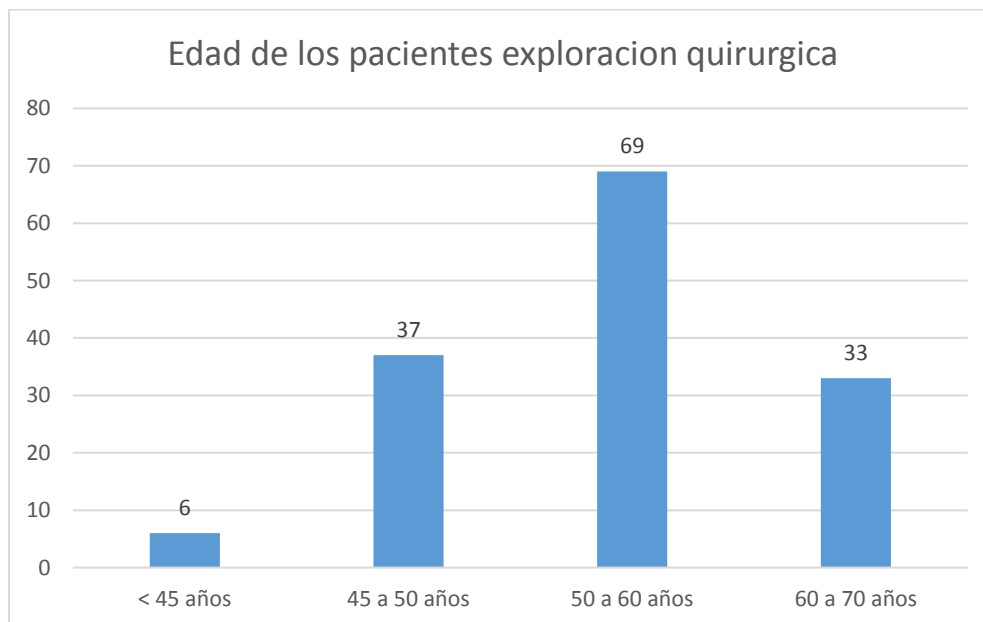


Fig. 1. Edad de los pacientes sometidos a exploración quirúrgica.

A continuación, se describe en tabla y grafica el numero y la edad de los pacientes que fueron sometidos a exploración quirúrgica con diagnostico definitivo de cáncer de páncreas

Edad Ca Pancreas	
< 45 años	1
45 a 50 años	2
50 a 60 años	5
60 a 70 años	3
> 70 años	1
	12

Tabla 2. Edad de los pacientes con diagnostico final de cáncer de páncreas.

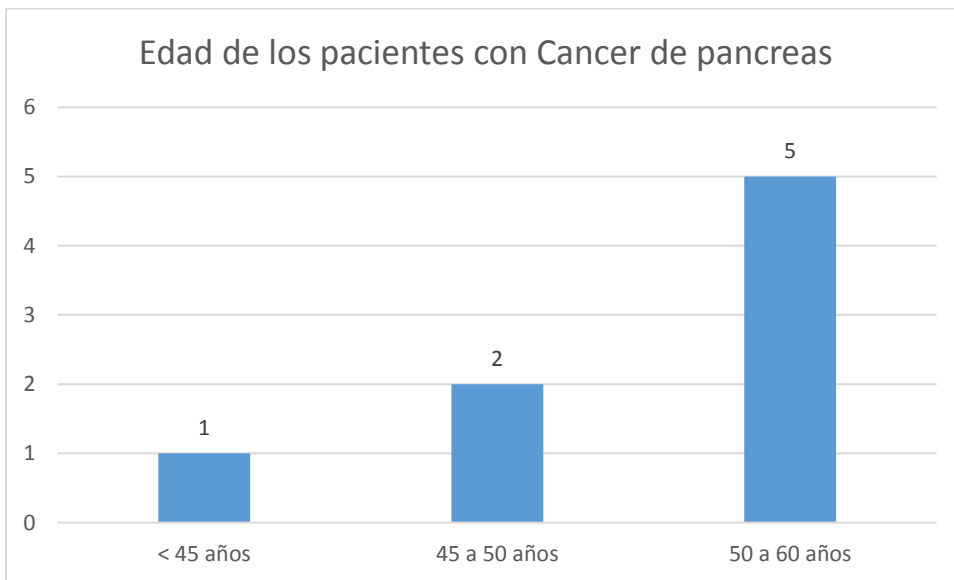


Fig 2. Edad de los pacientes con diagnostico final de cáncer de pancreas.

Genero

A continuación, se pondrá en tabla y figura la edad de aquellos pacientes que fueron sometidos a la exploración quirúrgica en general, sin diagnóstico confirmado de cáncer de páncreas

GENERO	
Mujeres	64
Hombres	88
	152

Tabla 3. Edad de los pacientes sometidos a exploración quirúrgica.



Fig. 3. Edad de los pacientes sometidos a exploración quirúrgica.

GENERO	
Mujeres	4
Hombres	8
	12

Tabla 4. Genero de los pacientes con diagnostico final de cáncer de páncreas.

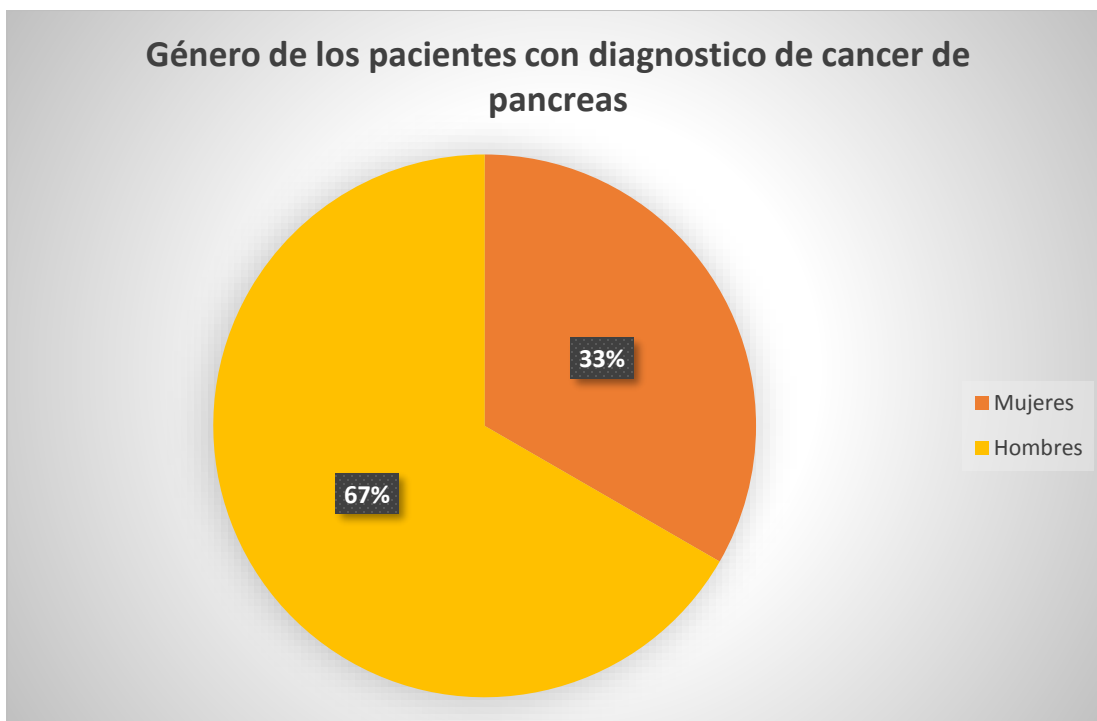


Fig4. Genero de los pacientes con diagnostico final de cáncer de páncreas.

Se encontraron un total de 12 pacientes con diagnostico de cáncer de páncreas, dentro de un total de aproximadamente 152 pacientes. Con resecabilidad en un 20%, encontrándose más CTC´s en aquellos que son irresecables.

Resecabilidad

Del total de pacientes que fueron programados para exploración quirúrgica solamente en dos casos se logró la resección R0, en 2 R1 y en el resto de los casos el tipo de cirugía fue exploración y toma de biopsia por lo que se catalogara como R2.

Resecabilidad	
R0	2
R1	2
R2	8

Tabla 4. Numero de pacientes que fueron resecables

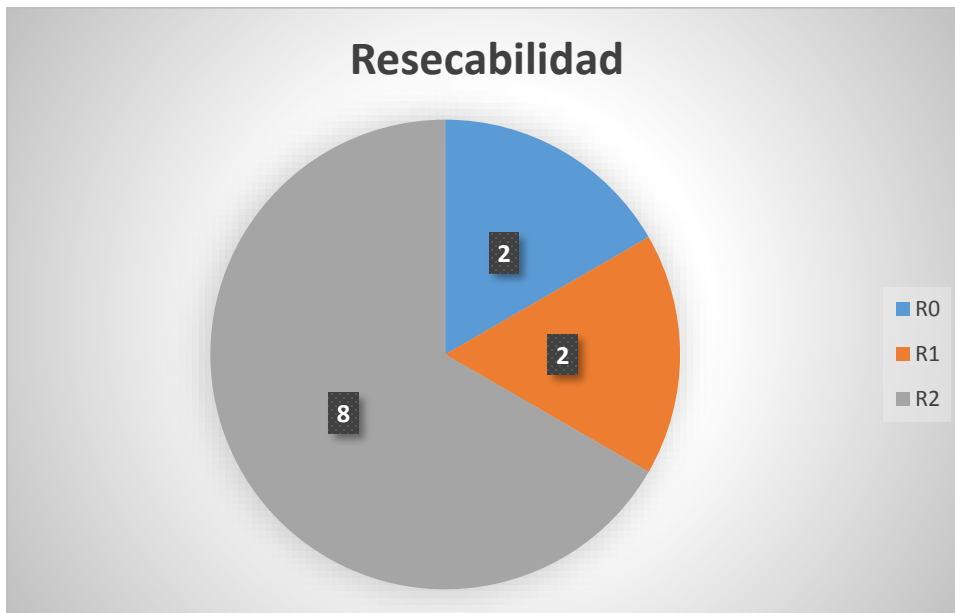


Fig. 4. Porcentaje de pacientes que fueron resecables

Células tumorales circulantes

Solamente en 3 de los pacientes se presentaron células tumorales circulantes, en la siguiente tabla y figura se desglosa el número y porcentaje de presentación de las mismas.

Células tumorales circulantes	
menos de 10	2
mas de 10	1
no detectadas	9
	12

Tabla 5. Número de células tumorales circulantes

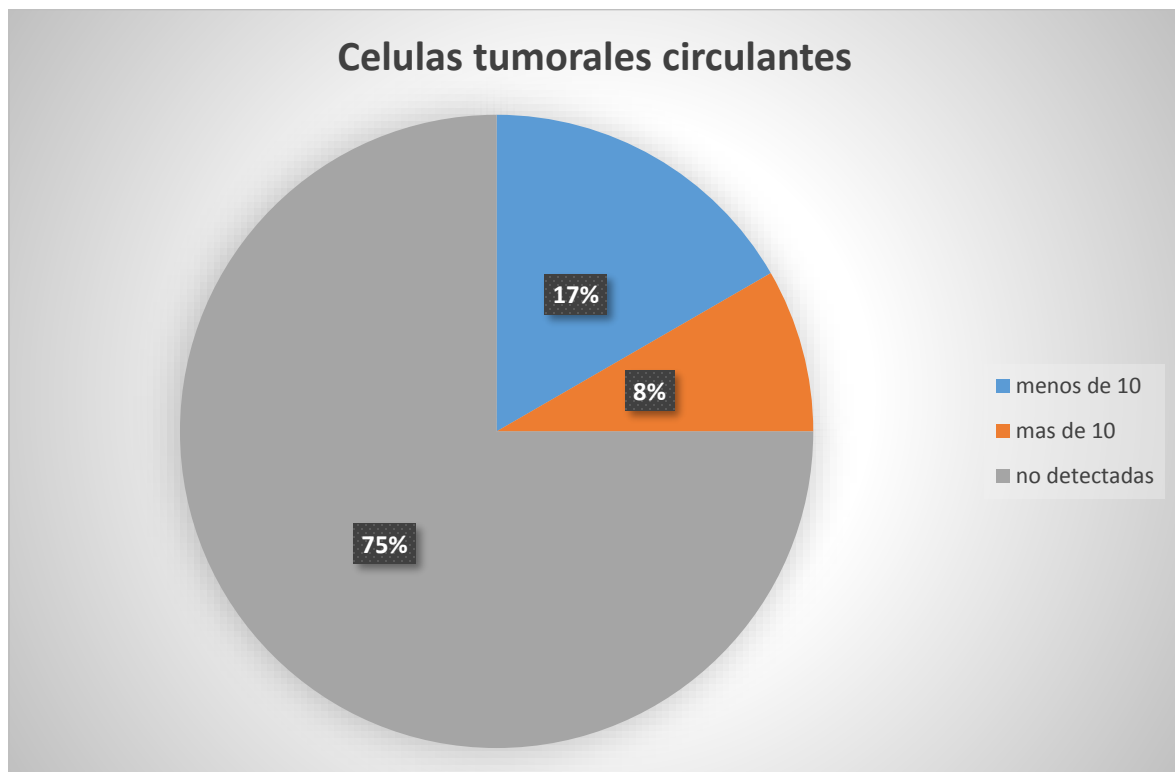


Fig. 5. Porcentaje del número de células tumorales circulantes

Porcentaje de pacientes con cáncer de páncreas

Del total de los 152 paciente con exploración quirurgica con diagnostico presuntivo de cancer de pancreas únicamente en 12 se confirmó el diagnostico

Porcentaje de pacientes con Cancer de pancreas	
Cancer de pancreas	12
Otros diagnosticos	140
	152

Tabla 5. Paciente con diagnostico confirmado de cáncer de páncreas

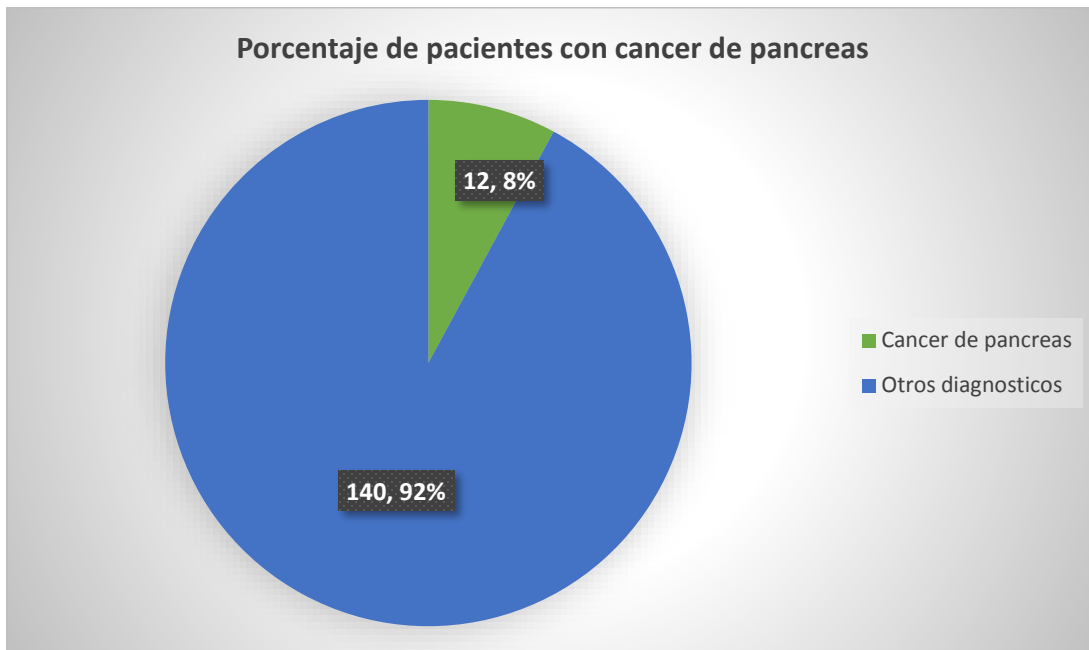


Fig. 5. Paciente con diagnostico confirmado de cáncer de páncreas

DISCUSIÓN

Zhang y colaboradores en el 2012 publicaron un meta-análisis en el cual engloban a 49 estudios con 6,825 pacientes con cáncer de mama, en donde se concluyó que la presencia de CTC está asociado significativamente con una supervivencia más corta, un factor de pobre pronóstico y un predictor de metástasis tempranas (11).

La toma de sangre venosa para la identificación de CTC otorga varias ventajas, ya que es un método no invasivo que permite el acceso al material biológico durante el curso de la enfermedad (previo y post tratamiento), estas células permiten conocer la biología de la metástasis en el cáncer (tanto a nivel celular como genómico) y la etapa clínica de la patología, su presencia se ha propuesto como un biomarcador en cáncer colorrectal (12), de próstata (13) y de mama (14). Hay que señalar que no en todos los casos las CTC tendrán la capacidad de hacer metástasis, ya que estas pueden permanecer pocas horas en la circulación (15).

Varias tecnologías de detección de CTC disponibles han expandido su uso de marcadores de diagnóstico simples a herramientas para evaluar la supervivencia general, el riesgo de metástasis y la respuesta a la terapia. Recientemente, utilizando el Veridex Cell SearchSystem, el único método aprobado por la FDA para la enumeración de CTC en sangre total, Weissenstein et al., Encontró una fuerte correlación entre la supervivencia global media en pacientes con cáncer de mama metastásico con <5 CTC / 7.5 ml frente a aquellos con ≥ 5 CTC. En una revisión de un estudio multicéntrico de 1.358 individuos, Miller et al. encontraron una mediana de supervivencia global altamente significativa en los recuentos de CTC favorables en comparación con los recuentos de CTC desfavorables con cáncer de mama metastásico, cáncer colorrectal metastásico y cáncer de próstata ($p < 0.0001$). Además, los pacientes inscritos en terapias que disminuyeron los recuentos de CTC mostraron mejoras en la supervivencia general, señalando la utilidad que tiene el análisis de CTC en la respuesta a los tratamientos contra el cáncer. Los estudios también muestran la correlación entre la diseminación del tumor y la etapa con el

recuento de CTC. Hiraiwa et al. mostraron que los recuentos de CTC eran más altos en los pacientes metastásicos que en los cánceres esofágicos, gástricos y colorrectales no metastásicos y estaban significativamente correlacionados con los estadios avanzados del tumor. El alto recuento de CTC, definido como 2 o más CTC por 7,5 ml en este estudio, se relacionó con la diseminación pleural y peritoneal (Hiraiwa et al., 2008). Además, la validación en entornos clínicos establecerá la detección de CTC como un marcador para el diagnóstico de cáncer sensible y no invasivo, la evaluación del tratamiento y el pronóstico. (10)

Kulleman y colaboradores en el 2017 publicaron un estudio prospectivo que tuvo como objetivo valorar el impacto de los recuentos de CTC en la supervivencia y las correlaciones de las mutaciones KRAS en CTC y las muestras de tumores primarios correspondientes en pacientes con cáncer de páncreas, utilizaron el sistema Screen Cell para aislamiento de CTC mediante un microfiltro que permite la captura de CTC y posteriormente se realizó la tinción con Giemsa para la evaluación por citopatologopancreatico experto, dividiendo observaros que los pacientes con > 3 CTC / ml tuvieron una tendencia a una peor supervivencia global (SG) que los pacientes con 0,3-3 CTC / ml (9).

En base a los resultados y al compararlos con la bibliografía entrar en el porcentaje de resecabilidad, sin embargo al comparar el número de pacientes sometidos a exploración quirúrgica con diagnostico final de cáncer de páncreas fue mucho menor a la bibliografía esto podría explicarse en el supuesto de que el gran porcentaje de pacientes enviados a nuestro hospital para manejo es en etapas avanzadas, los cuales únicamente reciben tratamiento de mejores cuidados de soporte sin completarse en muchos casos el diagnóstico.

CONCLUSIONES

El cáncer de páncreas es una neoplasia maligna de alta letalidad.

el cáncer de páncreas es una neoplasia maligna con bajo porcentaje de resecabilidad, este da pie para la valoración de cuantificación de CTC's en pacientes en otros estadios, para demostrar su valor pronostico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. *Perfil epidemiológico de los tumores malignos de México.* (2011).
2. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.***68**, 394–424 (2018).
3. Cancer today. Available at: <http://gco.iarc.fr/today/home>. (Accessed: 6th June 2019)
4. Martínez-Sánchez, Y. L., Escudero-de los Ríos, P. M., Arias-Flores, R. & Barrios-Bautista, F. Epidemiología del cáncer en pacientes adultos del Hospital de Oncología del Centro Médico Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cir. Cir.***81**, (2013).
5. Vincent, A., Herman, J., Schulick, R., Hruban, R. H. & Goggins, M. Pancreatic cancer. *Lancet***363**, 1049–1057 (2004).
6. Chan Núñez, C. & López Tello, A. [Gastrointestinal oncology. Pancreatic cancer]. *Rev. Gastroenterol. Mex.***75 Suppl 1**, 72–76 (2010).
7. Jennifer Burns, M. A. T., MD/Chair. [NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology , Version 3.2019. Pancreatic cancer]. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20959215>. (Accessed: 19th August 2019)
8. Nielsen, M. F. B., Mortensen, M. B. & Detlefsen, S. Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World J. Gastroenterol.***22**, 2678–2700 (2016).
9. Spadi, R. *et al.* Current therapeutic strategies for advanced pancreatic cancer: A review for clinicians. *World J. Clin. Oncol.***7**, 27–43 (2016).

10. Tien, Y. W. *et al.* A High Circulating Tumor Cell Count in Portal Vein Predicts Liver Metastasis From Periapillary or Pancreatic Cancer: A High Portal Venous CTC Count Predicts Liver Metastases. *Medicine (Baltimore)***95**, e3407 (2016).
11. Glare, P. & Christakis, N. A. *Prognosis in Advanced Cancer*. (Oxford University Press, 2008).
12. Tempero, M. A. *et al.* Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2012 Featured Updates to the NCCN Guidelines. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.***10**, 703–713 (2012).
13. Edge, S. B. & Compton, C. C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann. Surg. Oncol.***17**, 1471–1474 (2010).
14. Zotero | Groups > Tesis Licenciatura Damian Sánchez > Library. Available at: https://www.zotero.org/groups/tesis_licenciatura_damian_snchez/items. (Accessed: 24th January 2014)
15. Sada, M. *et al.* Hypoxic stellate cells of pancreatic cancer stroma regulate extracellular matrix fiber organization and cancer cell motility. *Cancer Lett.***372**, 210–218 (2016).
16. Li, D. *et al.* Radiation promotes epithelial-to-mesenchymal transition and invasion of pancreatic cancer cell by activating carcinoma-associated fibroblasts. *Am. J. Cancer Res.***6**, 2192–2206 (2016).
17. Kikuta, K. *et al.* Pancreatic stellate cells promote epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***403**, 380–384 (2010).
18. Xu, Z. *et al.* Role of pancreatic stellate cells in pancreatic cancer metastasis. *Am. J. Pathol.***177**, 2585–2596 (2010).

19. Court, C. M. *et al.* Circulating Tumor Cells Predict Occult Metastatic Disease and Prognosis in Pancreatic Cancer. *Ann. Surg. Oncol.***25**, 1000–1008 (2018).
20. Shrikhande, S. V., Barreto, S. G., Goel, M. & Arya, S. Multimodality imaging of pancreatic ductal adenocarcinoma: a review of the literature. *HPB***14**, 658–668 (2012).
21. Gupta, G. P. & Massagué, J. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell***127**, 679–695 (2006).
22. Kurahara, H. *et al.* Epithelial-mesenchymal transition and mesenchymal-epithelial transition via regulation of ZEB-1 and ZEB-2 expression in pancreatic cancer. *J. Surg. Oncol.***105**, 655–661 (2012).
23. Gorges, T. M. *et al.* Circulating tumour cells escape from EpCAM-based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Cancer***12**, 178 (2012).
24. Asiedu, M. K., Ingle, J. N., Behrens, M. D., Radisky, D. C. & Knutson, K. L. TGFbeta/TNF(alpha)-mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype. *Cancer Res.***71**, 4707–4719 (2011).
25. Lee, H. W. *et al.* Alpha-smooth muscle actin (ACTA2) is required for metastatic potential of human lung adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.***19**, 5879–5889 (2013).
26. Court, C. M. *et al.* Reality of Single Circulating Tumor Cell Sequencing for Molecular Diagnostics in Pancreatic Cancer. *J. Mol. Diagn. JMD***18**, 688–696 (2016).
27. Matsuda, Y. *et al.* Nestin is a novel target for suppressing pancreatic cancer cell migration, invasion and metastasis. *Cancer Biol. Ther.***11**, 512–523 (2011).

28. Galván, J. A. *et al.* Expression of E-cadherin repressors SNAIL, ZEB1 and ZEB2 by tumour and stromal cells influences tumour-budding phenotype and suggests heterogeneity of stromal cells in pancreatic cancer. *Br. J. Cancer***112**, 1944–1950 (2015).
29. Bronsert, P. *et al.* Prognostic significance of Zinc finger E-box binding homeobox 1 (ZEB1) expression in cancer cells and cancer-associated fibroblasts in pancreatic head cancer. *Surgery***156**, 97–108 (2014).
30. Maier, H. J., Wirth, T. & Beug, H. Epithelial-mesenchymal transition in pancreatic carcinoma. *Cancers***2**, 2058–2083 (2010).
31. Poruk, K. E. *et al.* Circulating Tumor Cell Phenotype Predicts Recurrence and Survival in Pancreatic Adenocarcinoma. *Ann. Surg.***264**, 1073–1081 (2016).
32. Kulemann, B. *et al.* Circulating tumor cells found in patients with localized and advanced pancreatic cancer. *Pancreas***44**, 547–550 (2015).
33. Allard, W. J. *et al.* Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases. *Clin. Cancer Res.***10**, 6897–6904 (2004).
34. Khoja, L. *et al.* A pilot study to explore circulating tumour cells in pancreatic cancer as a novel biomarker. *Br. J. Cancer***106**, 508–516 (2012).
35. *Circulating Tumor Cells: Methods and Protocols.* (Humana Press, 2017).
36. Pimienta, M., Edderkaoui, M., Wang, R. & Pandol, S. The Potential for Circulating Tumor Cells in Pancreatic Cancer Management. *Front. Physiol.***8**, 381 (2017).

37. Okubo, K. *et al.* Clinical impact of circulating tumor cells and therapy response in pancreatic cancer. *Eur. J. Surg. Oncol. J. Eur. Soc. Surg. Oncol. Br. Assoc. Surg. Oncol.***43**, 1050–1055 (2017).
38. Al-Hajj, M., Wicha, M. S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S. J. & Clarke, M. F. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.***100**, 3983–3988 (2003).
39. Catenacci, D. V. T. *et al.* Acquisition of Portal Venous Circulating Tumor Cells From Patients With Pancreaticobiliary Cancers by Endoscopic Ultrasound. *Gastroenterology***149**, 1794-1803.e4 (2015).
40. Poruk, K. E. *et al.* Circulating Tumor Cells Expressing Markers of Tumor Initiating Cells Predict Poor Survival and Cancer Recurrence in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* (2016).
doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-1467
41. Kulemann, B. *et al.* Pancreatic cancer: Circulating Tumor Cells and Primary Tumors show Heterogeneous KRAS Mutations. *Sci. Rep.***7**, 4510 (2017).
42. Hodgkinson, C. L. *et al.* Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. *Nat. Med.***20**, 897–903 (2014).
43. Liu, H. *et al.* Circulating Tumor Cells as a Biomarker in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.***42**, 373–382 (2017).
44. Ankeny, J. S. *et al.* Circulating tumour cells as a biomarker for diagnosis and staging in pancreatic cancer. *Br. J. Cancer***114**, 1367–1375 (2016).

45. Heitzer, E. *et al.* Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res.***73**, 2965–2975 (2013).
46. Lohr, J. G. *et al.* Whole-exome sequencing of circulating tumor cells provides a window into metastatic prostate cancer. *Nat. Biotechnol.***32**, 479–484 (2014).
47. Lee, J. S., Magbanua, M. J. M. & Park, J. W. Circulating tumor cells in breast cancer: applications in personalized medicine. *Breast Cancer Res. Treat.***160**, 411–424 (2016).
48. Luzzi, K. J. *et al.* Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am. J. Pathol.***153**, 865–873 (1998).
49. Jahroudi, N. & Greenberger, J. S. The role of endothelial cells in tumor invasion and metastasis. *J. Neurooncol.***23**, 99–108 (1995).
50. Chiang, A. C. & Massagué, J. Molecular basis of metastasis. *N. Engl. J. Med.***359**, 2814–2823 (2008).
51. Kulemann, B. *et al.* KRAS mutations in pancreatic circulating tumor cells: a pilot study. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.***37**, 7547–7554 (2016).
52. Dotan, E. *et al.* Prognostic Significance of MUC-1 in Circulating Tumor Cells in Patients With Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *Pancreas***45**, 1131–1135 (2016).
53. Gao, Y. *et al.* Clinical significance of pancreatic circulating tumor cells using combined negative enrichment and immunostaining-fluorescence in situ hybridization. *J. Exp. Clin. Cancer Res. CR***35**, 66 (2016).

ANEXOS

HOJA DE CAPTURA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Ficha Identificación:

Nombre Paciente _____ NSS: _____

Teléfonos: _____

Género: ____ Edad al diagnóstico: ____ Fecha de Nacimiento ____/____/____ Diagnóstico _____

Fecha de Ingreso al Protocolo: ____/____/____

Código del paciente: _____ Fecha de primera muestra: ____/____/____

Antecedentes Patológicos: Tabaquismo: Si_ No_ Alcoholismo_ Si_ No_ Diabetes Si_ No_ Antecedente familiar de adenocarcinoma Hereditario Si_ No_ Pancreatitis: Si_ No_ Enfermedad Crónica Degenerativa NO__ Sí, ¿Cuál, tiempo de evolución y tratamiento? _____

Presentación Clínica al Ingreso

Fecha de Inicio de padecimiento: Mes: _____ Año: _____

ECOG: _____

Dolor abdominal: Si_ No_ Ictericia: Si_ No_ Pérdida de peso: Si_ No_

Tumor palpable: Si_ No_

Laboratorios: Glucosa: _____ CA19-9: _____ ACE: _____ FA: _____ GGTP: _____ BT: _____ BD: _____ BI: _____

Localización: Ámp. Váter: ____ Páncreas: Cabeza__ Cola__ Cuerpo__ Tamaño tumor: _____ cm Limitado Órgano: ____

Invasivo: Tejido Peripancreático__ Vascular__ Metástasis: No__ Si, ¿dónde? _____

T: __ N: __ M: __ EC: _____

Histopatológico:

No. de RHP: _____ No. Laminillas: _____ Laminillas tumor primario _____ Tipo Histológico: PDAC: ____ AVAC:

Intestinal: ____ Pancreatobiliar: ____ Grado Dif: _____ Patrón crecimiento: Papilar: ____ Infiltrativo: ____ Mixto: ____

Desmoplasia: Si_ No_ Letras Bloques Inmunohistoquímica: _____ pT: ____ pN: ____ pM: _____

Tratamiento: Quirúrgico _____ Tipo de resección Qx _____ Fecha Cirugía: _____

Estado Actual: Fecha última visita: _____

Defunción: Falleció por otra causa: No__ Sí, especificar causa: _____



CONSENTIMIENTO INFORMADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACION, INVESTIGACION Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACION DE INVESTIGACION EN SALUD CARTA DE CONSENTIMIENTO
INFORMADO

**Nombre del estudio: Cuantificación de células tumorales circulantes y su asociación con
 reseabilidad en pacientes con cáncer de páncreas.**

Lugar y Fecha: _____

Numero de registro: _____

Justificación y objetivos del estudio: El objetivo del presente proyecto es analizar el numero de células tumorales circulantes en sangre periférica y evaluar su asociación con reseabilidad, para entender mejor su biología; para que con estos resultados en proyectos futuros se puedan desarrollar nuevas estrategias para su detección y tratamiento.

Procedimientos:

1. Se tomara una muestra de 10ml de sangre periférica y un raspado bucal.
2. Una vez que los patólogos de la unidad hospitalaria hayan evaluado la pieza quirúrgica, los investigadores la analizarán en el laboratorio de investigación.

Posibles riesgos y molestias: Riesgos y/o molestias propias de la toma de sangre y de intervención quirúrgica. Participación o retiro: Tiene usted plena libertad para participar o no en el estudio, en caso de que decida no participar, su atención en el hospital no se verá afectada.

Privacidad y Confidencialidad: Las muestras de los pacientes recibirán un código para mantener la identidad de los participantes, de los cuales en ningún momento será revelado o publicado su nombre o sus datos personales.

Para la colección del material biológico:

- _____ No autorizo que se tome la muestra.
 _____ Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
 _____ Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros

En caso de dudas relacionadas con este estudio favor de dirigirse a:

Dra. Cinthya Jazmin Gonzalez Garduño (cinthya.gard@gmail.com) Hospital de Oncología CMN Siglo XXI, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:
 Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso
 Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1
 Nombre, dirección, relación y firma

Testigo 2
 Nombre, dirección, relación y firma

Clave: 2810-009-013