

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DEL
CARCINOMA AMPULAR
PERIPANCREÁTICO PARA LA DETECCIÓN
DE NUEVAS OPORTUNIDADES DE
TRATAMIENTO BIOLÓGICO DIRIGIDO A
NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS

TESIS DOCTORAL

UAB – Programa de doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
2025

Carles Fabregat Franco



TESIS DOCTORAL

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DEL CARCINOMA AMPULAR PERIPANCREÁTICO PARA LA DETECCIÓN DE NUEVAS OPORTUNIDADES DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO DIRIGIDO A NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS

Autor:

Carles Fabregat Franco

Directores:

Teresa Macarulla Mercadé

Josep Tabernero Caturla

Tutor:

Jordi Giralte López de Sagredo

**Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona, 2025**

A les persones diagnosticades de tumors infreqüents...

...I als cuidadors que els acompanyen.

AGRADECIMIENTOS

Quan avances pel camí de la teua vida i algú et proposa fer la tesi, ho vius amb il·lusió, com una part del creixement personal que et pot dur a assolir una meta vital com és el ser doctor. Gràcies Teresa i Helena per haver-me donat eixa empenyeta inicial. No obstant, a partir d'aquell moment comencen a passar mesos i anys en els quals el camí de la vida continua, però tens un nou company de viatge, a qui no pots deixar de costat, que t'acompanya constantment al llarg dels mesos, fins que arriba un moment en que veus la llum, en què l'esborrany de tesi ja està escrit, tothom està conforme amb els objectius assolits, i està preparada per dipositar.

I és que mentre es planteja, planifica, duu a terme i finalitza un projecte de tesi doctoral, passen mesos i anys de creixement personal molt importants. Passa un temps en el qual podríem contar mil i una anècdotes, companys de feina que van i venen, comboiets que t'obliguen a aparcar algun dia la feina, i inclús situacions angoixants o pesades que no et permeten concentrar-te... i tot això forma part d'aqueix creixement mentre plantejes un projecte tan important com el que et portarà a merèixer el PhD. Llavors ací vull començar els meus agraïments a tota eixa gent que m'ha acompanyat en el camí, que ha contribuït al meu creixement personal i sense els quals no ho hauria pogut aconseguir.

Al 2021 vaig acabar la residència, i per primera vegada, se'm plantejava l'opció d'iniciar el meu propi camí. De valorar què m'oferia el món i cap on volia dur la meua vida. Després de diferents entrevistes i plantejaments, veia com era la realitat de què tant m'havien parlat: carrera de recerca, carrera assistencial, carrera mixta... on? Amb qui? Totes tenien els seus pros i contres. Però dono gràcies al moment en què el Marc em va plantejar de parlar amb l'Helena i la Teresa, perquè em van impressionar molt. Si una cosa tenia clara, és que volia treballar en un grup unit, on tots ens arremanguéssim quan fes falta, on l'ambient fos distés, i on m'il·lusionés anar cada dia a treballar-hi. A l'Helena ja la coneixia, i això em va transmetre molta pau i confiança en què podia ser el meu lloc. I quan vaig parlar amb la Teresa no vaig tenir cap dubte. Em va transmetre com allò era l'equip que buscava, capaç de treballar amb alegria, amb energia, de ser rigorosos, i de construir quelcom. I vull que sàpigues Teresa, que des d'aquell primer dia em vas fer sentir valorat i capaç. Em vas donar eixa confiança per sentir-me capaç d'ajudar a pacients amb les malalties més difícils de tractar, mentre dúiem el dia a dia amb alegria, i estudiàvem com ningú per intentar canviar la història natural de tot plegat. Mai t'estaré prou agraït per el xute de confiança que em vas donar, i tot el que vaig poder créixer a partir d'eixe moment.

Em vas proposar de fer una entrevista amb el Josep Tabernero i li vas proposar la meua candidatura per formar part de l'equip. Josep, a l'entrada al teu despatx em vaig sentir molt impressionat, doncs imposa bastant anar a parlar amb una de les persones més

referents en el propi camp. I en començar a parlar em vas donar molta tranquil·litat i confiança, em vas mostrar com valoraves tot el que havia fet fins aquell moment, i em vas transmetre tot el que podia arribar a fer si entrava a treballar a la Vall d'Hebrón. Així que no puc més que estar-te molt agraït per la oportunitat, i també pel suport quan vaig tenir algun problema a l'hospital.

No va ser molt més tard d'entrar que tant Helena com Teresa ja m'estàveu ajudant a preparar diferents projectes, i tots suficientment importants com per acabar conformant un doctorat. I tot semblava fàcil en aquell moment, doncs tenia una cap referent mundial i una segona d'abord que em feien sentir com un més. Dues persones a qui recolzar-me quan tenia dubtes, de qui aprenia en el dia a dia, i a qui podia tractar pràcticament com família (com en aquells dinars al despatx de Teresa mentre teníem connectada alguna reunió de fons després d'haver donat tot per veure als pacients a la consulta). Tot i la dificultat mèdica i emocional que tenen els nostres pacients, semblava fàcil, semblava fàcil afegir un, dos o deu projectes de recerca, i que algun acabés convertint-se en una tesi doctoral.

Uns mesos més tard ja teníem un projecte en marxa, amb el suport del Josep com a codirector, i el suport del Tian com a peça elemental en l'àmbit translacional del grup.

Si l'inici va ser així de fàcil i rodat, alguna bona notícia faltava per arribar. I és que l'equip havia de créixer més encara amb la incorporació de Florian, a qui podria definir com una de les persones que més m'havien influenciat fins aquell moment. Company de residència un anyet més vell, i una de les persones que més em van acollir quan vaig iniciar la meua formació com oncòleg. I és que en aquells anys vàrem compartir decisions, menjars, viatges... que em van marcar. Florian, durant la residència em vas ensenyar el valor de la docència i el companyerisme, de perseguir allò que t'apassiona i de saber reconèixer el teu propi valor. Que arribares a formar part de l'equip on jo estava, va ser el millor que em podia passar. Hem compartit tants moments de suport, confidències i riures que ens hem conegut més encara, i t'has reafirmat com una d'eixes persones que saps que quedaran per sempre en la teua vida. Viatges a Lisboa, Chicago, París, Santander, Edimburg, Madrid ens van unir molt. I tot això passava mentre fèiem tots aquests projectes que van esdevenint tesis doctorals. Sé de ben cert que sense el teu suport en la vida, això no ho estaria aconseguint, i vull que ho sàpigues de la forma més explícita.

L'arribada del Tian com a referent translacional, per a mi, va ser el descobriment d'una de les persones més divertides i rigoroses que conec. Tian, amb tu també em fet viatges, reunions, sopars... I és que podíem estar descobrint els "*Haggis*" o al monstre del Llac Ness amb la Queralt i l'Anna, i en algun punt del viatge solucionar els 4 punts que quedaven pendents d'una part del projecte. Sempre pragmàtic, sempre divertit, i sobretot... sempre present.

Álex, només vull que sàpigues que penso molt en tu i en la teua tesi. Eixes converses sobre com concebre el món, sobre com acompanyar als pacients i sobre com viure mentre tot això està passant, m'ha ajudat inclús a nivell personal. Tenir persones tan excepcionals a prop enriqueix tant, que em fan pensar en tu moltíssimes de les situacions que visc en el dia a dia.

De la feina quedaria molta més gent a qui agrair aquest camí, doncs també hi ha molta càrrega assistencial i de recerca clínica lligada a tot això. I poder tirar endavant tot també era gràcies a la resta dels companys del grup, i també als diferents residents que venien a aprendre amb nosaltres, però també els tocava treballar de valent. Alejandra, Gaspar, Diego recordo més d'un dia molt pesat amb vosaltres arremangats com ningú. Dani, Share... què dir-vos, si us vàreu quedar a formar part del grup amb el títol a la mà, vaig aprendre molt de vosaltres. Sergio, Clara, Chema, diria que em transmetíeu esperança de veure com tractàveu als pacients i com veieu el món.

I treballàvem amb tantes ganes d'aprendre, que inclús els del grup de translacional baixàveu a aprendre com funcionava la consulta. La dificultat i la logística que suposa per al pacient i l'entorn el participar en projectes clínics o projectes translacionals. I tot això motivava a seguir treballant per ajudar a eixa gent, i també per unir-nos més el grup clínic i el grup del laboratori. Queralt, Mariana, Jess... a vosaltres que us vaig conèixer més, no puc deixar de donar-vos les gràcies per formar part d'aquest camí i adoptar-me en els sopars institucionals del VHIO.

Gloria, no només t'he de donar les gràcies, també t'hauria de demanar disculpes pels mil canvis, versions de les bases de dades o re-anàlisis a l'últim moment. Em vas ajudar infinit en poder quadrar tot l'anàlisi final t'estic infinitament agraït.

I bé, si els companys de feina són importants en tot això, tampoc es podria dur a terme sense el suport de tots els companys de vida.

Maria, CoR, companya de vida més que de feina, i suport important en els moments bons i dolents. Sempre estàs per donar-me el consell més adequat, l'abraçada que necessito, o senzillament per escoltar-me quan estic en fase maníaca i necessito soltar-ho tot. Les nostres relativitzacions sobre les coses importants de la vida m'han donat força per poder acabar tot això.

Anna (Escrig... sou moltes Annes), referent de persona que es va currar una super tesi. Referent dels moments de tensió, dels moments de burocràcia i dels moments de descàrrega una vegada aconseguit. Sempre has estat ahi per ajudar-me quan he necessitat.

També us ho volia agrair a totes eixes persones que m'heu acompanyat i que possiblement no sou conscients del tot de com m'heu ajudat a poder acabar tot això:

al grup de la facultat, a Guille, Xavi i Fer, als motivados trivialeros; a Marta, Borja, Olga, Polet, Àngel, Maria, Anna, Ges...

A ma mare per aguantar cada cridada que faig només per parlar de la vida encara que estiguis treballant. I senzillament per tot el que m'ha donat des de que vaig néixer, per poder haver arribat a ser qui soc. A mon pare, Neus i Andreu per formar part del camí des del principi.

I a tu Anna, per estar sempre. Ja formaves part del meu camí quan em vaig matricular al programa de doctorat, i encara hi formes part quan l'acabo per fi. Gràcies a tu sento que el creixement científic ha estat important, però el creixement personal que experimento continua.

LISTA DE ABREVIATURAS

1L: Primera Línea de quimioterapia

3L: Tercera Línea de quimioterapia

4L: Cuarta Línea de quimioterapia

5-FU: 5 fluorouracilo

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated

BCM: Baylor College of Medicine

BRCA1/2: Breast Cancer Gene 1 y 2

CAV: Carcinoma de Ampolla de Vater

CC: colangiocarcinoma

-dCC: colangiocarcinoma distal

-iCC: colangiocarcinoma intrahepático

CP: Carcinoma Pancreático

CR: Complete Response (Respuesta Completa)

CVB: Carcinoma de Vía Biliar

DDR: DNA Damage Repair (Reparación del daño en el ADN)

DPC: Duodenopancreatectomía cefálica

EC: Ensayo Clínico

ECOG-PS: Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status

ESCAT: ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets

FGFR2: Fibroblast Growth Factor-2

FOLFIRINOX: 5-FU + Leucovorina + irinotecan + Oxaliplatino

FOLFOX: 5-FU + Leucovorina + Oxaliplatino

HER2: Human Epidermic Receptor 2 (Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano)

HR: Hazard Ratio

HRD: Homologous Recombination Deficiency (Deficiencia en recombinación homóloga)

HUVH: Hospital Universitari Vall d'Hebron

IDH1: Isocitrate Dehydrogenase 1

IHQ: Inmunohistoquímica

INT: Subtipo intestinal

M1: Enfermedad metastásica

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

MIX: Subtipo mixto

MSI: Microsatellite Instability (Inestabilidad de microsatélites)

MSS: Microsatellite Stability (Estabilidad de microsatélites)

MTS: Mejor tratamiento de soporte

MUT: mutado

NA: No alcanzado	SLP: Supervivencia Libre de Progresión
NGS: Next Generation Sequencing (Secuenciación de Nueva Generación)	T-DXd: Trastuzumab-Deruxtecan
NRG1: Neuroregulina-1	TGF- β : Transforming Growth Factor- beta
PB: Subtipo pancreatobiliar	TMB-High: Tumor Mutational Burden – High (Carga mutacional tumoral -Alta)
PR: Partial Response (Respuesta Parcial)	TGF- β : Transforming Growth Factor- beta
QTRT: QuimioRadioterapia	TNM: Tumor, Node, Metastasis (Clasificación de estadios)
SD: Stable Disease (Enfermedad Estable)	TRO: Tasa de Respuesta Objetiva
SEER: Surveillance, Epidemiology and End Results	WT: Wild Type
SG: Supervivencia Global	
SLE: Supervivencia Libre de Enfermedad	

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. AJCC 8ª edición de la clasificación TNM	pág. 22
Tabla 2. Estadio tumoral y pronóstico en términos de SG y SLR	pág. 22
Tabla 3. Variables clínicas recogidas en la cohorte global y metastásica	pág. 47
Tabla 4. Definición del subtipo histológico según inmunohistoquímica	pág. 48
Tabla 5. Genes analizados en el panel Amplicon Seq VHIO v1.0	pág. 49
Tabla 6. Genes analizados en el panel VHIO-CARD-300	pág. 50
Tabla 7. Genes analizados en el panel Foundation One CDx test®	pág. 51
Tabla 8. Alteraciones ESCAT y tipo de evidencia requerida	pág. 52
Tabla 9. Características clínicas y patológicas basales de los pacientes con CAV	pág. 58
Tabla 10. Clasificación de alteraciones genómicas ESCAT I–IIIA en pacientes con CAV.....	pág. 64
Tabla 11. Alteraciones tratables según estado de KRAS, clasificadas por ESCAT	pág. 66
Tabla 12. Fármacos en desarrollo con diana en la vía RAS-MAPK	pág. 78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la vía biliar. Adaptado del Atlas de anatomía humana de NETTER, Frank H. 8ª edición (2023)	pág. 18
Figura 2. Tendencia anual de casos de CAV basada en datos SEER (1973–2005)	pág. 19
Figura 3. Tinciones anatomopatológicas del subtipo intestinal.....	pág. 23
Figura 4. Tinciones anatomopatológicas del subtipo pancreatobiliar.....	pág. 24
Figura 5. Duodenopancreatectomía cefálica o cirugía de Whipple	pág. 26
Figura 6. Resultados de adyuvancia con Gemcitabina, 5-FU o observación en el estudio ESPAC-3	pág. 27
Figura 7. Resultados del ensayo clínico ABC-02 en pacientes con CAV	pág. 29
Figura 8. Panorama molecular del carcinoma pancreático.....	pág. 32
Figura 9. Panorama molecular del colangiocarcinoma distal.....	pág. 33
Figura 10. Panorama molecular del carcinoma duodenal.....	pág. 33
Figura 11. Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio	pág. 56
Figura 12. Supervivencia global y libre de enfermedad de la cohorte CAV-HUVH	pág. 59
Figura 13. SG y SLE según estadios clínicos, tratamiento adyuvante y subtipos histológicos	pág. 61
Figura 14. Vía de señalización oncogénica detectada en los paneles de secuenciación, y comparación entre los grupos PB, INT y MIX.....	pág. 62
Figura 15. Panorama genómico del CAV y alteraciones tratables (oncoplot)	pág. 63
Figura 16. Estudio genómico según estado de KRAS y clasificación ESCAT	pág. 65
Figura 17. Caracterización de mutaciones KRAS y SG según variantes	pág. 67
Figura 18. Eficacia según estado mutacional de TP53 en pacientes con CAV	pág. 68
Figura 19. SG en pacientes con y sin alteraciones ESCAT I–IIIA, con o sin tratamiento dirigido	pág. 69
Figura 20. Swimmer’s plot de los 6 pacientes tratados con tratamiento dirigido, especificando género, subtipo histológico, biomarcador para tratamiento dirigido, ESCAT, linia en qué recibe el tratamiento dirigido y fármaco utilizado.	pág. 70
Figura 21. Valoración radiológica por TC de la paciente CAV-1, en las pruebas basales y a la primera valoración de respuesta a las 10 semanas	pág. 71

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	15
SUMMARY.....	16
1. INTRODUCCIÓN	18
1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL: DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y FUNCIÓN DE LA AMPOLLA DE VATER.....	18
1.2. EPIDEMIOLOGÍA.....	19
1.3. CLÍNICA, DIAGNÓSTICO Y ESTADIFICACIÓN.....	20
1.4. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO Y SUBGRUPOS.....	23
1.5. TRATAMIENTO ESTÁNDAR SEGÚN GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA	25
1.6. BIOLOGÍA MOLECULAR. BIOMARCADORES EN EL CARCINOMA DE AMPOLLA DE VATER Y TUMORES RELACIONADOS	30
1.7. NUEVOS TRATAMIENTOS EN EL HORIZONTE	34
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	38
3. HIPÓTESIS	42
3.1. HIPÓTESIS PRINCIPALES	42
3.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS.....	42
4. OBJETIVOS	44
4.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	44
4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	44
5. METODOLOGIA.....	46
5.1. TIPOS DE ESTUDIO	46
5.2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA	46
5.3. VARIABLES CLÍNICAS	46
5.4. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS Y ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO	47
5.5. ANÁLISIS MOLECULAR	48
5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
5.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS	54
6. RESULTADOS	56
6.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE	56
6.2. RESULTADOS DE SUPERVIVENCIA.....	59
6.3. CARACTERIZACIÓN GENÓMICA Y ALTERACIONES DIANA	61

6.4.	CORRELACIÓN ENTRE RESULTADOS CLÍNICOS Y ALTERACIONES GENÓMICAS..	66
7.	DISCUSIÓN	74
7.1.	VISIÓN GENERAL DE LA COHORTE Y PERFIL CLÍNICO	74
7.2.	VALOR DEL SUBTIPO HISTOLÓGICO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA	75
7.3.	CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DEL CAV. HALLAZGOS Y RELEVANCIA	77
7.4.	APLICACIÓN CLÍNICA DE LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR EN EL CAV. OPORTUNIDADES TERAPÉUTICAS REALES E INTEGRACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA .	79
7.5.	LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	82
7.6.	INCÓGNITAS POR RESOLVER.....	84
8.	CONCLUSIONES	88
9.	LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	90
9.1.	INVESTIGACIÓN CLÍNICA	90
9.2.	INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL	90
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

RESUMEN

Antecedentes: El carcinoma de ampolla de Vater (CAV) es una enfermedad poco frecuente, caracterizada por una gran heterogeneidad clínico-patológica, con un pronóstico extremadamente desfavorable y escasas opciones de tratamiento. A día de hoy sus características moleculares no están adecuadamente estudiadas, y no se conoce si podría tener implicaciones terapéuticas.

Objetivo: Caracterizar el perfil molecular del CAV y evaluar la utilidad clínica del análisis genómico para identificar alteraciones tratables y guiar terapias personalizadas.

Métodos: Realizamos un análisis retrospectivo de las características clínicas, anatomopatológicas y genómicas en pacientes con CAV tratados en un centro de referencia de cáncer como es el Hospital Universitari Vall d'Hebron, entre 2008 y 2023. Las mutaciones genéticas se categorizaron según las vías moleculares, y las alteraciones potencialmente accionables se clasificaron de acuerdo con la escala ESCAT. Los hallazgos moleculares clave se validaron en una cohorte externa.

Resultados: Incluimos a 78 pacientes con una edad media de 66 años; el 51.6% eran mujeres, y la mayoría fueron tratados con cirugía de entrada (74.4%). Histológicamente, se clasificaron como pancreatobiliar (48.7%), intestinal (24.3%) y MIX (8.3%), o no conocido (21.8%). Los porcentajes de pacientes diagnosticados en los estadios I, II, III y IV fueron 23.1%, 11.5%, 37.2% y 28.2%, respectivamente. Cabe destacar que el subtipo intestinal mostró una mayor frecuencia de alteraciones en la vía TGF- β (25.9% vs. 6.1%, $p=0.03$), y de forma no significativa en la vía de WNT (33.3% vs. 15.2%, $p=0.09$). En la cohorte completa, se encontraron alteraciones moleculares potencialmente accionables en el 52% de los pacientes. Los tumores *KRAS*^{WT} mostraron un enriquecimiento en alteraciones potencialmente accionables ESCAT I-III tanto en nuestra cohorte (37.2% vs. 9.4%; $p=0.006$) como en la cohorte de validación externa (23.0% vs. 9.3%; $p=0.01$), incluyendo un 25.6% de amplificación/mutación de *ERBB2*, 14.0% con estado de deficiencia de recombinación homóloga y 7.4% con estado de inestabilidad de microsatélites. Seis pacientes recibieron terapias dirigidas según las alteraciones después de la progresión a quimioterapia, con una tasa de respuesta del 50% y dos pacientes se mantuvieron en tratamiento más de un año.

Conclusiones: Los pacientes con CAV presentan un enriquecimiento de alteraciones accionables, especialmente en tumores *KRAS*^{WT}, lo que sugiere que podrían beneficiarse particularmente de enfoques basados en oncología de precisión en tumores raros.

SUMMARY

Background: Ampullary carcinoma (AC) is a rare disease characterized by substantial clinicopathological heterogeneity, an extremely poor prognosis, and limited treatment options. To date, its molecular landscape has not been adequately studied, and their potential therapeutic implications remain unknown.

Aims: To characterize the molecular profile of AC and assess the clinical utility of genomic analysis in identifying actionable alterations and guiding personalized therapies

Methods: We conducted a retrospective analysis of the clinical and genomic characteristics of patients with AC treated at Vall d'Hebron University Hospital, a tertiary cancer referral center, between 2008 and 2023. Genetic mutations were categorized according to molecular pathways, and potentially actionable alterations were classified based on the ESCAT scale. Key molecular findings were validated in an external cohort.

Results: A total of 78 patients were included, with a median age of 66 years; 51.6% were female, and most were treated with primary surgery (74.4%). Histologically, tumors were classified as pancreatobiliary (48.7.3%), intestinal (24.3%), and mixed (5.1%) or unknown (21.8%). The proportions of patients diagnosed at stages I, II, III, and IV were 23.1%, 11.5%, 37.2% and 28.2%, respectively. Notably, the intestinal subtype exhibited a higher frequency of alterations in the TGF- β pathway (25.9% vs. 6.1%, $p=0.03$) and a non-significant trend in the WNT pathway (33.3% vs. 15.2%, $p=0.09$). Potentially actionable molecular alterations were identified in 52% of patients. Importantly, *KRAS*^{WT} tumors showed an enrichment in potentially actionable ESCAT I-IIIa alterations in both our cohort (37.2% vs. 9.4%; $p=0.006$) and the external validation cohort (23.0% vs. 9.3%; $p=0.01$), including 25.6% with *ERBB2* amplification/mutation, 14.0% with homologous recombination deficiency, and 7.4% with microsatellite instability. Six patients received targeted therapies based on these alterations after progression on chemotherapy, achieving a response rate of 50%, with two patients remaining on treatment for more than one year.

Conclusions: Patients with AC exhibit an enrichment of actionable alterations, especially in *KRAS*^{WT}, suggesting that they could particularly benefit from precision oncology approaches for rare cancers.



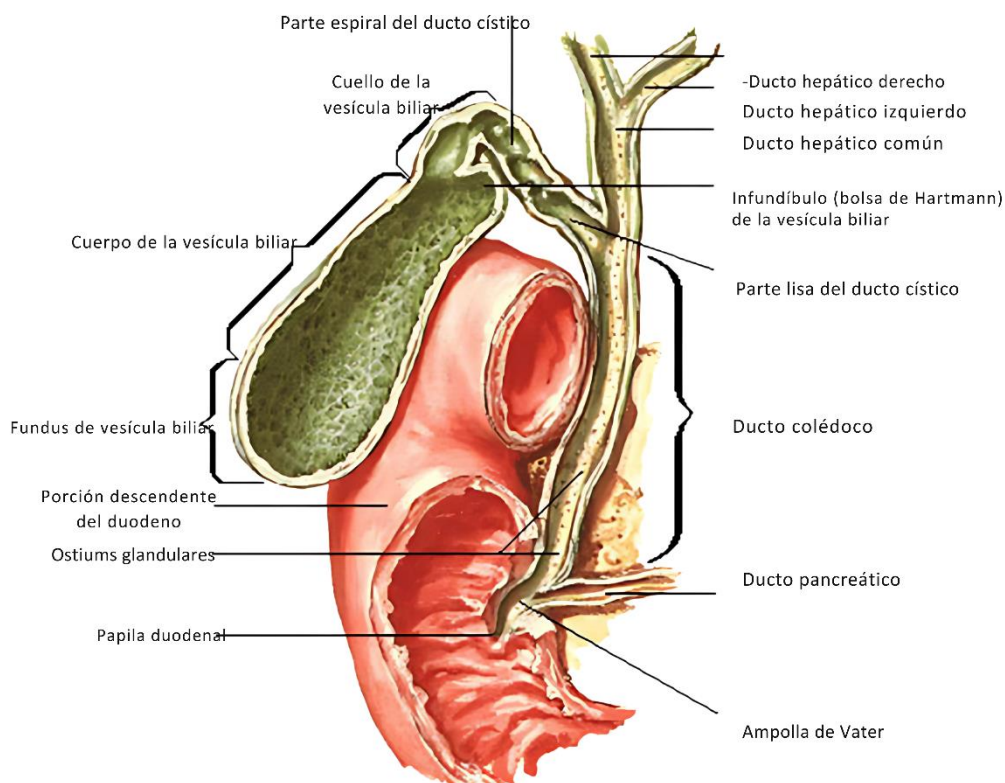
1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL: DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y FUNCIÓN DE LA AMPOLLA DE VATER

En la confluencia del conducto pancreático principal, la vía biliar y el tubo digestivo, a nivel de la segunda porción duodenal, encontramos la ampolla de Vater, epónimo derivado del anatomista alemán Abraham Vater quien hizo esta descripción en 1720¹. Esta estructura anatómica regula la secreción y liberación de los jugos segregados en el páncreas y la bilis a la segunda porción duodenal durante la digestión (Figura 1)².

Figura 1. Anatomía de la vía biliar. Adaptado del Atlas de anatomía humana de NETTER, Frank H. 8ª edición (2023)



Para poder llevar a cabo su función, la ampolla de Vater consta de 3 esfínteres que en su conjunto forman el conocido esfínter de Oddi, que regula la liberación de jugos pancreáticos, bilis o ambos en función de las necesidades secundarias al alimento en proceso de digestión, a la vez que evita la introducción retrógrada de contenido duodenal a través de la papila².

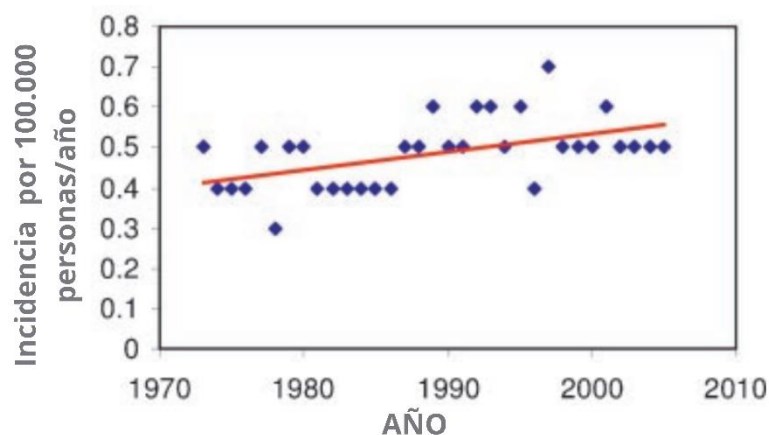
La mucosa que recubre este entramado de músculo liso es un epitelio de transición: desde el epitelio intestinal duodenal, pasando por epitelio glandular con células calciformes y epitelio foveolar-like, y finalmente epitelio pancreatobiliar similar al del ducto pancreático principal o el colédoco³.

De esta forma, se definen los carcinomas de ampolla de Vater (CAV) como aquellos que crecen en el complejo ampular, distal a la confluencia del colédoco y el conducto pancreático principal¹.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

El CAV es una entidad muy poco frecuente que representa, por los escasos datos de qué disponemos, tan solo el 0.2% de los cánceres gastrointestinales, y alrededor del 7% de todos los cánceres periampulares^{1,4}. Como se trata de un tumor tan poco frecuente, no hay datos concluyentes sobre su evolución, aunque su incidencia parece aumentar a lo largo de los años (Figura 2)^{5,6}.

Figura 2. Tendencia anual de casos de CAV basada en los datos de la serie de 1973-2005 de la Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER).



Por otro lado, es un tumor que suele debutar en estadios localizados en el 50-70% de los casos, y por lo tanto subsidiarios de tratamiento radical^{5,7}. Sin embargo, queda claro que es un tumor de mal pronóstico, pues los pocos estudios retrospectivos que hay describen una mediana de supervivencia global (SG) que varía de los 19 a los 115 meses, y en caso de los pacientes operados una supervivencia libre de enfermedad (SLE) que varía entre los 24 y los 70 meses^{8,9}. Esto supone una tasa de SG a 5 años del 4-15% y del 45-71% para estadios avanzados y localizados, respectivamente^{5,6,9}.

1.3. CLÍNICA, DIAGNÓSTICO Y ESTADIFICACIÓN

El CAV se manifiesta clínicamente de forma precoz debido a su peculiar ubicación anatómica, ya que el crecimiento tumoral suele ocasionar la obstrucción de la vía biliar. Esta obstrucción se traduce en síntomas de alarma, tales como ictericia, coluria y acolia. También puede llegar a presentarse como pancreatitis aguda, y de forma menos frecuente como vómitos vespertinos secundarios a obstrucción de la segunda porción duodenal^{10,11}. La precocidad en la aparición de los síntomas justifica que se diagnostique en estadios localizados en más del 50% de los casos, como hemos comentado anteriormente.

Sin embargo, en los tumores de gran tamaño con afectación de estructuras vecinas, puede resultar difícil distinguir el CAV de otros cánceres periampulares por afectación de diferentes estructuras. Por lo tanto, a veces resulta difícil diferenciarlo del carcinoma de páncreas (CP), el carcinoma duodenal (CD) o el colangiocarcinoma (CC), en especial el distal (dCC)^{10,11}.

Para una correcta evaluación inicial con analítica sanguínea completa que incluya hemograma, coagulación, función hepática, función renal y marcadores tumorales asociados a tumores digestivos altos como son el antígeno carcinoembrionario y el Ca19.9. Además se debe realizar una endoscopia digestiva alta para toma de biopsia, así como una tomografía computarizada toraco-abdomino-pelvica con contraste arterial y venoso para valorar su relación con las estructuras vasculares adyacentes y la presencia de lesiones a distancia¹⁰.

Con los resultados de estas pruebas, se sugiere discutir el caso en un comité multidisciplinar con presencia de equipos de radiología, anatomía patológica, endoscopia y oncología, para decidir la mejor actuación¹⁰.

En tumores resecables, debe plantearse la cirugía de entrada, incluso previo al drenaje de la vía biliar para evitar demoras y complicaciones asociadas a los drenajes^{12,13}. Se debe plantear la necesidad de drenaje de la vía biliar previo a la cirugía, solo en los casos de colangitis asociada, valores de bilirrubina superiores a 250 mmol/L, previsión de demora de la cirugía >2 semanas por cualquier motivo, así como en los casos no operables por comorbilidades, irresecables por relaciones anatómicas, o con afectación metastásica^{10,12,13}.

En caso de plantearse el drenaje de vía biliar, es preferible realizarlo mediante una colanpancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) con colocación de stent metálico autoexpandible^{13,14}.

Los resultados de estas pruebas, junto con la clasificación TNM (octava edición, ver tabla 1), orientan la elección del tratamiento inicial y proporcionan una estimación del pronóstico¹⁵.

Hay que tener en cuenta que dos cohortes independientes que incluyeron 369 y 104 pacientes han validado la octava edición de la clasificación TNM. Sin embargo, ambas apuntan a una dudosa discriminación de la categoría "T", donde argumentan que hay demasiadas categorías, sin ayudar estas a una gran discriminación de los resultados en supervivencia^{15,16}.

Tabla 1. AJCC 8ª edición de la clasificación TNM

Definición TNM - AJCC 8ª edición	
T1a	Limitado al esfínter de Oddi
T1b	Invasión de la mucosa duodenal
T2	Invasión de la muscular propia duodenal
T3a	Invasión peripancreática ≤0.5cm
T3b	Invasión peripancreática >0.5cm o invasión de subserosa duodenal
T4	Afectación de tronco celíaco o arteria mesentérica superior
N0	No afectación adenopática
N1	Afectación 1-3 adenopatías
N2	Afectación ≥4 adenopatías
M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia

Abreviaturas: TNM, tumor, nodal, metástasis; AJCC, American Joint Committee on Cancer.

Tabla 2. Estadío tumoral y pronóstico asociado en términos de SG y SLR.

Estadíaaje tumoral - AJCC 8ª edición y pronóstico					
ESTADIAJE	T	N	M	SLE (meses) ¹⁶	SG (meses) ¹⁶
Estadío IA	T1a	N0	M0	160	156
Estadío IB	T1b-T2	N0	M0	67	81
Estadío IIA	T3a	N0	M0	83	93
Estadío IIB	T3b	N0	M0	18	37
Estadío IIIA	T1-3	N1	M0	25	33
Estadío IIIB	T4	Nx	M0	11	17
Estadío IIIB	Tx	N2	M0	-	-
Estadío IVA	TxNxM1	Nx	M1	-	-

Abreviaturas: T, tumor; N, adenopatías; M, metástasis; AJCC, American Joint Committee on Cancer; SLE, supervivencia libre de enfermedad; SG, supervivencia global.

1.4. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO Y SUBGRUPOS

La mayoría de los CAV son adenocarcinomas, pero también se incluyen otros tipos más infrecuentes como el papilar, adenoescamoso o mucinoso^{17,18}.

En cuanto a los adenocarcinomas, inicialmente se describieron dos subtipos histológicos principales basados en el epitelio de origen y la morfología observada mediante tinciones de hematoxilina-eosina: el subtipo intestinal (INT) y el subtipo pancreatobiliar (PB)¹⁹.

El subtipo INT se origina a partir del epitelio intestinal que recubre la ampolla, mientras que el subtipo PB se origina en el epitelio del conducto biliar común distal y el conducto pancreático distal¹⁷.

No obstante, estudios más recientes han incorporado el uso de las tinciones inmunohistoquímicas (IHQ) para caracterizar mejor el subtipo histológico, creando para los casos que no cumplen estrictamente ninguno de los dos subtipos anteriores, el subtipo mixto (MIX)^{1,17}. Estos subtipos definidos tanto por la morfología como por las tinciones IHQ, son los criterios actualmente utilizados por la Royal College of Pathologists para clasificación de los CAV (Figura 3 y 4)¹⁸.

Figura 3. CAV subtipo intestinal. A y B: tinción con hematoxilina-eosina que muestra patrón de arquitectura cribiforme, con pseudocromasia nuclear y pseudoestratificación. C-F: podemos observar el patrón de tinción IHQ con MUC1 negativo (C), y positividad para CK20 (D), CDX2 (E) y MUC2 (F)¹⁷.

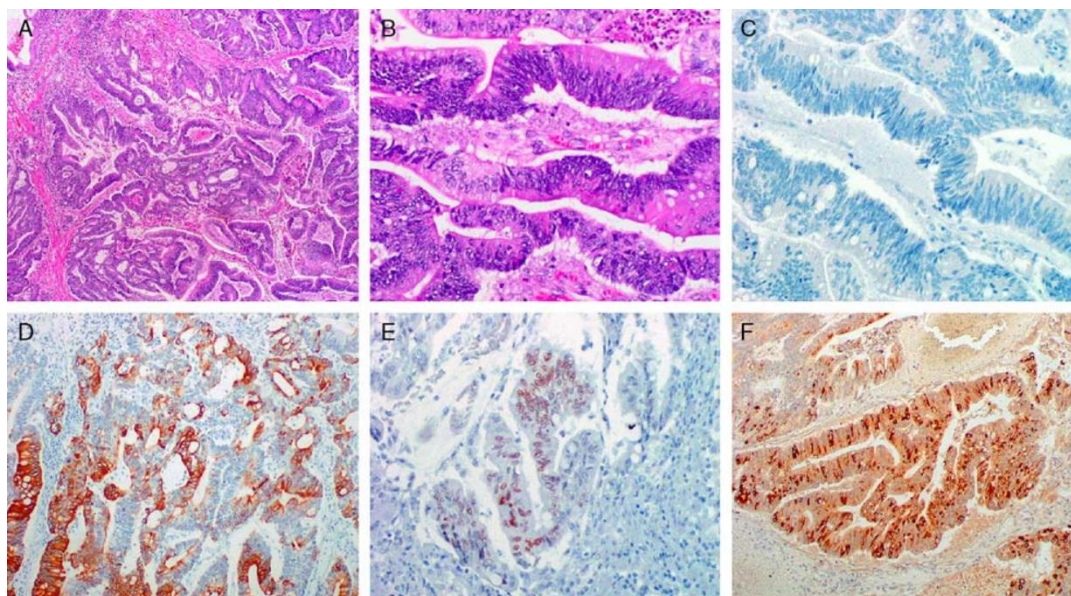
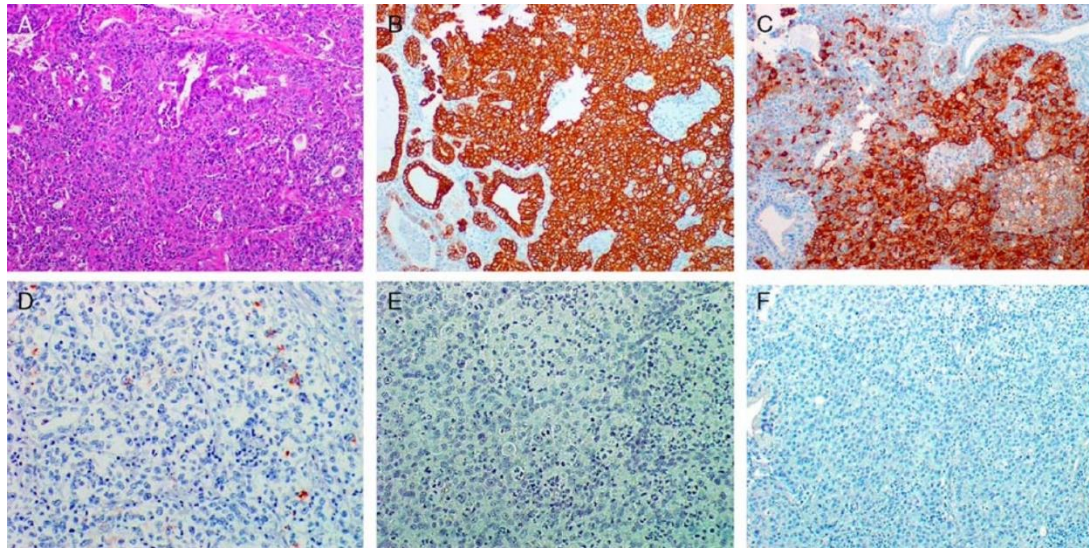


Figura 4. CAV subtipo pancreatobiliar. A: tinción con hematoxilina-eosina que muestra patrón de arquitectura desestructurada, sólido y anidado con formación de glándulas solo focalmente. B-F: podemos observar el patrón de tinción IHQ con positividad para CK7 (B) y MUC1 (C), y negatividad para CK20 (D), MUC2 (E) y CDX2 (F)¹⁷.



La evidencia sugiere que estos subtipos histológicos también difieren en su comportamiento biológico, lo que tiene implicaciones significativas en el pronóstico y los resultados clínicos^{9,11,20}. Es notable que un metaanálisis, a partir de diferentes estudios retrospectivos, ha descrito que los CAV-PB tienen un desenlace mucho peor que aquellos los CAV-INT, presentando medianas de SG que oscilan entre 51-115 meses a 19-47 meses, respectivamente. Esto se traduce en una Hazard Ratio (HR) para SG de 1.84 (95% IC 1.49-2.27) en favor del subtipo INT⁸.

Sin embargo, dado que estos resultados se basan en series retrospectivas, y no se han encontrado diferencias consistentes en todas las series, es necesario generar más evidencia que respalde esta hipótesis^{8,9,19,21}.

1.5. TRATAMIENTO ESTÁNDAR SEGÚN GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA

El abordaje terapéutico del CAV se fundamenta en la estratificación de la enfermedad según la estadificación y el estado de resección. Este enfoque se sustenta en el estándar propuesto por expertos, debido a la falta de evidencia sobre cuál es el mejor tratamiento para tumores tan poco prevalentes. De hecho, según nuestro conocimiento, solo existe la guía de práctica clínica de la NCCN, que oriente en el tratamiento de estos pacientes, y está basada fundamentalmente en consenso de expertos ¹⁰.

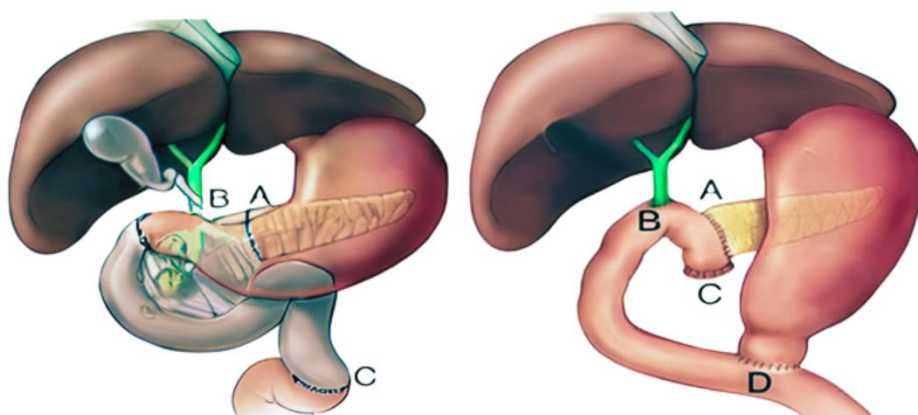
En pacientes con enfermedad localizada y resecable, la duodenopancreatectomía cefálica (DPC o cirugía de Whipple) constituye el tratamiento quirúrgico de elección (Figura 5), permitiendo lograr márgenes quirúrgicos negativos y, en consecuencia, mejorar el pronóstico. La decisión quirúrgica se complementa con la evaluación preoperatoria mediante técnicas de imagen, como TAC, RMN y ecoendoscopia, que permiten valorar la extensión local y la posible afectación nodal ¹⁰. Los resultados de estas pruebas deben ser valorados en un comité multidisciplinar, como hemos comentado anteriormente.

La DPC se asocia con una morbilidad y mortalidad significativas. Las tasas de mortalidad perioperatoria varían entre el 1% y el 10%, con mejores resultados en centros de alto volumen ^{22,23}. Este es el motivo por el cual las autoridades regulatorias locales (CATSALUT) establecen un mínimo de 11 cirugías pancreáticas anuales para poder realizarlas ²⁴. Por otro lado, la morbilidad puede alcanzar hasta el 50%, con complicaciones frecuentes como fístula pancreática, retraso en el vaciamiento gástrico e infecciones intraabdominales ^{22,23,25}.

Algunos estudios indican como el riesgo de morbilidad, sobre todo debido a la aparición de fístulas pancreáticas post-quirúrgicas, es mayor en los CAV que en los CP (20-30% en CAV frente a 8-16% en CP) ^{23,25}. No obstante, esta mayor tasa de complicaciones postoperatorias no parece influir negativamente en el pronóstico a largo plazo, probablemente debido a la menor agresividad biológica del CAV en comparación con el CP ²³.

Dada la alta morbilidad y el riesgo de mortalidad no despreciable asociado a la DPC, es fundamental que cada caso sea evaluado en un comité multidisciplinario. La correcta selección de pacientes candidatos a la cirugía, basada en el estado clínico y en las pruebas complementarias, es crucial para optimizar los resultados oncológicos y minimizar las complicaciones postoperatorias.

Figura 5. Duodenopancreatectomía cefálica o cirugía de Whipple.



La rareza y heterogeneidad del CAV ha planteado desafíos significativos en la búsqueda de tratamientos sistémicos eficaces. A día de hoy no existen ensayos clínicos de fase III de gran envergadura dirigidos específicamente a esta enfermedad que nos guíen en el tratamiento. Esto hace que nos tengamos que guiar por la evidencia generada en tumores biológicamente similares, así como en estudios retrospectivos donde tenemos que tomar con cautela las conclusiones que podamos sacar a la hora de generalizar sus conclusiones en la práctica clínica diaria¹⁰.

Vamos a revisar los ensayos clínicos donde se han incluido CAV para intentar entender cómo se realiza el manejo de tratamiento sistémico a día de hoy y con qué evidencia.

Si nos centramos en los estudios de adyuvancia, solo encontramos el ensayo clínico fase 3 ESPAC-3. Este tenía como objetivo evaluar la eficacia de la quimioterapia adyuvante, incluyendo pacientes con tumores periampulares. Un 69% de los pacientes incluidos fueron diagnosticados de CAV, un 22% de dCC y un 8% de otros. El estudio intentaba contestar a la pregunta de si la quimioterapia adyuvante mejora la supervivencia en pacientes con tumores periampulares, para la cual estratificó a los pacientes en función de la localización en vía biliar, ampolla de Vater, u otros, y los aleatorizaba a observación, quimioterapia con gemcitabina o quimioterapia con 5-fluorouracilo (5-FU). El resultado inicial de supervivencia fue negativo, mostrando una mejoría no significativa de la SG para los pacientes que recibían quimioterapia. Sin embargo, tras ajustar por factores pronósticos, el estudio resultó positivo con

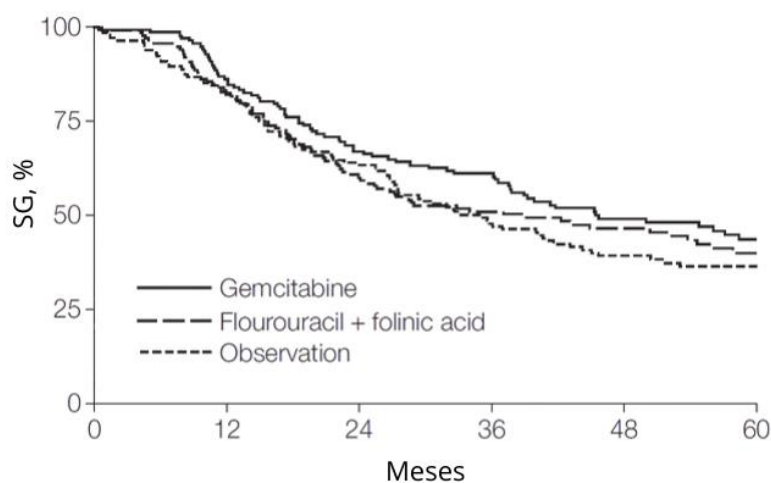
una Hazard Ratio (HR) de 0.75 (Intervalo de confianza 95% 0.57-0.98, $p=0.03$) (Figura 6). Además, se comparó concretamente en los pacientes con CAV, donde la SG con gemcitabina, 5-FU u observación fue de 70.8, 57.8 y 40.6 meses respectivamente²⁶.

Por lo tanto, este ensayo concluyó que la quimioterapia adyuvante mejora la SG en los pacientes con CAV, recomendando especialmente gemcitabina, o 5-FU como alternativa, como la estrategia óptima de tratamiento adyuvante²⁶. Dado que es el único ensayo clínico que evalúa el efecto de la adyuvancia en estos pacientes, debemos analizar minuciosamente las fortalezas y debilidades del mismo. Como fortalezas destacaríamos el diseño multicéntrico que involucró más de 100 centros de Europa, Australia, Japón y Canadá, así como el suficiente poder estadístico como para poder ajustar los resultados a los factores pronósticos independientes, cosa que permite extraer una conclusión estadísticamente válida.

Sin embargo, debemos tener en cuenta las limitaciones: la inclusión de diferentes tipos tumorales puede añadir heterogeneidad a la muestra ya dificultar la interpretación de los resultados. La falta de estratificación por factores pronósticos como la afectación adenopática o el grado tumoral pudo condicionar que el resultado del análisis primario no consiguiese la significación estadística. No se evaluó el subtipo histológico, por lo que no se han podido realizar análisis posteriores generadores de hipótesis sobre el mejor esquema de quimioterapia según el subtipo²⁶.

Con estos resultados, se acepta que la adyuvancia preferiblemente con gemcitabina, o con 5-FU como alternativa, es el tratamiento indicado tras la cirugía en los CAV¹⁰.

Figura 6. Resultados de adyuvancia con Gemcitabina, 5-Fluorouracilo o observación en el estudio ESPAC-3²⁶.



Abreviaturas: SG, supervivencia global

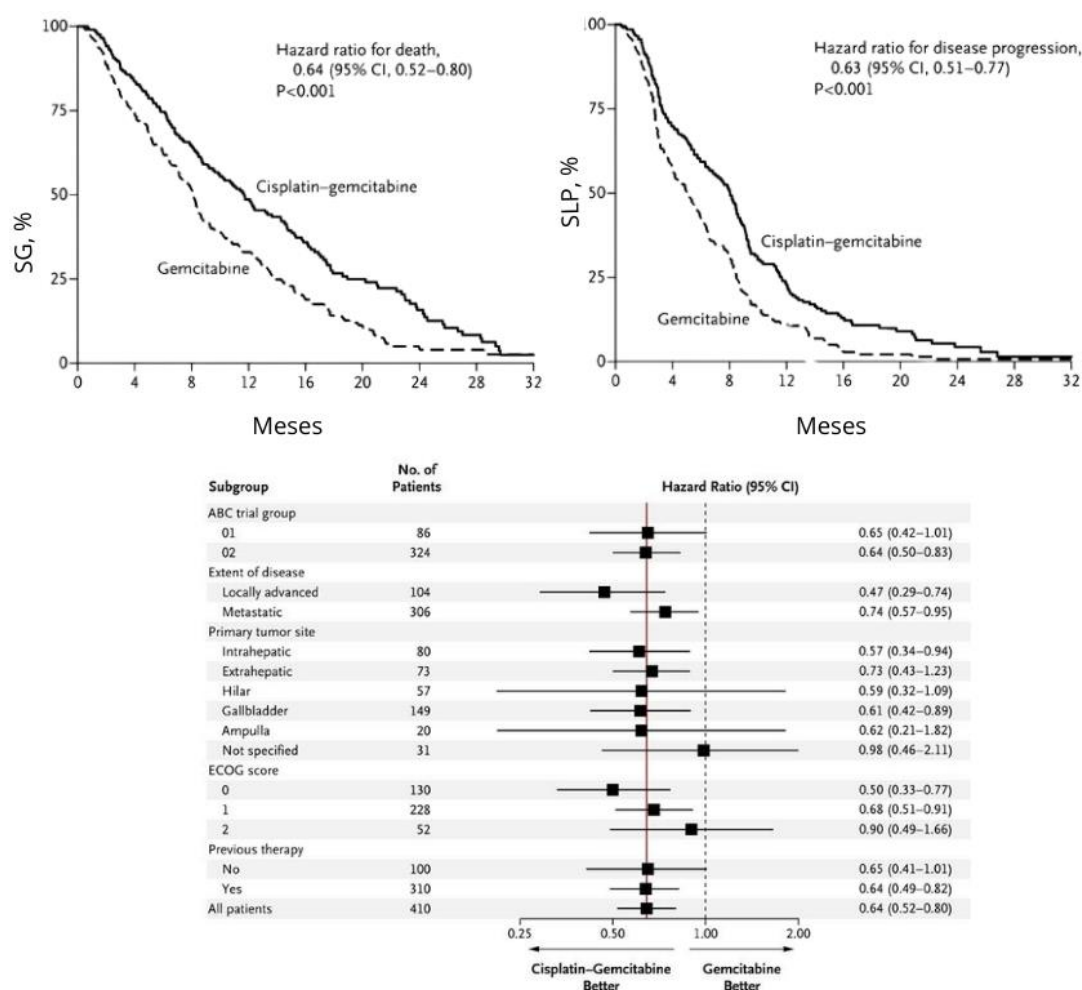
En cuanto a la enfermedad avanzada, según nuestro conocimiento, no existen ensayos clínicos focalizados únicamente en tumores periampulares.

El ensayo ABC-02 es un ensayo clínico fase 3 que estableció el tratamiento de referencia de los pacientes con carcinomas de vía biliar (CVB) avanzado, al demostrar la superioridad de cisplatino-gemcitabina sobre la gemcitabina en monoterapia. Para esto incluyó 410 pacientes con CVB avanzado, incluyendo 20 pacientes con CAV²⁷. Estos datos, se complementaron con un el estudio BT22, un ensayo clínico fase 2 japonés que trataba de contestar a la misma pregunta, donde se incluyeron 4 casos de CAV, y demostrando resultados generales similares ^{28,29}.

Estos resultados nos ofrecen evidencia sobre el uso del esquema cisplatino-gemcitabina en primera línea para tumores de vía biliar avanzados, incluyendo el CAV. Es importante destacar que la magnitud del beneficio en toda la población del estudio para supervivencia global es con una HR de 0.65, manteniéndose en valores similares de HR=0.71 en el subgrupo de CAV, motivo que refuerza el uso de este esquema como primera línea en estos tumores. Sin embargo, dado el limitado número de casos (n=24) de CAV incluidos en estos estudios no podemos realizar análisis en profundidad de este subgrupo de pacientes²⁸. Una muestra más grande podría proporcionarnos evidencia acerca de la eficacia según el subgrupo histológico, o según la extensión de la enfermedad.

Necesitamos realizar más investigación centrada exclusivamente en el CAV para establecer directrices de tratamiento más definitivas para esta población de pacientes. Además, los estudios más recientes de CVB avanzado en primera línea, han excluido específicamente los CAV, por lo que no sabemos si se pueden beneficiar de añadir inhibidores del punto de control inmunológico a la quimioterapia ^{30,31}.

Figura 7. Resultados del ensayo clínico fase III ABC-02, que incluyó pacientes con CAV. A, resultados de supervivencia global. B, resultados de supervivencia libre de progresión. C, análisis de subgrupos, donde se aprecia que el beneficio persiste para el subgrupo de pacientes con CAV.



Abreviaturas: SG, supervivencia global; SLP, supervivencia libre de progresión; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group.

En segunda línea tras fallo de gemcitabina, el ensayo clínico fase 3 ABC-06 evaluó el esquema FOLFOX sumado al control activo de síntomas frente a control activo de síntomas exclusivamente en pacientes con CVB avanzados, incluyendo 13 pacientes con CAV³². El tratamiento con FOLFOX aportó una leve mejoría estadísticamente significativa y clínicamente relevante en SG, con una HR 0.69, y una mediana de SG de 6.2 vs 5.3 meses, $p=0.031$) respecto al control activo de síntomas exclusivo. Sin embargo, dado el reducido número de pacientes con CAV, no podemos realizar análisis más en profundidad de este subgrupo, como podría ser el análisis por subtipo histológico o el análisis por sensibilidad previa a platinos³².

A pesar de estos hallazgos, y debido a la falta de evidencia sólida, el tratamiento rutinario de estos tumores en fases avanzadas no está estandarizado. Aunque se deben tener en cuenta los resultados de estos ensayos clínicos, el manejo propuesto en las guías de práctica clínica se deriva del manejo en tumores cercanos como son el CP, el dCC o el CD¹⁰.

Esta heterogeneidad y la escasez de evidencia hacen que, a día de hoy, no exista un claro consenso en la práctica clínica rutinaria sobre los regímenes ideales de quimioterapia sistémica en nuestro medio, pudiendo utilizar diferentes esquemas de quimioterapia de 1L (CDDP-Gemcitabina, FOLFIRINOX, Gemcitabina-NabPaclitaxel o FOLFOX), añadiendo o no agentes biológicos antiangiogénicos o anti-EGFR en función de la disponibilidad de los fármacos.

1.6. BIOLOGÍA MOLECULAR. BIOMARCADORES EN EL CARCINOMA DE AMPOLLA DE VATER Y TUMORES RELACIONADOS

La caracterización genómica del CAV plantea desafíos únicos. Aunque algunos estudios han mostrado hallazgos prometedores, el pequeño tamaño de las muestras y la falta de validación externa han impedido que estos resultados influyan en la práctica clínica¹¹. Las investigaciones actuales indican que el CAV implica una compleja interacción de alteraciones genéticas en vías oncogénicas clave, incluyendo las vías Wnt/ β -catenina, PI3K/AKT, TP53 y TGF β ^{11,33-36}. Debemos tener en cuenta que estos estudios se han realizado sobre series de tumores operados, sin incluir en ninguno de ellos pacientes diagnosticados en estadios avanzados.

A pesar de estos avances, persisten importantes vacíos de conocimiento en relación a las alteraciones genómicas del CAV. Esta falta de conocimiento dificulta el desarrollo de terapias dirigidas efectivas y enfoques de tratamiento personalizados³⁷.

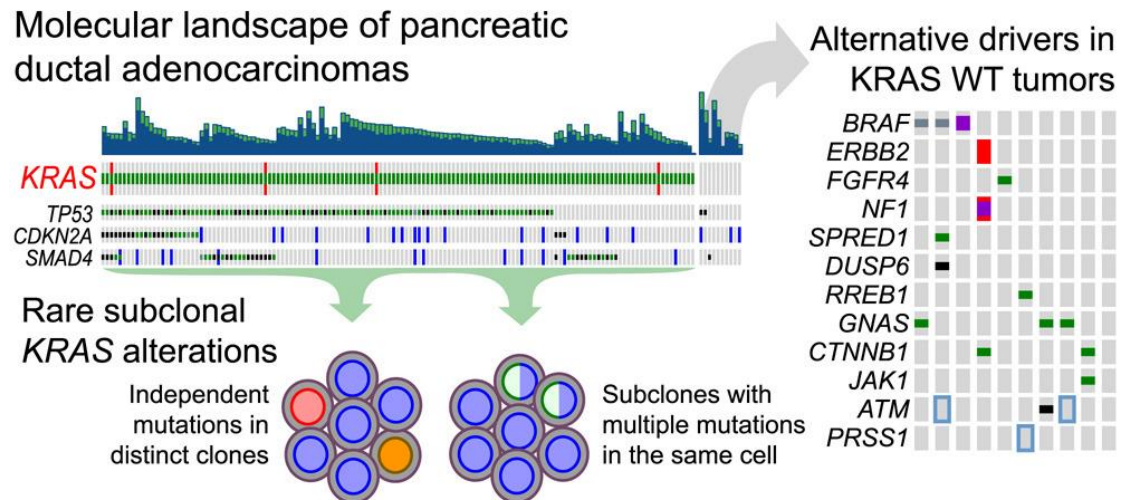
Si analizamos los tumores relacionados, vemos ciertas diferencias y similitudes que nos puedes ayudar a entender mejor el CAV. Vamos a desglosarlos uno por uno.

Respecto al CP, destacamos 4 genes conductores predominantes implicados en la carcinogénesis como son *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A* y *SMAD4*. *KRAS* es el oncogén más comúnmente mutado, presente en más del 90% de los casos, y su alteración es un evento temprano en la carcinogénesis pancreática asociada con la activación de vías de señalización que promueven la proliferación celular (Figura 8) ³⁸.

Hasta hace pocos años, las vías de señalización de *KRAS* han sido consideradas inbloqueables con fármacos, debido a la complejidad de la estructura terciaria de la proteína, la facilidad de aparición de resistencias en otros puntos de la vía de las MAPK, así como la alta toxicidad que puede conllevar un bloqueo de la misma. Sin embargo, en el 10% de pacientes con *KRAS* wild-type (WT) sí se han descrito alteraciones moleculares tratables para las que se han desarrollado tratamientos dirigidos como son fusiones génicas en *BRAF* (6.6%), *FGFR2* (5.2%), *ALK* (2.6%), *RET* (1.3%), y *NRG1* (1.3%), así como amplificaciones de *FGFR3* (3%), *ERBB2* (2.2%), *FGFR3* (1.8%), *NTRK* (1.8%), y *MET* (1.3%)³⁹. Cabe decir que a día de hoy sí hay fármacos, aún en fase de investigación, que ponen el foco en *KRAS*, ya sea en mutaciones puntuales específicas como G12C o G21D, o en la regulación de la activación de la vía⁴⁰⁻⁴³.

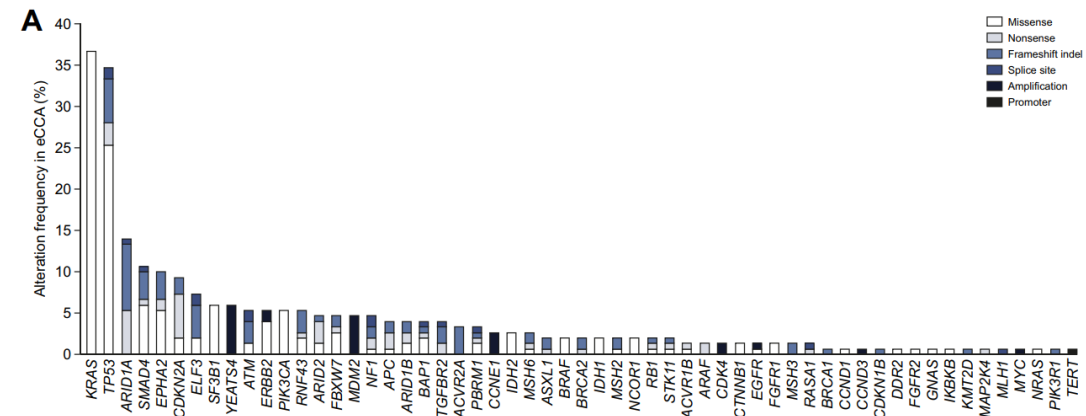
Además, en aproximadamente un 7% de los casos con CP en nuestro entorno existe una alteración en la línea germinal de los genes encargados de la reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN), en especial los genes relacionados con la recombinación homóloga (RH) como son *BRCA1*, *BRCA2* o *PALB2*⁴⁴. La alteración en estos genes confiere una sensibilidad aumentada a la quimioterapia basada en platino, y da la opción a iniciar mantenimiento con inhibidores de la Poli ADP ribosa polimerasa (PARP) como olaparib o ribociclib⁴⁵⁻⁴⁸.

Figura 8. Panorama molecular del carcinoma pancreático. Destaca la predominancia de *KRAS*^{MUT}, así como la presencia de genes conductores alternativos en los pacientes con *KRAS*^{WT} ³⁸.



Si nos centramos en los CVB, vemos como las alteraciones encontradas pueden ser variables en función de la localización del tumor primario. Los CC intrahepáticos tienen diferentes alteraciones moleculares conductoras, que dan oportunidad de tratamientos dirigidos en más de un 40% de los casos⁴⁹. Pero si nos centramos en el dCC, por su relación anatómica con el CAV, encontramos que los genes más frecuentemente alterados son *KRAS* (36%) y *TP53* (35%), aunque podemos observar hasta un 25% de los pacientes pueden tener alteraciones moleculares potencialmente tratables. De estas destacan las amplificaciones y mutaciones en *ERBB2*, así como las mutaciones en *PIK3CA* y *MYC* (Figura 9)⁵⁰.

Figura 9. Panorama molecular del colangiocarcinoma distal. Destaca la predominancia de alteraciones en *KRAS* y *TP53*. También destacan alteraciones en *ERBB2* como alteraciones potencialmente tratables en más de un 5% de los casos⁵⁰.



Finalmente, y con respecto al CD, no hay investigaciones que hayan estudiado el panorama molecular en series grandes en profundidad, aunque alguna serie de 12 pacientes bien caracterizados describe alteraciones principalmente en *TP53* (58%), y *KRAS* (25%), y alteraciones en genes relacionados con la vía de Wnt en un 40% de los pacientes con mutaciones en *APC* o *CTNNB1* (Figura 10)⁵¹.

Figura 10. Panorama molecular del carcinoma duodenal. Único estudio que reporta alteraciones en 12 pacientes, donde en 2 pacientes no se encontró ninguna alteración. Predominan alteraciones en *TP53*, *KRAS* y genes de la vía de Wnt⁵¹.



Como podemos apreciar, hay diferencias en los tumores relacionados, pero sí se repiten algunos patrones como la importancia de *TP53* y *KRAS*. Por otro lado, tenemos particularidades de cada tipo, como la predominancia de alteraciones potencialmente tratables en los pacientes sin mutaciones en *KRAS* en CP, la presencia de alteraciones en *ERBB2* en dCC o la alteración en vía de Wnt en el CD.

En este estudio, buscamos proporcionar una visión exhaustiva del panorama genómico del CAV mediante el análisis de las características clínicas y moleculares de nuestra cohorte y la validación de hallazgos clave en una cohorte independiente, disponible públicamente. Al resaltar las alteraciones moleculares que impulsan la tumorigénesis y la metástasis en los CAV, nuestro objetivo es allanar el camino para enfoques de medicina de precisión y terapias dirigidas que combatan esta neoplasia agresiva.

A través de nuestra investigación, esperamos contribuir al avance del conocimiento y al desarrollo de estrategias de tratamiento más efectivas para los pacientes que padecen esta enfermedad.

1.7. NUEVOS TRATAMIENTOS EN EL HORIZONTE

La identificación de alteraciones moleculares específicas ha impulsado el desarrollo de estrategias terapéuticas emergentes en tumores relacionados con la ampolla de Vater (dCC, CP y CD) ^{52–54}. La integración de técnicas de secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés) ha permitido detectar alteraciones en genes que sirven como biomarcadores –por ejemplo *FGFR2*, *IDH1*, *ERBB2*, *BRAF*, *KRAS*, *NRG1*, entre otros–. A su vez el uso de técnicas más sencillas y estandarizadas, como la IHQ para la detección de HER2 o dMMR, complementa el análisis molecular y abre la puerta a terapias dirigidas en estos tumores ^{46,52–54}.

Adicionalmente, se están evaluando agentes dirigidos a alteraciones emergentes en estudios que han incluido diversos tipos de histologías, lo que ha llevado a la aprobación agnóstica de algunos tratamientos, es decir, su uso independiente del subtipo histológico. Entre los ejemplos más representativos se encuentran el empleo de entrectinib⁵⁵ o larotrectinib ⁵⁶ en presencia de fusiones en *NTRK*, el uso de selpercantinib⁵⁷ para fusiones en *RET*, y de manera más relevante para el CAV, la utilización de trastuzumab-deruxtecan (TDXd) en casos de sobreexpresión de Her2⁵⁸ o de pembrolizumab en pacientes con dMMR o alta carga mutacional tumoral (TMB-High)^{59,60}.



Estas modalidades terapéuticas no solo prometen mejorar la eficacia del tratamiento, sino también personalizar la estrategia terapéutica de acuerdo al perfil molecular del tumor. En consecuencia, la adopción de estos nuevos tratamientos podría transformar el paradigma terapéutico del CAV, particularmente en escenarios donde la enfermedad es irresecable o presenta resistencia a las terapias convencionales.





2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El CAV es una neoplasia rara y agresiva que representa menos del 0.2% de todos los cánceres gastrointestinales, que presenta una tasa de supervivencia a cinco años de aproximadamente el 30% a pesar de ser resecable en la mayoría de casos al diagnóstico.

Estas dos condiciones subrayan las dificultades en el estudio en profundidad del tumor, al no disponer de grandes series homogéneas y la rápida evolución de sus procesos. Esta falta de conocimiento conduce a la falta de un consenso claro sobre el manejo terapéutico óptimo de esta enfermedad, de forma que existen guías de práctica limitadas, y las pocas que existen nos remiten a la evidencia en tumores con histologías parecidas, como el carcinoma de duodeno, el carcinoma pancreático o el conjunto de tumores de la vía biliar. Esta falta de consenso, junto con la falta de evidencia específica para el CAV, deja a los médicos con una brecha de conocimiento significativa para abordar esta patología.

El avance de la genómica y la medicina de precisión ha transformado el tratamiento del cáncer, identificando mecanismos moleculares que permiten clasificar mejor los diferentes tumores, así como desarrollar terapias que actúen directamente sobre ellos. Sin embargo, esta revolución ha sido menos evidente en el CAV, debido a la heterogeneidad del tumor, la rareza de la enfermedad y la falta de ensayos clínicos específicos. Hasta la fecha, el panorama molecular del CAV y sus implicaciones terapéuticas no han sido ampliamente estudiadas.

En este contexto, esta tesis doctoral titulada “caracterización genómica del carcinoma ampular peripancreático para la detección de nuevas oportunidades de tratamiento biológico dirigido a nuevas dianas terapéuticas” busca abordar estas lagunas de conocimiento mediante la caracterización clínica y genómica del CAV, con el fin de identificar qué alteraciones moleculares nos conducen al desarrollo de estos tumores, así como saber cuáles de ellas son potencialmente accionables que puedan abrir la puerta a nuevas estrategias terapéuticas.

Este proyecto tiene como objetivo no solo avanzar en el conocimiento científico sobre el CAV, sino también contribuir al desarrollo de la oncología de precisión para una enfermedad que hasta ahora ha sido relegada en términos de investigación y opciones de tratamiento. La validación de hallazgos en cohortes externas y el enfoque en alteraciones moleculares accionables ofrecen un marco robusto para el diseño de futuros ensayos clínicos, brindando esperanza a los pacientes con esta enfermedad rara y agresiva.



Por lo tanto, esta tesis doctoral responde a la necesidad crítica de ampliar el conocimiento sobre el CAV y explorar las posibilidades de personalizar su manejo clínico, alineándose con las tendencias actuales hacia tratamientos dirigidos y más efectivos en oncología.





3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

3.1. HIPÓTESIS PRINCIPALES

1. El CAV presenta un patrón heterogéneo de alteraciones en vías de señalización oncogénica clave, cuya distribución varía según el subtipo histológico, lo que sugiere una base molecular diferencial entre los fenotipos pancreatobiliar, intestinal y mixto.
2. El perfil molecular del CAV constituye una herramienta potencialmente superior a la clasificación histológica convencional, pudiendo orientar estrategias terapéuticas personalizadas.

2.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS

1. La integración de la caracterización molecular con los datos clínico-patológicos permitirá definir algoritmos de tratamiento más homogéneos, facilitando tanto el abordaje terapéutico, como el diseño de futuros ensayos clínicos específicos.
2. La identificación de alteraciones genómicas accionables mediante plataformas de NGS posibilita la ampliación del arsenal terapéutico más allá de lo que ofrece la clasificación anatomopatológica exclusivamente.



4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Caracterizar el perfil molecular del CAV y analizar su potencial utilidad en el diseño de estrategias terapéuticas personalizadas.

4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Describir las principales alteraciones genómicas presentes en una cohorte de pacientes con CAV mediante técnicas de NGS.
2. Evaluar la correlación entre los subtipos histológicos (PB, INT y MIX), y las vías de señalización molecular.
3. Analizar la asociación entre las alteraciones moleculares más frecuentes y el pronóstico en términos de supervivencia.
4. Determinar la prevalencia y el impacto clínico de alteraciones genómicas potencialmente tratables, y su relación con la respuesta a tratamientos dirigidos.



5. METODOLOGÍA

5. METODOLOGIA

5.1. TIPOS DE ESTUDIO

Hemos realizado un estudio observacional, retrospectivo, descriptivo y analítico, con el objetivo de caracterizar clínicamente y molecularmente una cohorte de pacientes con CAV.

5.2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se han incluido de forma consecutiva 78 pacientes con diagnóstico confirmado de CAV entre los años 2008 y 2023 en el Hospital Universitari Vall d'Hebrón (HUVH), centro de referencia en oncología gastrointestinal. Todos los datos formaban parte de la base de datos del Grupo de Tumores Gastrointestinales Superiores y Endocrinos, y contaban con información clínica, anatomopatológica, y en la mayoría de casos, datos de secuenciación molecular.

5.3. VARIABLES CLÍNICAS

En el estudio se han incluido diferentes variables clínicas relevantes, que se recogieron tanto al diagnóstico como al inicio de la enfermedad avanzada, según se detalla en la Tabla 3.

Tabla 3. Variables recogidas en el momento del diagnóstico y durante la evolución de la enfermedad, en la cohorte global y en la cohorte metastásica.

<i>Cohorte global</i>		<i>Cohorte metastásica</i>	
<i>Variables basales</i>	<i>Eventos en la evolución</i>	<i>Variables basales</i>	<i>Eventos en la evolución</i>
- Edad al diagnóstico - Sexo biológico - Histología - Subtipo histológico - Estadio clínico al diagnóstico - ECOG-PS al diagnóstico - Hallazgos genómicos	- Tratamiento adyuvante - Cirugía (fecha) - Recidiva (fecha) - 1L de tratamiento - 1L de tratamiento (fecha) - Mejor respuesta a la 1L - Número de líneas de tratamiento - Tratamiento dirigido - Progresión a cada tratamiento (fecha) - Muerte (fecha)	- Edad al diagnóstico - Sexo biológico - Histología - Subtipo histológico - Estadio clínico al diagnóstico - ECOG-PS al diagnóstico - Hallazgos genómicos - QT en los últimos 6 meses antes del diagnóstico de M1	- 1L de tratamiento - 1L de tratamiento (fecha) - Mejor respuesta a la 1L - Número de líneas de tratamiento - Tratamiento dirigido - Progresión a cada tratamiento (fecha) - Muerte (fecha)

Abreviaturas: ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group-Performance Status; QT, quimioterapia; M1, metastásico; 1L tratamiento de Primera Linea.

5.4. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS Y ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

Los casos fueron valorados por una patóloga experta en tumores hepatobiliopancreáticos. La clasificación histológica se realizó conforme los criterios del Royal College of Pathologists ¹⁷. Utilizamos los marcadores MUC1, MUC2, CDX2 y CK20, según el siguiente esquema: el subtipo INT se definió como positivo para CK20 o CDX2 o MUC2 y negativo para MUC1, o positivo para CK20, CDX2 y MUC2, independientemente del patrón de tinción de MUC1. El subtipo PB se definió como positivo para MUC1 y negativo para CDX2 y MUC2, independientemente del patrón de tinción de CK20. El subtipo MIX se definió como otras combinaciones de fenotipos, incluyendo aquellos negativos para todos los marcadores (Tabla 4).

Las tinciones IHQ fueron realizadas sobre cortes de tejido formalina-fijado e incluían los anticuerpos mencionados en el apartado anterior. La interpretación se realizó de forma semicuantitativa, y los resultados fueron evaluados por un único observador con experiencia en anatomía patológica hepatobiliopancreática, para minimizar la variabilidad interobservador.

Tabla 4. Definición del subtipo histológico según el resultado IHQ.

Subtipo histológico	Tinción IHQ
INTESTINAL	1. Tinción positiva para CK20 o CDX2 o MUC2, Y negativo para MUC1 2. Tinción positiva para CK20, CDX2, y MUC2, independientemente de MUC1
PANCREATOBILIAR	Tinción positiva para MUC1 Y negativa para CDX2 Y MUC2, independientemente de CK20
MIXTO	Otras combinaciones de fenotipos, incluyendo negatividad para todas las tinciones

Abreviaturas: IHQ, inmunohistoquímica.

5.5. ANÁLISIS MOLECULAR

Para el análisis genómico se han utilizado muestras procedentes de tumor primario o de localización metastásica, según disponibilidad.

El análisis genómico se realizó mediante técnicas de NGS, empleando paneles comerciales o institucionales validados en oncología clínica^{61–64}. La diferencia principal entre los diferentes paneles utilizados radica en la cantidad de mutaciones hotspot capaces de detectar en diferentes genes como podemos observar en las tablas 5, 6 y 7, referentes a los paneles utilizados por Amplicon Seq VHIO v1.0 con 60 genes analizados, en comparación con los más de 300 genes analizados en paneles más nuevos como el panel VHIO-CARD-300 o el Foundation One CDx test®. Por otra parte, los pacientes a los que se realizó panel Caris Life Sciences®, se les realizaba un estudio con análisis completo del exoma, con más de 23.000 genes, de los que se reportaban los resultados de las mutaciones más frecuentes presentes en 592 genes⁶².

Tabla 5. Genes analizados en el panel Amplicon Seq VHIO v1.0

ABL1	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	APC	BRAF	CDH1	CDKN2A	CSF1R
CTNNB1	EGFR	ERBB2	ERBB3	ESR1	FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4
FLT3	GATA1	GNA11	GNAQ	GNAS	HRAS	IDH1	IDH2	JAK1	JAK3
KIT	MAG	MAP2K1	MET	MLH1	MPL	MSH6	MTOR	MYC	NF2
NOTCH1	NOTCH3	NRAS	PDGFRA	PIK3CA	PIK3R1	PIK3R5	PTCH1	PTEN	RB1
RET	RNF43	RUNX1	SMAD4	SMARCB1	SRC	STK11	TP53	VHL	ZNRF3

Tabla 6. Genes analizados en el panel VHIO-CARD-300

ABL2	ABLL	ACVR1B	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	ALOX12B	AMER1	APC
AR	ARAF	ARFRP1	ARID1A	ARID1B	ARID2	ARID5B	ASXL1	ASXL2	ATM
ATR	ATRX	AURKA	AURKB	AXIN1	AXIN2	AXL	B2M	BAP1	BARD1
BBC3	BCL2	BCL2L1	BCL2L11	BCL2L2	BCL6	BCOR	BCORL1	BLM	BMPR1A
BRAF	BRCA1	BRCA2	BRD4	BRIP1	BTG1	BTK	C11ORF30	CARD11	CASP8
CBFB	CBL	CCND1	CCND2	CCND3	CCNE1	CD274	CD276	CD79A	CD79B
CDC73	CDH1	CDK12	CDK4	CDK6	CDK8	CDKN1A	CDKN1B	CDKN2A	CDKN2B
CDKN2C	CEBPA	CHD2	CHD4	CHEK1	CHEK2	CIC	CRBBP	CRKL	CRLF2
CSF1R	CTCF	CTLA4	CTNNA1	CTNNB1	CUL3	CYLD	DAXX	DCUN1D1	DDR2
DICER1	DIS3	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B	DOT1L	E2F3	EED	EGFL7	EGFR
EIF1AX	EP300	EPCAM	EPHA3	EPHA5	EPHA7	EPHB1	ERBB2	ERBB3	ERBB4
ERCC2	ERCC3	ERCC4	ERCC5	ERG	ERRF1	ESR1	ETV1	ETV6	EZH2
FAM175A	FAM46C	FANCA	FANCC	FANCD2	FANCE	FANCF	FANCG	FANCL	FANCM
FAS	FAT1	FBXW7	FGF10	FGF14	FGF19	FGF23	FGF3	FGF4	FGF6
FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4	FH	FLT1	FOXA1	FOXA2	FOXA3	FOXL2
FOXP1	FRS2	FUBP1	GABRA6	GATA1	GATA2	GATA3	GATA4	GATA6	GID4
GLI1	GNA11	GNA13	GNAQ	GNAS	GPR124	GREM1	GRIN2A	GRM3	GSK3B
H3F3A	H3F3C	HGF	HIST1H1C	HIST1H2BD	HIST3H3B	HNF1A	HRAS	HSD3B1	HSPA90AA1
ICOSLG	IDH1	IDH2	IFNGR1	IGF1	IGF1R	IGF2	IKBKE	IKZF1	IL10
IL7R	INHBA	INPP4A	INPP4B	INSR	IRAK4	IRF2	IRF4	IRF9	IRS2
JAK1	JAK2	JAK3	JUN	KAT6A	KDM5A	KDM5C	KDM6A	KDR	KEAP1
KEL	KIT	KLF4	KLHL6	KMT2A	KMT2C	KMT2D	KRAS	LATS1	LATS2
LMO1	LRP1B	LYN	LZTR1	MAD2L2	MAGI2	MALT1	MAP2K1	MAP2K2	MAP2K4
MAP3K1	MAP3K13	MAP3K5	MAPK1	MAPK7	MAX	MCL1	MDC1	MDM2	MDM4
MED12	MEF2B	MEN1	MET	MITF	MLH1	MPL	MRE11A	MSH2	MSH6
MTOR	MUTYH	MYC	MYCL	MYCL1	MYCN	MYD88	MYOD1	NBN	NCOR1
NF1	NF2	NFE2L2	NFKBIA	NKX2-1	NKX3-1	NOTCH1	NOTCH2	NOTCH3	NOTCH4
NPM1	NRAS	NSD1	NTRK1	NTRK2	NTRK3	NUP93	PAK1	PAK3	PAK7
PALB2	PARK2	PARP1	PAX5	PBRM1	PDCD1	PDCD1LG2	PDGFRA	PDGFRB	PDK1
PDPK1	PHOX2B	PIK3C2B	PIK3C2G	PIK3C3	PIK3CA	PIK3CB	PIK3CD	PIK3CG	PIK3R1
PIK3R2	PIK3R3	PIM1	PLCG2	PLK2	PMAIP1	PMS1	PMS2	PNRC1	POLD1
POLE	PPP2R1A	PPP2R2A	PRDM1	PREX2	PRKARIA	PRKCI	PRKCQ	PRKDC	PRSS8
PTEN	PTPN11	PTPRD	PTPRS	PTPRT	QKI	RAC1	RAD50	RAD51	RAD51B
RAD51C	RAD51D	RAD52	RAD54L	RAF1	RANBP2	RARA	RASA1	RB1	RBM10
RECQL4	REL	RET	RFWD2	RHEB	RHOA	RICTOR	RIT1	RNF43	ROS1
RPS6KA4	RPS6KB2	RPTOR	RSPO2	RUNX1	RUNX1T1	RYBP	SDHA	SDHAF2	SDHB
SDHC	SDHD	SETD2	SF3B1	SH2D1A	SHH	SHQ1	SLIT2	SMAD2	SMAD3
SMAD4	SMARCA4	SMARCB1	SMARCD1	SMO	SNCAIP	SOC3	SOX10	SOX17	SOX2
SOX9	SPEN	SPOP	SPTA1	SRC	STAG2	STAT3	STAT4	STK11	STK40
SUFU	SUZ12	SYK	TAF1	TBX3	TERT	TET1	TET2	TGFBR1	TGFBR2
TMEM127	TMPRSS2	TNFAIP3	TNFRSF14	TOP1	TOP2A	TP53	TP63	TRAF7	TSC1
TSC2	TSHR	U2AF1	VEGFA	VHL	VTCN1	WISP3	WT1	XIAP	XPO1
YAP1	YES1	ZBTB2	ZNF217	ZNF703					

Tabla 7. Genes analizados en el panel Foundation One CDx test®

ABL1	ACVR1B	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	ALOX12B	AMER1 (FAM123B)	APC	AR
ARAF	ARFRP1	ARID1A	ASXL1	ATM	ATR	ATRX	AURKA	AURKB	AXIN1
AXL	BAP1	BARD1	BCL2	BCL2L1	BCL2L2	BCL6	BCOR	BCORL1	BRAF
BRCA1	BRCA2	BRD4	BRIP1	BTG1	BTG2	BTB	C11ORF30 (EMSY)	CALR	CARD11
CASP8	CBFB	CBL	CCND1	CCND2	CCND3	CCNE1	CD22	CD274 (PD- L1)	CD70
CD79A	CD79B	CDC73	CDH1	CDK12	CDK4	CDK6	CDK8	CDKN1A	CDKN1B
CDKN2A	CDKN2B	CDKN2C	CEBPA	CHEK1	CHEK2	CIC	CREBBP	CRKL	CSF1R
CSF3R	CTCF	CTNNA1	CTNNB1	CUL3	CUL4A	CXCR4	CYP17A1	DAXX	DDR1
DDR2	DIS3	DNMT3A	DOT1L	EED	EGFR	EP300	EPHA3	EPHB1	EPHB4
ERBB2	ERBB3	ERBB4	ERCC4	ERG	ERRF1	ESR1	EZH2	FAM46C	FANCA
FANCC	FANCG	FANCL	FAS	FBXW7	FGF10	FGF12	FGF14	FGF19	FGF23
FGF3	FGF4	FGF6	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4	FH	FLCN	FLT1
FLT3	FOXL2	FUBP1	GABRA6	GATA3	GATA4	GATA6	GID4 (C17ORF39)	GNA11	GNA13
GNAQ	GNAS	GRM3	GSK3B	H3F3A	HDAC1	HGF	HNF1A	HRAS	HSD3B1
ID3	IDH1	IDH2	IGF1R	IKBKE	IKZF1	INPP4B	IRF2	IRF4	IRS2
JAK1	JAK2	JAK3	JUN	KDM5A	KDM5C	KDM6A	KDR	KEAP1	KEL
KIT	KLHL6	KMT2A (MLL)	KMT2D (MLL2)	KRAS	LTK	LYN	MAF	MAP2K1 (MEK1)	MAP2K2 (MEK2)
MAP2K4	MAP3K1	MAP3K13	MAPK1	MCL1	MDM2	MDM4	MED12	MEF2B	MEN1
MERTK	MET	MITF	MKKN1	MLH1	MPL	MRE11A	MSH2	MSH3	MSH6
MST1R	MTAP	MTOR	MUTYH	MYC	MYCL (MYCL1)	MYCN	MYD88	NBN	NF1
NF2	NFE2L2	NFKBIA	NKX2-1	NOTCH1	NOTCH2	NOTCH3	NPM1	NRAS	NT5C2
NTRK1	NTRK2	NTRK3	P2RY8	PALB2	PARK2	PARP1	PARP2	PARP3	PAX5
PBRM1	PDCD1 (PD- 1)	PDCD1LG2 (PD-L2)	PDGFRA	PDGFRB	PDK1	PIK3C2B	PIK3C2G	PIK3CA	PIK3CB
PIK3R1	PIM1	PMS2	POLD1	POLE	PPARG	PPP2R1A	PPP2R2A	PRDM1	PRKAR1A
PRKCI	PTCH1	PTEN	PTPN11	PTPRO	QKI	RAC1	RAD21	RAD51	RAD51B
RAD51C	RAD51D	RAD52	RAD54L	RAF1	RARA	RB1	RBM10	REL	RET
RICTOR	RNF43	ROS1	RPTOR	SDHA	SDHB	SDHC	SDHD	SETD2	SF3B1
SGK1	SMAD2	SMAD4	SMARCA4	SMARCB1	SMO	SNCAIP	SOC3	SOX2	SOX9
SPEN	SPOP	SRC	STAG2	STAT3	STK11	SUFU	SYK	TBX3	TEK
TET2	TGFB2	TIPARP	TNFAIP3	TNFRSF14	TP53	TSC1	TSC2	TYRO3	U2AF1
VEGFA	VHL	WHSC1 (MMSET)	WHSC1L1	WT1	XPO1	XRCC2	ZNF217	ZNF703	

Las alteraciones encontradas fueron clasificadas según la escala *ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets* (ESCAT, Tabla 8).⁶⁵ Esta escala es una herramienta práctica que nos ayuda a categorizar cada alteración según la evidencia de tratamiento dirigido para un tumor en concreto. Para esto se basa en la evidencia disponible en forma de ensayos clínicos o series retrospectiva, los objetivos de los estudios en particular y la robustez de los mismos. Esta escala, se complementa con

la escala *ESMO Magnitude of Clinical Benefit Scale v1.1* (MCBS V1.1), que evalúa la importancia de los objetivos analizados en los estudios, y los resultados conseguidos en los mismos.

La utilidad de dicha escala se ha hecho patente, por ejemplo, para el estudio de tumores heterogéneos y poco frecuentes como es el caso de los CVB, donde algunos estudios han usado esta escala para demostrar el beneficio de la búsqueda de tratamientos dirigidos para los pacientes con alteraciones ESCAT significativas ⁶⁶. Esto hace que sea una herramienta usada en la práctica clínica diaria en muchos centros donde existen comités para la evaluación de las alteraciones moleculares en pacientes que se les ha realizado un panel tipo NGS.⁶⁷

Tabla 8. Alteraciones de la escala ESCAT y el tipo de evidencia requerido para

Nivel de evidencia ESCAT	Tipo de evidencia requerida
I: El tratamiento para esta diana ha demostrado mejoría en ensayos clínicos Preparado para la práctica clínica	I-A: EC aleatorizado demuestra en SG.
	I-B: EC no aleatorizado demuestra beneficio clínico significativo según la ESMO MCBS 1.1 ⁶⁸
	I-C: EC en diferentes histologías o EC <i>basket</i> demuestran beneficio clínico similar en diferentes tumores
II: El tratamiento para esta diana tiene actividad antitumoral, pero la magnitud del beneficio es indefinida Datos clínicos prometedores	II-A: Estudios retrospectivos demuestran beneficio clínico significativo en comparación con pacientes sin la alteración.
	II-B: EC demuestran beneficio clínico significativo en respuestas, pero no hay datos concluyentes de supervivencia (EC de 1 brazo)
III: Se sospecha un beneficio de este tratamiento para esta diana, por datos basados en otros tipos tumorales o en dianas similares Diana hipotética para este tipo tumoral	III-A: Beneficio clínico demostrado para esa alteración pero en otros tumores, con evidencia limitada para ese tipo tumoral.
	III-B: Alteraciones que puedan ocasionar alteraciones funcionales similares estudiadas en el grupo I, pero sin datos clínicos concluyentes para esta alteración en concreto.
IV: Evidencia pre clínica de accionabilidad	IV-A: evidencia de accionabilidad en modelos preclínicos.
	IV-B: accionabilidad predicha in silico
V: El tratamiento diana se asocia con respuesta, pero sin beneficio clínico	Estudios prospectivos demuestran que el tratamiento dirigido se asocia con respuesta, pero no mejora objetivos de supervivencia
X: No hay evidencia de accionabilidad	No hay evidencia de que esta alteración genómica sea terapéuticamente accionable

Abreviaturas: ESCAT, ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets; EC, ensayo clínico; SG, supervivencia global; MCBS, magnitude of clinical Benefit Scale.

Dentro de esta escala, las categorías I-IIIa son consideradas las clínicamente relevantes por ser las listas para uso en la práctica clínica diaria o incluyen una diana hipotética para ese tipo tumoral que ha demostrado evidencia clínica en otros tumores. Por esta razón, son las alteraciones en qué más pacientes han podido recibir tratamiento dirigido de forma razonable, y por esa razón las analizamos de forma concreta en la cohorte.

En aquellos casos en los que se identificaron alteraciones tratables, se recogió si los pacientes habían recibido terapia dirigida, el tipo de fármaco, la línea de tratamiento en que se indicó, la respuesta clínica, el tiempo de duración de la respuesta, y el subtipo histológico al que pertenecía.

5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis descriptivos y correlativos se llevaron a cabo utilizando el software R, versión 4.0.2.

Para los fines descriptivos, las variables continuas se resumieron mediante medianas y rangos, mientras que las variables categóricas se expresaron como valores absolutos y porcentajes. Las diferencias en las características clínicas y moleculares entre los subtipos histológicos INT, PB y MIX se analizaron utilizando la prueba de chi-cuadrado.

El tiempo de supervivencia se estimó desde la fecha de diagnóstico histológico en la cohorte general, y desde la fecha de diagnóstico de metástasis radiológica o anatómo-patológica en la cohorte de pacientes metastásicos.

La mediana de seguimiento se estimó aplicando el método de Kaplan-Meier. Las curvas de supervivencia, tanto SG como SLE, se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier, y se compararon utilizando el test de log-rank.

En la cohorte de pacientes resecados, se comparó la SLE entre los distintos subgrupos definidos por IHQ, así como entre los pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante y aquellos que no.

En la cohorte metastásica, se comparó la SG entre los subtipos histológicos y entre los pacientes que recibieron tratamiento dirigido según alteraciones clasificadas como ESCAT I-IIIa, frente a los que no recibieron tratamiento dirigido.

La SLP a los tratamientos dirigidos fue calculada desde la fecha de inicio del tratamiento específico, a la fecha de progresión o muerte.

Los valores de p se reportaron con fines descriptivos y no se ajustaron por pruebas múltiples, dado el carácter exploratorio del estudio. No se realizó un cálculo formal del tamaño muestral debido al diseño retrospectivo del estudio.

5.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitari Vall d'Hebron, que eximió el requisito de consentimiento informado por escrito debido al carácter retrospectivo, observacional y no intervencionista del trabajo. La investigación se llevó a cabo sobre una base de datos clínica preexistente, anonimizada y gestionada por el Grupo de Tumores Gastrointestinales Superiores y Endocrinos del centro, garantizando en todo momento la confidencialidad de los datos personales de los pacientes y el respeto de su intimidad.

El estudio se realizó conforme a los principios éticos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

Desde un punto de vista normativo, se cumplió con la legislación española vigente en materia de protección de datos y ensayos clínicos, incluyendo la Ley Orgánica 3/2018, de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales, y el Reglamento General de Protección de Datos (RGPD) de la Unión Europea. Todos los datos utilizados en el análisis fueron previamente codificados y anonimizados, de modo que no fue posible identificar directamente a los pacientes incluidos.

Para la cohorte de validación externa, se utilizó el conjunto de datos públicos correspondiente al Baylor College of Medicine (BCM), descargado desde la plataforma cBioPortal for Cancer Genomics, un repositorio internacional de libre acceso que proporciona datos genómicos anonimizados de tumores humanos. Su uso está autorizado con fines académicos y no requiere aprobación ética adicional.

En conjunto, este trabajo ha respetado los principios fundamentales de la bioética —autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia—, cumpliendo con los requisitos éticos exigibles para su inclusión en una tesis doctoral en ciencias de la salud.



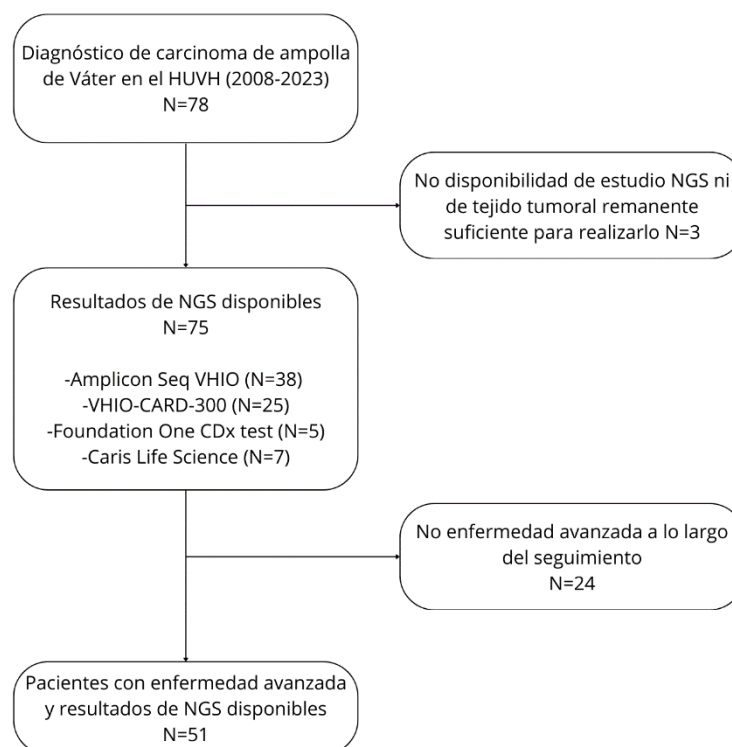
6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA COHORTE

Para este estudio identificamos una cohorte de 78 pacientes elegibles a partir del registro interno de nuestro grupo dedicado a tumores digestivos altos. Todos eran pacientes diagnosticados de CAV entre 2008 y 2023 en el HUVH. De estos, 75 disponían de información genómica. Además, para estudiar en profundidad la enfermedad avanzada, estudiamos las características clínico-genómicas específicas de los pacientes que desarrollaron metástasis a lo largo del curso clínico de la enfermedad y que disponían de información genómica, siendo un total de 51 pacientes. La Figura 11 presenta un diagrama de flujo de inclusión de pacientes, especificando la disponibilidad de muestras para estudio molecular y el tipo de panel de NGS utilizado.

Figura 11. Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio. Incluye la disponibilidad de panel de secuenciación molecular y el panel utilizado.



Abreviaturas: HUVH, Hospital Universitari Vall d'Hebrón; NGS, Next Generation Sequencing.



Las características clínicas basales de los pacientes se muestran en la Tabla 9. La mediana de edad al diagnóstico fue de 68.0 años (rango 43.1-83.4 años), con una proporción equilibrada de género, 1.05:1 mujer/hombre. En cuanto a la clasificación TNM, el 9.0%, 11.5%, 37.2% y 28.2% de los pacientes fueron diagnosticados en estadios I, II, III y IV, respectivamente, utilizando la octava edición del sistema AJCC.

Un total de 58 pacientes fueron sometidos a cirugía (74.4%), y de estos, un 62.2% recibieron algún tipo de tratamiento adyuvante, aunque no se observó una predominancia clara de un esquema específico. La tasa de recurrencia postoperatoria fue elevada (60.3%).

Si tenemos en cuenta toda la cohorte, un total de 54 pacientes (69.2%) conforman la cohorte de pacientes con enfermedad metastásica en algún momento del curso de la enfermedad. De estos, el 70.4% presentaron metástasis hepáticas. En este contexto, el esquema de quimioterapia de primera línea más utilizado fue basado en Gemcitabina con o sin cisplatino, utilizado en más de un 60% de los casos.

También revisamos la clasificación del subtipo histológico en 63 pacientes según el Dataset del Royal College of Pathologists (2019)¹⁸. Encontramos un predominio del subtipo PB (48.7%), seguido del INT (24.3%) y del MIX (5.1%), siendo el resto no caracterizables por falta de muestra, en línea con la literatura existente^{9,69}.

Tabla 9: Características clínicas y patológicas basales de los pacientes con CAV.

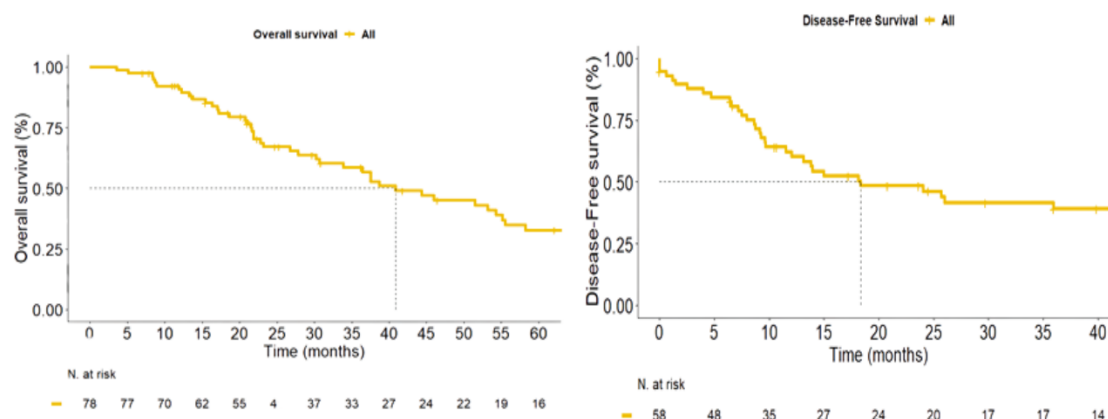
		Total (N=78)
Edad al diagnóstico (mediana, rango)		68.0 (43.1-84.3)
Género (N, %)	Mujer	40 (51.3)
	Hombre	38 (48.7)
Subtipo histológico (N, %)	Pancreatobiliar	38 (48.7)
	Intestinal	19 (24.3)
	Mixto	4 (5.1)
	Desconocido	17 (21.8)
Estadío clínico al diagnóstico (N, %)	I	18 (23.1)
	II	9 (11.5)
	III	29 (37.2)
	IV	22 (28.2)
ECOG-PS al diagnóstico (N, %)	0	34 (43.6)
	1	37 (47.4)
	2	3 (3.9)
	3	4 (5.1)
Cirugía (N, %)		58 (74.4)
→ Tratamiento adyuvante (N=36) (N, %)		36 (62.1)
Gemcitabina		14 (38.9)
Capecitabina		8 (22.2)
QTRT		5 (13.9)
Gemcitabina + QTRT		3 (8.3)
Gemcitabina-capecitabina		3 (8.3)
FOLFIRINOX		1 (2.8)
5-FU		1 (2.8)
Desconocido		1 (2.8)
Metástasis en algún momento (N=54) (N, %)		54 (69.2)
→ Metástasis hepáticas (N, %)		38 (70.4)
1L de tratamiento metastásico (N=54) (N, %)		
→ Cisplatino-Gemcitabina		23 (42.6)
→ Otro basado en gemcitabina		10 (18.5)
→ FOLFOX		8 (14.8)
→ FOLFIRINOX		7 (13.0)
→ Otro		5 (9.2)
→ MTS		3 (1.9)

Abreviaturas: ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status scale; MTS, Mejor Tratamiento de Soporte. QTRT, QuimioRadioterapia.

6.2. RESULTADOS DE SUPERVIVENCIA

A continuación, revisamos las curvas de SG en la cohorte global, y SLR en los pacientes operados. Encontramos que la mediana de SG en este estudio fue de 40.8 meses (IC 95% 30.7-58.2), y la mediana de SLR en los pacientes operados fue de 18.3 meses (IC 95% 12.0-NA) (Figura 12). Estos datos son valiosos, pues pocas series han aportado datos de supervivencia incluyendo pacientes con enfermedad avanzada.

Figura 12. Resultados de supervivencia de la cohorte CAV del HUVH. (A) Curva de SG de Kaplan-Meier en la población general. (B) Curvas de supervivencia SLE de Kaplan-Meier en los pacientes sometidos a cirugía.



Abreviaturas: CAV, carcinoma de ampolla de Vater; HUVH, Hospital Universitari Vall d'Hebrón; SG, supervivencia global; SLE, supervivencia libre de enfermedad.

Analizamos también la SG según estadio clínico (Figura 13A), donde se evidencian diferencias estadísticamente significativas y clínicamente lógicas ($p < 0.001$), confirmando la validez de la estadificación en estos tumores.

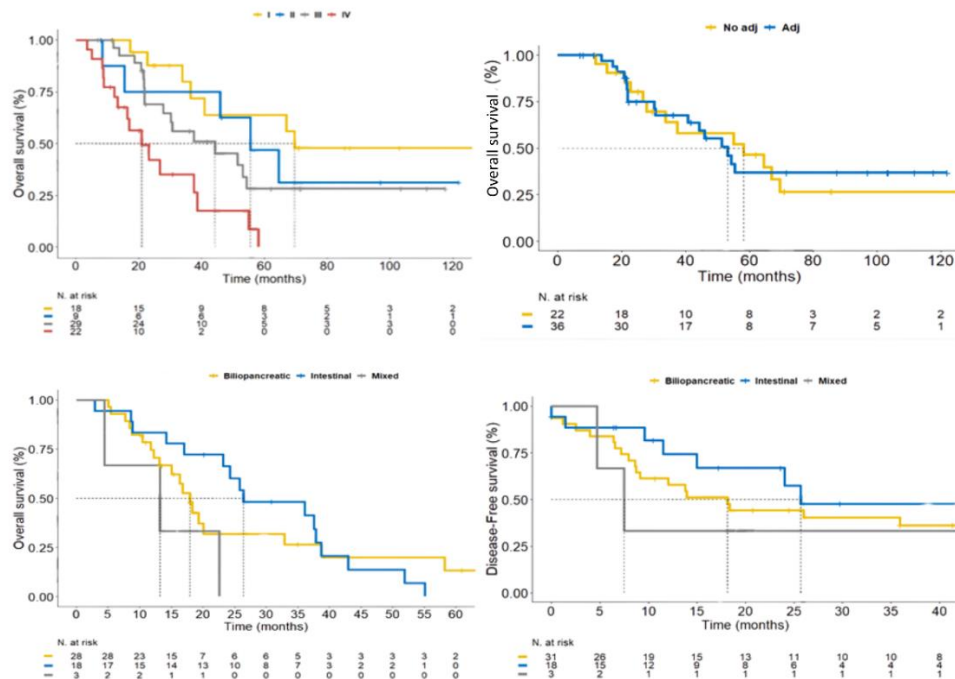
Respecto al subtipo histológico (Figura 13B, 13D), no se observaron diferencias en SG ni SLE entre los subtipos PB, INT y MIX ($p = 0.53$ y $p = 0.21$, respectivamente). Sin embargo, cabe tener en cuenta la dificultad para hallar diferencias significativas dada la limitación del tamaño muestral en nuestra cohorte. Por otro lado, si observamos las curvas estimadas con el método de Kaplan-Meier, sí observamos una tendencia a una peor supervivencia en los pacientes con subtipo PB o MIX, que iría en línea a lo publicado por un meta-análisis de estudios retrospectivos⁷⁰.

Entre los 58 pacientes que se sometieron a resección quirúrgica, la mediana de SLE fue de 18.3 meses (IC 95% 12.0-no alcanzado (NA)). De estos, el 62.1% recibieron algún esquema quimioterapia adyuvante, detallados en la tabla 9. Para analizar el potencial beneficio de tratamiento con quimioterapia adyuvante, se comparó el grupo que recibió tratamiento contra el que no recibió ningún tratamiento adyuvante en términos de SG. En la Figura 13C podemos apreciar cómo no observamos un beneficio clínicamente relevante, ni estadísticamente significativo ($p=0.85$) en nuestra cohorte.

Si analizamos más en profundidad las características de estos pacientes, encontramos que entre los pacientes que no recibieron adyuvancia hay un 54.5% de pacientes con un estadio I, mientras que en el grupo que sí recibieron adyuvancia solo hay un 13.9% de estos pacientes. Además, del 66.7% de los pacientes con estadio II o superior que no recibieron adyuvancia fue por recidiva precoz en TC post-quirúrgico, por lo que los grupos tampoco serían comparables.

Por lo tanto, no podemos extraer una conclusión sólida, al no poder hacer específicos por estadios o análisis emparejados con fórmulas de *propensity score* dada la limitación de la muestra y la disparidad de los grupos.

Figura 13: Resultados de supervivencia de la cohorte CAV deL HUVH. (A) Curvas de SG de Kaplan-Meier en la población general comparando las etapas I, II, III y IV. (B) Curvas de SG de Kaplan-Meier comparando pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante con aquellos que no. (C) Curvas de SG de Kaplan-Meier y (D) curvas de SLE en la población general comparando los subtipos PB, INT y MIX.



Abreviaturas: CAV, carcinoma de ampolla de Vater; HUVH, Hospital Universitari Vall d'Hebrón; SG, supervivencia global; SLE, supervivencia libre de enfermedad; PB, pancreatobiliar; INT, intestinal; MIX, mixto

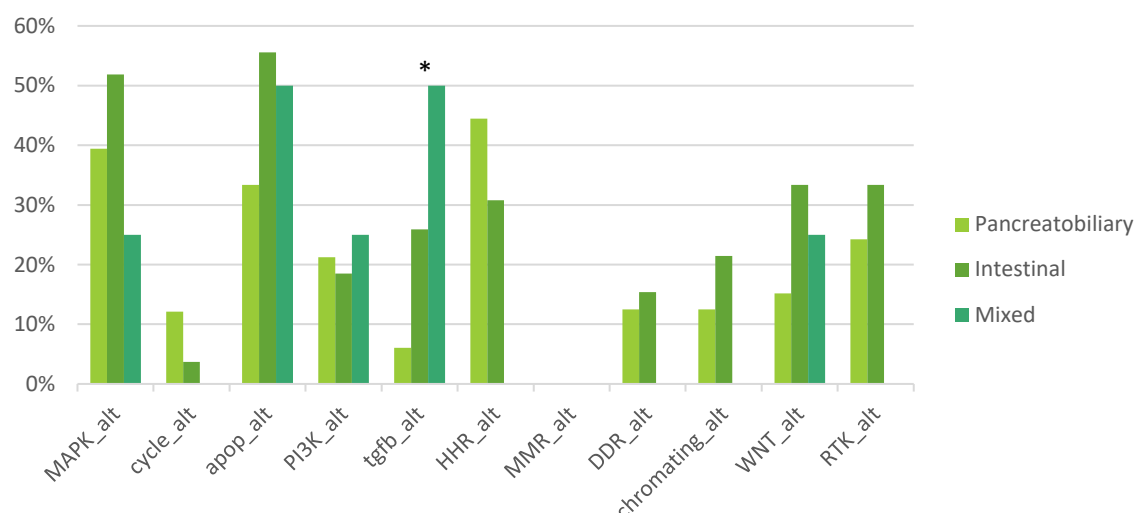
6.3. CARACTERIZACIÓN GENÓMICA Y ALTERACIONES DIANA

Para el estudio de caracterización genómica, analizamos los estudios de secuenciación de nueva generación en 75 de los 78 casos de la cohorte (96.2%) (Figura 11). Es importante remarcar que en 38 casos se utilizó el panel Amplicon Seq VHIO v1, mientras que en los 37 restantes se utilizaron paneles más recientes y amplios capaces de analizar más de 300 genes.

Los resultados clave se validaron en una cohorte externa del BMC, que incluye un total de 160 pacientes con CAV³³.

Al examinar las vías de señalización oncogénicas alteradas, observamos algunas diferencias según el subtipo histológico. En la Figura 14 se representa la frecuencia de alteración de cada vía de señalización molecular según el subtipo PB, INT o MIX. Se evidencia una mayor frecuencia de alteración en la vía de TGF- β en el subtipo INT (25.9% vs 6.1%, $p=0.032$). Asimismo, se observó una tendencia a mayor alteración en la vía de Wnt en este mismo subtipo, aunque sin alcanzar significación estadística (33.3% vs 15.2%, $p=0.09$).

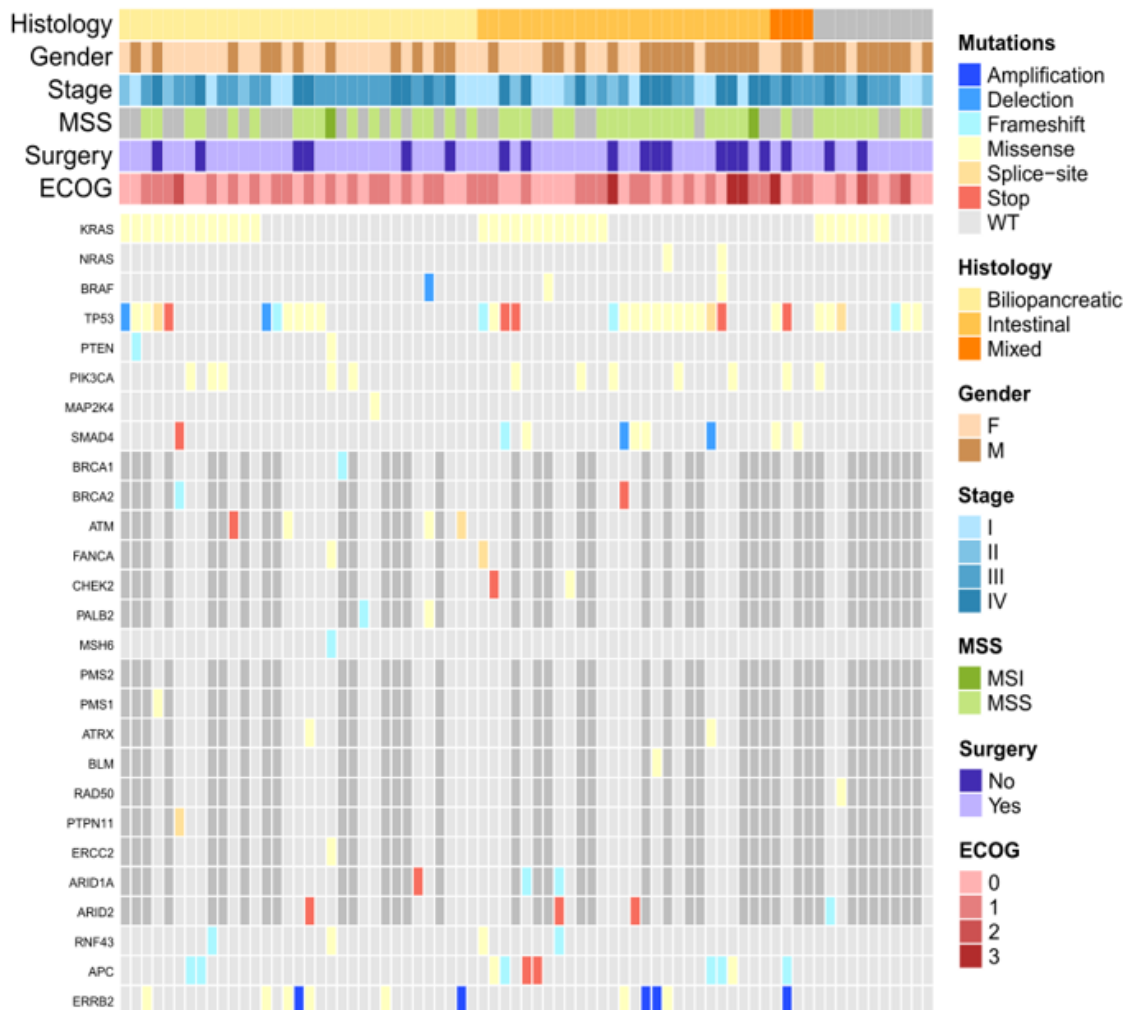
Figure 14: Vía de señalización oncogénica detectada en los paneles de secuenciación, y comparación entre los grupos PB, INT y MIX.



Abreviaturas: *estadísticamente significativo. PB, pancreatobiliar; INT, intestinal; MIX, mixto.

En el estudio detallado de los genes conductores, descubrimos que en nuestra cohorte predominaban las alteraciones genómicas en los siguientes genes: *TP53* (45.3%), *KRAS* (42.7%), *ERBB2* (16%), *PIK3CA* (16%) y *SMAD4* (12%). En la Figura 15 podemos ver la distribución de las alteraciones genómicas según el subtipo histológico, género, estadio y ECOG-PS.

Figura 15: Panorama genómico del CAV y alteraciones tratables. Oncoplot que representa la frecuencia las alteraciones genéticas más prevalentes, subtipo histológico, género, estadiaje y ECOG-PS.



Abreviaturas: CAV, carcinoma de ámpula de Vater. MSS, MicroSatelit stability. MSI, microSatelit Instability. ECOG-PS, ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status scale

Dentro de las mutaciones más frecuentes, nos hemos centrado en las presentes en el gen *KRAS* por su importancia en tumores relaciones como el CP. La prevalencia de *KRAS*^{MUT} fue del 42.7% en la nuestra cohorte y del 53.8% en la cohorte BMC. La variante *KRAS* más común fue *KRAS* G12D en ambas cohortes (Figura 17).

Las alteraciones en genes conductores se clasificaron según la escala ESCAT (ver Métodos, Tabla 8). En nuestra cohorte, encontramos alteraciones genómicas con evidencia suficiente como para clasificarlas como ESCAT I a ESCAT III-B en un 52% de los pacientes. Dado que los grupos I-IIIa son los más cercanos a la práctica clínica habitual, analizamos estos concretamente, observando hasta un 25.3% de pacientes que encajarían en esta clasificación. Resumimos estos hallazgos de las alteraciones ESCAT I –IIIa en la Tabla 10.

Tabla 10. Clasificación según la escala ESCAT de las alteraciones genómicas clasificadas en los grupos I-IIIa en pacientes con CAV.

Alteración genómica	Tratamiento dirigido	Clasificación ESCAT	Referencia
<i>ERBB2</i> amplificado	Trastuzumab-Deruxtecan, Zanidatamab.	IC	58,71
<i>ERBB2</i> mutado	Trastuzumab-Deruxtecan.	IIIa	72,73
MSI – H	Pembrolizumab	IC	59
<i>KRAS</i> ^{G12C}	Sotorasib, Adagrasib	IIIa	40,43,74,75
Alteraciones somáticas o germinales en <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>PALB2</i> , <i>ATM</i>	Olaparib, Talazoparib	IIIa	76,77

Abreviaturas: ESCAT, ESMO scale for Clinical Actionability. MSI-H, Alta inestabilidad de microsatélites.

Para determinar si los tumores sin alteraciones en *KRAS* estaban enriquecidos con alteraciones potencialmente tratables, comparamos la frecuencia de estas alteraciones comparando el grupo *KRAS*^{MUT} y el grupo *KRAS*^{WT}. En nuestra cohorte y en la cohorte del BMC, hubo una mayor prevalencia de alteraciones ESCAT I-IIIa en *KRAS*^{WT} (37.2% y 23.0%) en comparación con *KRAS*^{MUT} (9.4% y 9.3%), mostrando diferencias estadísticamente significativas en ambas ($p=0.018$ y $p=0.013$, respectivamente) (Figura 16A-D).

Para profundizar más, analizamos cuales eran estas mutaciones y en qué grado eran accionables a día de hoy. Encontramos que la subpoblación *KRAS*^{WT} alberga un 18.6% de alteraciones ESCAT IC y un 18.6% de ESCAT IIIa, siendo las alteraciones accionables más frecuentes las amplificaciones y mutaciones en *ERBB2*, mutaciones en genes DDR (*PALB2*, *BRCA2*, *ATM* y *BRCA1*) y el estado MSI-alto (inestabilidad de microsatélites) (Figura 16D). En la Tabla 11 hemos representado las alteraciones potencialmente accionables, la clasificación ESCAT a día de hoy, comparando el subgrupo de *KRAS*.

Figura 16. Estudio genómico y clasificación de las alteraciones tratables de forma dirigida en el CAV según el estado del gen *KRAS*. (A, B) Prevalencia de alteraciones tratables dependiendo del estado de *KRAS* en las cohortes de HUVH y BMC. (C) Prevalencia de alteraciones potencialmente tratables según los criterios ESCAT, en *KRAS^{MUT}* y *KRAS^{WT}* en la cohorte del HUVH. (D) Distribución de los casos clasificados de acuerdo con el mayor rango de ESCAT en la cohorte del HUVH.



Abreviaturas: CAV, carcinoma de ampolla de Vater; VHIO, Vall d'Hebron Instituto de Oncología; BCM, Baylor College of Medicine; ESCAT, ESMO scale for clinical actionability of molecular targets.

Tabla 11. Alteraciones genómicas tratables con tratamiento dirigido en función del estado de KRAS, clasificadas según la escala ESCAT.

<i>KRAS^{MUT}</i>			<i>KRAS^{WT}</i>		
Alteración genómica	Clasificación ESCAT	Pacientes	Alteración genómica	Clasificación ESCAT	Pacientes
<i>KRAS</i> G12C	IIIA	1	<i>ERBB2^{AMP}</i>	IC	6
<i>BRCA2</i>	IIIA	1	MSI	IC	2
<i>ERBB2^{MUT}</i>	IIIA	1	<i>ERBB2^{MUT}</i>	IIIA	5
<i>PIK3CA</i>	IIIB	6	<i>BRCA1</i>	IIIA	1
<i>CHEK2</i>	IIIB	2	<i>BRCA2</i>	IIIA	1*
<i>ARID1A</i>	IIIB	2	<i>PALB2</i>	IIIA	2
<i>FANCA</i>	IIIB	1	<i>PIK3CA</i>	IIIB	4
<i>ATM</i>	IIIB	1	<i>ARID1A</i>	IIIB	1
<i>TP53</i> Y220	IIIB	1	<i>BRAF</i> G469R (class 2)	IIIB	1
<i>BRAF</i> G596R (class 3)	IIIB	1			
<i>PTEN</i>	IIIB	1			

*Había un paciente con *ERBB2^{MUT}* y *BRCA2*. ESCAT, ESMO scale for clinical actionability of molecular targets

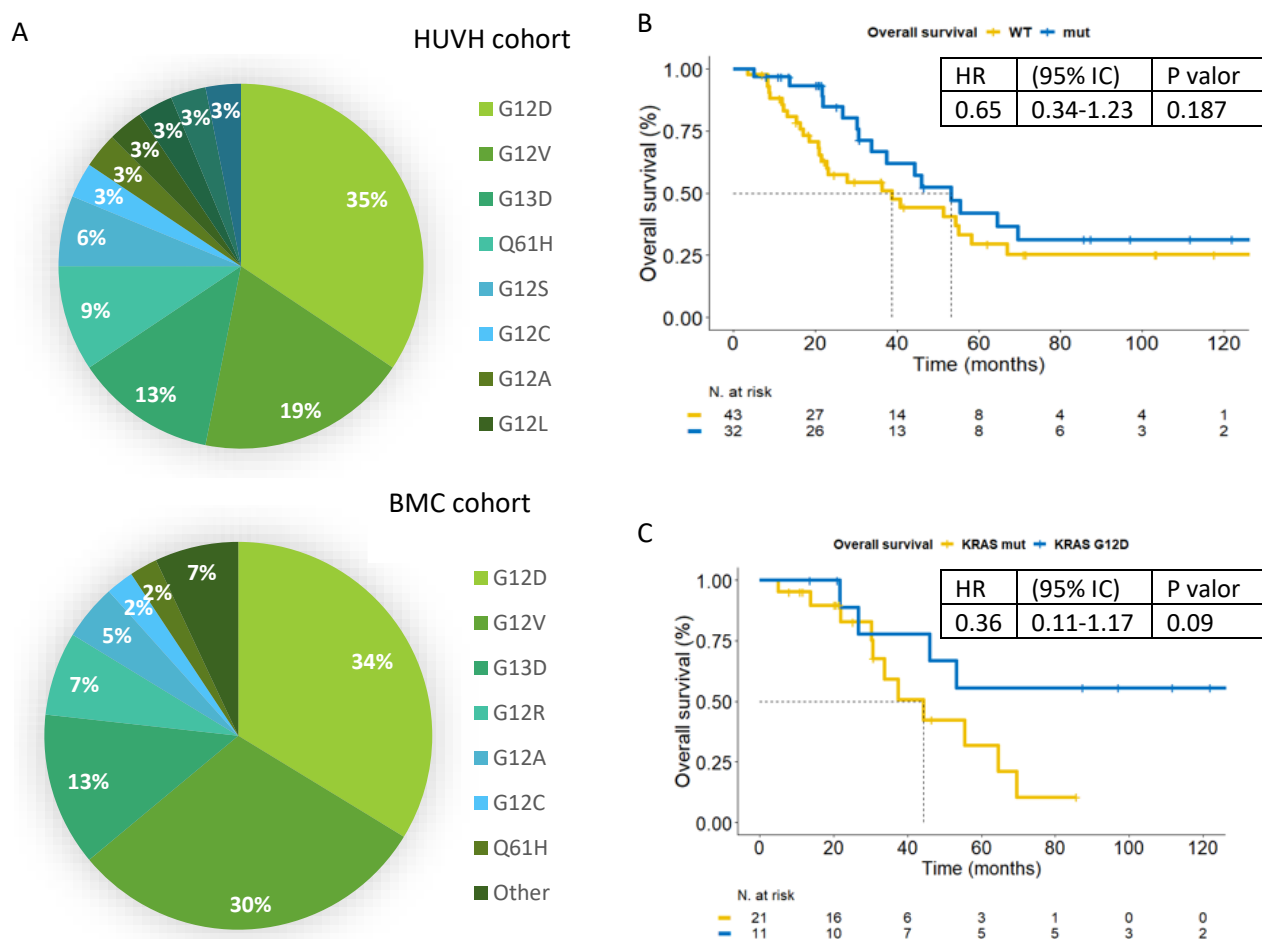
Abreviaturas: ESCAT, ESMO scale for clinical actionability of molecular targets; MSI, Inestabilidad de microsatélites.

6.4. CORRELACIÓN ENTRE RESULTADOS CLÍNICOS Y ALTERACIONES GENÓMICAS

Los genes conductores alterados con mayor frecuencia fueron *KRAS* y *TP53* (Figura 15), por lo que evaluamos los resultados de SG según la presencia de alteraciones en estas.

Los pacientes con tumores con *KRAS^{MUT}* tuvieron una SG similar a *KRAS^{WT}*. Revisamos la implicación de la mutación *KRAS* G12D al ser la más frecuente, sin encontrar una asociación a peor supervivencia al comparar estos pacientes con los que albergaban otras mutaciones *KRAS* (Figura 17).

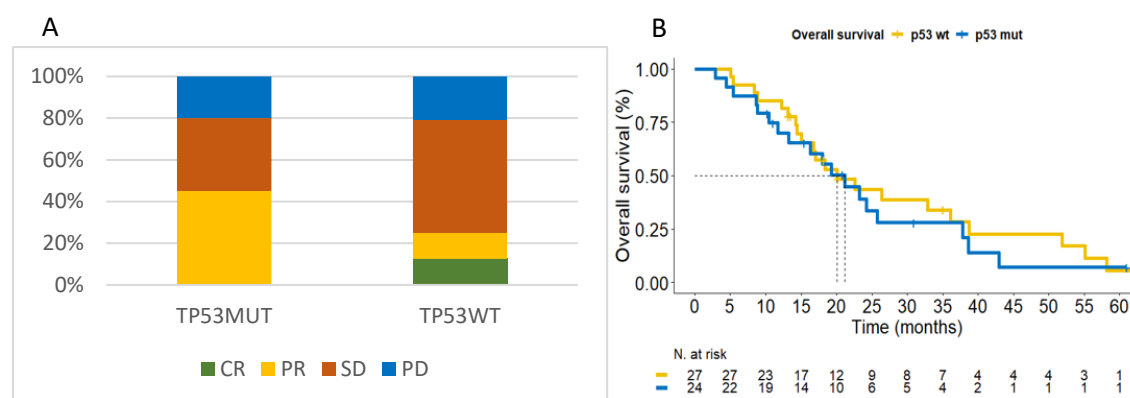
Figura 17. Caracterización de los pacientes con mutaciones *KRAS*. (A) Comparación de las mutaciones más prevalentes en la cohorte de HUVH y la cohorte de BMC. (B) Curvas de SG Kaplan-Meier según estatus de *KRAS*, y (C) comparando la mutación *KRAS* G12D vs otras mutaciones.



Abreviaturas: HUVH, Hospital Universitari Vall d'Hebrón; BMC, Baylor College of Medicine; SG, supervivencia global; HR, Hazard Ratio.

En cuanto a *TP53*, tampoco observamos diferencias significativas en SG entre los pacientes que tienen o no mutación (Figura 18). No obstante, en la cohorte metastásica, observamos una tasa de respuestas objetiva (TRO) del 45% en tumores con *TP53*^{MUT} y del 25% en pacientes *TP53*^{WT} (p=0.16). Estos datos no son estadísticamente significativos.

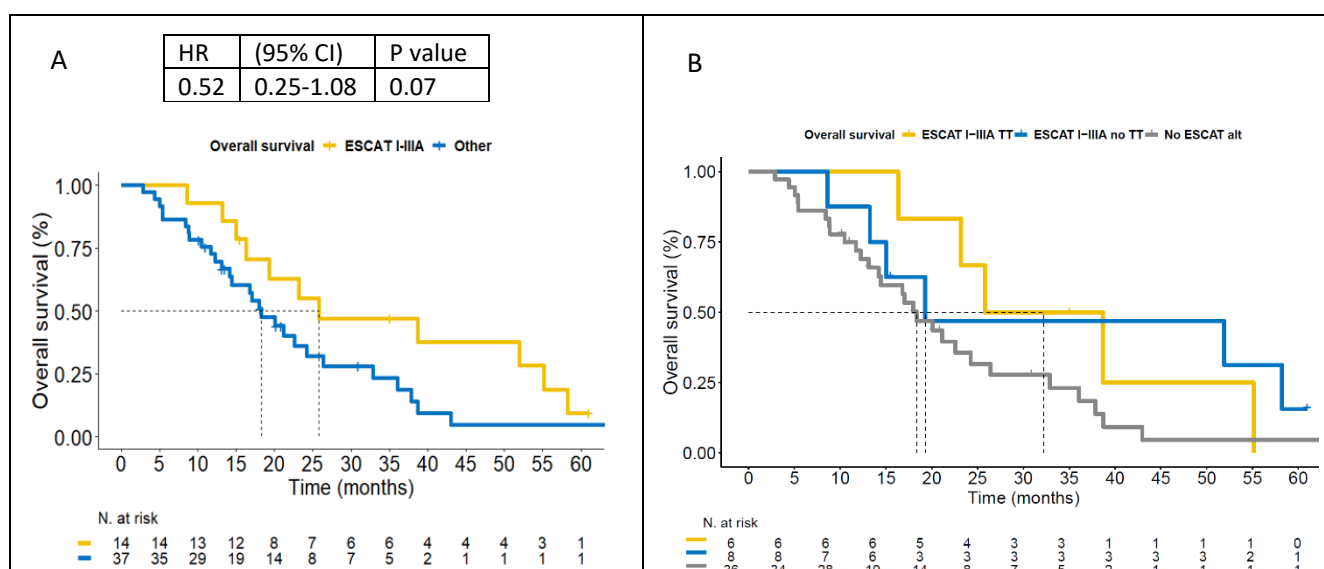
Figura 18. Resultados de eficacia segun el estado de mutación en *TP53*. (A) TRO utilizando los critetrios RECIST 1.1 en pacientes con CAV con *TP53*^{MUT} vs *TP53*^{WT}. (B) Curvas Kaplan-Meier de SG en población metastásica, comparando *TP53*^{MUT} vs *TP53*^{WT}.



Abreviaturas: CR, Complete Response; PR, Partial Ressonse; SD, Stale Disease; PD, Progresion Disease.

También evaluamos la influencia de las alteraciones en la escala ESCAT en la SG de los pacientes. Entre 51 pacientes con enfermedad metastásica que se sometieron a análisis NGS, aquellos con tumores portadores de alteraciones genómicas clasificadas como ESCAT I a IIIA lograron una mediana de SG de 25.8 meses, en comparación con 18.3 meses en pacientes con otras alteraciones (HR 0.52, IC 95% 0.25-1.08, $p=0.07$) (Figura 19).

Figura 19. Curvas de SG Kaplan-Meier OS en población metastásica, comparando (A) pacientes con alteraciones moleculares ESCAT I-IIIa vs otras alteraciones, y (B) especificando qué pacientes tenían con alteraciones tratables han recibido tratamiento dirigido, y comparándolo con los que no lo recibieron o no tenían alteraciones tratables.



Abreviaturas: HR, Hazard Ratio; ESCAT, Esmo Scale for Clinical Actionability Treatment.

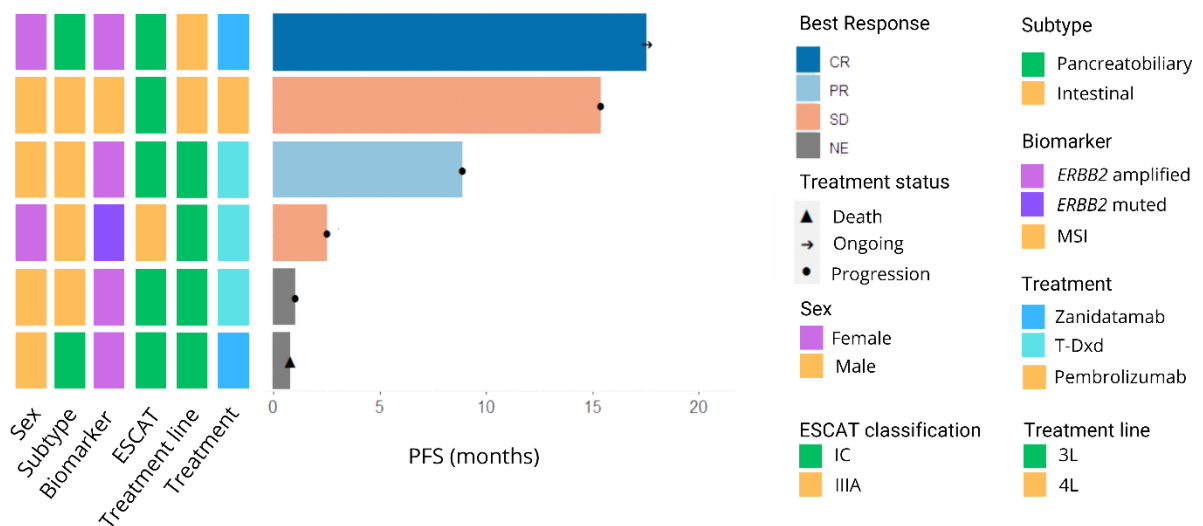
Identificamos 6 pacientes que recibieron terapias dirigidas a alteraciones durante el curso de su enfermedad, representados en la Figuar 20.

Cuatro pacientes tenían amplificación en *ERBB2*: dos fueron tratados con zanidatamab y dos con trastuzumab-deruxtecan (T-DXd). Un paciente con mutación *ERBB2* S310F recibió T-DXd, y otro con estado MSI fue tratado con pembrolizumab.

Tres pacientes recibieron terapia dirigida en tercera línea (3L) y tres en cuarta línea (4L).

Dos pacientes no fueron evaluables para TRO, ya que solo recibieron una dosis debido a sepsis concurrente y posterior deterioro clínico. Sin embargo, los pacientes restantes demostraron un beneficio clínico notable. En particular, un paciente con estado MSI-alto tratado con pembrolizumab en cuarta línea logró una SLP de más de 15 meses, mientras que otro con amplificación de *ERBB2* tratado con zanidatamab en 4L logró una respuesta completa sostenida de más de 16 meses, y continúa en tratamiento.

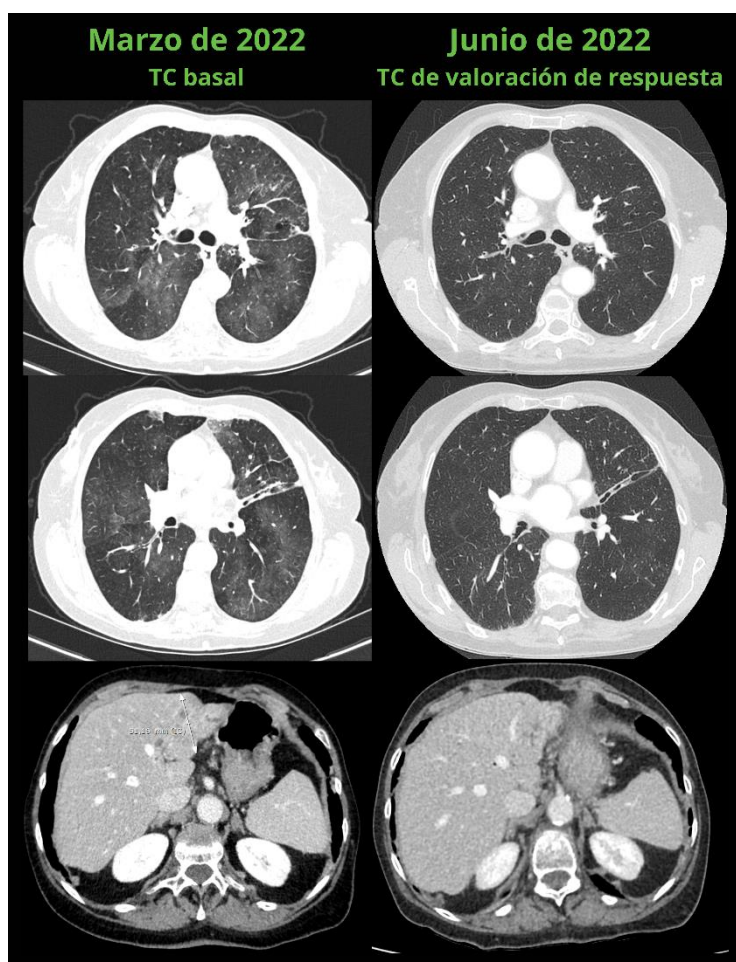
Figura 20. Swimmer's plot de los 6 pacientes tratados con tratamiento dirigido, especificando género, subtipo histológico, biomarcador para tratamiento dirigido, ESCAT, linia en qué recibe el tratamiento dirigido y fármaco utilizado.



Abreviaturas: ESCAT, Esmo Scale for Clinical Actionability Treatment; CR, Complete Response; PR, Partial Response; SD, Stable Disease; NE, no evaluable; 3L, tercera línea; 4L cuarta línea.

Destacamos el caso de una paciente diagnosticada de CAV, operada inicialmente, pero con recidiva en forma de linfangitis carcinomatosa y metástasis hepáticas, habiendo progresado a primera línea con Cisplatino-Gemcitabina, segunda línea con FOLFOX y tercera línea con FOLFIRI. Al detectarse amplificación en *ERBB2* se propuso tratar en cuarta línea con Zanidatamab como tratamiento dirigido. Se hizo la valoración basal, y se consideró paciente candidata para iniciar en abril de 2022. En la Figura 21 podemos comparar los resultados de la tomografía computarizada (TC) basal, y a las 10 semanas de tratamiento, presentando respuesta completa pulmonar y hepática que persiste a los 16 meses de tratamiento.

Figura 21. Valoración radiológica por TC de la paciente CAV-1, en las pruebas basales y a la primera valoración de respuesta a las 10 semanas.







7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

7.1. VISIÓN GENERAL DE LA COHORTE Y PERFIL CLÍNICO

El CAV representa una entidad oncológica poco frecuente, de pronóstico infausto, y caracterizada por una gran heterogeneidad clínica que dificulta aún más su estudio en profundidad^{1,4,10}. Su localización en la confluencia del conducto pancreático, la vía biliar y el duodeno favorece una presentación clínica precoz y un diagnóstico en estadios resecables en más de la mitad de los casos^{2,7,78}. A pesar de esto, continúa siendo un tumor con un pronóstico pobre, con tasas de supervivencia a los 5 años inferiores al 15%^{6,78}. La rareza del tumor, la heterogeneidad clínica, y la rápida evolución han limitado el estudio en profundidad de estos tumores, tratándose hoy en día con poca evidencia sobre la que sustentar las decisiones clínicas. En consecuencia, gran parte de las decisiones terapéuticas se han extrapolado del tratamiento de otros tumores del área periampular como el CP, CVB y CD¹⁰.

En este contexto, la caracterización molecular cobra una importancia creciente. La incorporación de tecnologías como la NGS ha permitido avanzar en la comprensión de los mecanismos oncogénicos que impulsan estos tumores, así como identificar biomarcadores potencialmente accionables^{52,53,79}. Sin embargo, la aplicación sistemática de estos enfoques moleculares sigue siendo limitada en la práctica clínica habitual, especialmente en tumores con escasa representación en estudios de gran escala. Así, resulta fundamental generar datos propios, contextualizados y validados, que permitan definir subgrupos moleculares con implicaciones pronósticas y terapéuticas.

Este estudio retrospectivo, realizado sobre una cohorte de pacientes diagnosticados y tratados en un centro de referencia durante un periodo de 15 años, se enmarca dentro de ese esfuerzo por contribuir al conocimiento del CAV desde una perspectiva clínica y genómica integrada. La inclusión de 78 pacientes con datos clínicos detallados y, en su mayoría, con análisis moleculares disponibles, constituye una de las series más amplias descritas hasta la fecha con estas características.

Desde el punto de vista clínico, los resultados observados reflejan patrones consistentes con lo descrito en la literatura, pero también ofrecen matices relevantes. La mediana de edad al diagnóstico fue de 68 años, y el 60% de los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente, lo cual es coherente con la alta proporción de estadios localizados en el momento del diagnóstico^{6,78}. A pesar de

ello, se observó una tasa de recurrencia del 60.3% tras la cirugía, lo que pone de manifiesto el carácter agresivo de esta neoplasia incluso en estadios tempranos.

La SG en la cohorte global fue de 40.8 meses, un dato que se sitúa en el rango superior de lo reportado en otras series contemporáneas, donde la SG suele oscilar entre los 19 y los 115 meses^{8,9,70}. Esta diferencia podría estar relacionada con el manejo multidisciplinar en un centro terciario, el acceso a terapias oncológicas avanzadas y la inclusión de pacientes en protocolos de tratamiento dirigidos o inmunoterapia. La SLE en pacientes resecados fue de 18.3 meses, lo cual es congruente con lo descrito previamente en estudios retrospectivos y pone en valor la necesidad de un estudio en profundidad sobre la eficacia del tratamiento adyuvante actual, así como el desarrollo de algoritmos de clasificación y tratamientos más eficaces^{5,6,80}.

En cuanto al tratamiento sistémico, se observó una considerable heterogeneidad tanto en los esquemas utilizados en primera línea en estadios avanzados. La combinación de cisplatino con gemcitabina sigue siendo el esquema más frecuente, derivado de los resultados de los dos únicos ensayos clínicos aleatorizados que incluyen este tipo de pacientes, y del que se hizo un meta-análisis conjunto de ambos estudios²⁷⁻²⁹. Sin embargo, hay dos factores que nos limitan a la hora de interpretar estos datos. Por un lado, la representatividad del CAV en ellos era de tan solo el 4.9% del global de pacientes, manteniendo el beneficio en SG con una HR de 0.71 en el análisis de subgrupos. Por otro lado, no se describe si se incluían los diferentes subtipos histológicos del CAV ni la proporción en ellos. En resumen, esta falta de evidencia específica repercute en la ausencia de guías clínicas específicas para el CAV, y subraya la necesidad de incorporar criterios biológicos en la toma de decisiones.

7.2. VALOR DEL SUBTIPO HISTOLÓGICO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

La clasificación histológica del CAV ha sido objeto de estudio y controversia en diferentes estudios. Esto es debido al carácter retrospectivo de la mayoría de series conocidas, que la mayoría solo incluyen pacientes en estadios precoces tratados con cirugía, y a la definición morfológica exclusiva de los subgrupos histológicos^{8,70,80,81}. Sin embargo, la mayor evidencia que se ha podido extraer depende de dos meta-análisis de estudios retrospectivos, donde se incluyen las series de casos con CAV sometidos a cirugía, concluyendo ambos que el subtipo PB está asociado a una evolución más agresiva, con menor SLP y menor SG en comparación con el subtipo INT. En nuestra serie, no se observaron diferencias estadísticamente significativas,

aunque sí una tendencia a corroborar estos datos tanto en SLE como en SG, definiendo los subgrupos PB, INT o MIX por una patóloga experta, siguiendo los criterios morfológicos e IHQ de la Royal College of Pathologists.

Desde el punto de vista molecular, sí se observaron diferencias en la activación de determinadas vías de señalización según el subtipo histológico. En particular, el subtipo INT mostró un enriquecimiento estadísticamente significativo de alteraciones en la vía TGF- β , y una tendencia no significativa en la vía Wnt. Estas diferencias podrían reflejar patrones de carcinogénesis divergentes entre ambos subtipos, derivados de su distinto origen celular.

Por el contrario, no se identificaron diferencias relevantes en la frecuencia de las principales mutaciones conductoras, como *KRAS* o *TP53*, ni en la carga de alteraciones genómicas clínicamente tratables según la escala ESCAT. Esto sugiere que existe un patrón en común en los mecanismos moleculares clave que impulsan la carcinogénesis en el CAV, y que la clave para la mejoría de los tratamientos podría tener un nicho compartido.

Estos hallazgos subrayan la necesidad de profundizar en la caracterización molecular del CAV, no solo en términos de paneles genómicos clínicos, sino también integrando niveles adicionales de análisis como secuenciación del exoma completo, secuenciación del ARN, estudio epigenético y estudios de expresión génica, epigenética. La complejidad biológica de esta neoplasia, junto con la dificultad de reclutar series clínicas debido a la baja frecuencia, justifica la exploración de modelos preclínicos, como los organoides derivados de pacientes, que permitirían estudiar la evolución clonal tumoral, las interacciones con el microambiente y las diferencias funcionales entre subtipos.

Este tipo de modelos experimentales sería de gran utilidad para determinar si realmente nos encontramos ante entidades biológicamente diferenciadas, o si la clasificación histológica actual capta solo una parte superficial de un espectro continuo de la enfermedad. La respuesta a esta incógnita podría tener implicaciones directas en la forma en que abordamos el tratamiento del CAV, y en el diseño de ensayos clínicos adaptados a la biología de cada subtipo.

7.3. CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DEL CAV. HALLAZGOS Y RELEVANCIA

La caracterización genómica de nuestra cohorte permitió identificar las alteraciones moleculares más frecuentes en el CAV, siendo *KRAS* y *TP53* los genes conductores mutados con mayor prevalencia. Estos resultados son coherentes con lo descrito en otras series que describen el panorama molecular en CAV^{33,34,82}, quienes analizaron un total de 270 casos de CAV, todos procedentes de muestras de pacientes en estadios precoces tratados con cirugía. La repetición de estos hallazgos en cohortes diferentes y en distintos contextos geográficos refuerza su consistencia y subraya el valor de estos genes como ejes clave en la carcinogénesis del CAV.

En nuestra cohorte, la mutación de *KRAS* se detectó en el 42.7% de los pacientes, siendo la variante G12D la más frecuente. La alteración en *TP53* estuvo presente en el 45.3% de los casos. Al evaluar el impacto clínico de estas mutaciones, se observó que los pacientes con tumores *KRAS*^{MUT} presentaron una SG similar a aquellos con *KRAS*^{WT}. Asimismo, al analizar específicamente la variante *KRAS* G12D por haber sido descrita como de mal pronóstica en una serie quirúrgica, sin evidenciar en nuestra serie peor SG en comparación con otras mutaciones en el mismo gen⁸³. Estos hallazgos son coherentes con los resultados de la cohorte BMC donde tampoco se hallaron discordancias de SG según el estado de *KRAS*³³. Esto nos hace pensar que, aunque la alteración del gen *KRAS* es conductora para la carcinogénesis, en este tipo de tumores no confiere un pronóstico diferente a los pacientes donde las alteraciones principales se encuentran en otros genes.

En relación con *TP53*, tampoco se observaron diferencias significativas en SG entre los pacientes con tumores mutados y no mutados. No obstante, en la cohorte de pacientes metastásicos, se identificó una TRO del 45% en tumores con *TP53*^{MUT}, frente al 25% en pacientes con *TP53*^{WT}, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística (p=0.16). Estos datos sugieren una posible tendencia hacia una mayor quimiosensibilidad en tumores *TP53* mutados, que merecería ser explorada en estudios más homogéneos y con mayor poder estadístico.

Aunque los resultados sugieren que *KRAS* no tiene valor pronóstico por sí mismo, su relevancia en el contexto terapéutico es incuestionable. La presencia de mutación en *KRAS*, podría usarse según las guías de práctica clínica como un biomarcador de exclusión para terapias dirigidas anti-EGFR, en especial en el subtipo INT por similitud al CCR¹⁰. También se han desarrollado ya fármacos que inhiben la función de *KRAS* cuando la mutación reside en el dominio G12C, con actividad demostrada en tumores de diferentes histologías como desarrollaremos en el siguiente punto de la discusión^{40,43,74,75}. Por otro lado, el actual desarrollo de fármacos que intentan actuar en la vía de MAPK, en especial contra mutaciones en *KRAS* es muy amplio y merece la pena tener en cuenta este tipo de tumores para su desarrollo (Tabla 12)⁸⁴.

Tabla 12. Fármacos en desarrollo con diana en la vía de RAS-MAPK.

FÁRMACO	COMPAÑÍA	DIANA	Fase
RMC-6236	Revolution Medicines	PanRAS	Fase III en CP
LUNA018	Chugai	PanRAS	Fase I
BI-3706674	Boehringer Ingelheim	PanKRAS	Fase I
QTX3034	Quanta	PanKRAS	Fase I
PF-07934040	Pfizer	PanKRAS	Fase I
BGB-53038	Beigene	PanKRAS	Preclínico
ALTA-3263	Alterome	PanKRAS	Preclínico
LY4066434	Eli Lilly	PanKRAS	Preclínico
JAB-23425	Jacobio	PanKRAS	Preclínico
ABREV001	Agastiya	PanKRAS	Preclínico
MRTX 1133	Mirati/BMS	G12D	Fase I
RMC-9805	Revolution Medicines	G12D	Fase I
LY3962673	Eli Lilly	G12D	Fase I
HRS-4642	Hengrui	G12D	Fase I
QTX3046	Quanta	G12D	Fase I
INCB161734	Incyte	G12D	Fase I
GO45416	Roche/Genentech	G12D	Fase I
ASP3082	Astellas	G12D (degrader)	Fase I

Abreviaturas: CP, Carcinoma de Páncreas

7.4. APLICACIÓN CLÍNICA DE LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR EN EL CAV. OPORTUNIDADES TERAPÉUTICAS REALES E INTEGRACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Uno de los aspectos más relevantes de este estudio es la identificación y caracterización de alteraciones moleculares potencialmente tratables en pacientes con CAV, siguiendo la clasificación propuesta por la ESMO con la herramienta ESCAT. Esta escala jerarquiza las alteraciones genómicas en función del nivel de evidencia clínica que respalda el uso de terapias dirigidas, siendo los niveles I a IIIA los considerados más sólidos desde un punto de vista de aplicabilidad clínica^{65,68}.

En nuestra cohorte, el análisis reveló una clara diferencia en la carga de alteraciones ESCAT I-IIIa entre los pacientes *KRAS*^{WT} y *KRAS*^{MUT}, siendo significativamente más alta en los primeros (37.2% vs. 9.4%, $p = 0.018$). Este hallazgo es consistente con lo observado en la cohorte de validación externa del Baylor College of Medicine, donde la proporción fue también significativamente mayor en los tumores *KRAS*^{WT} (23.0% vs. 9.3%, $p = 0.013$). Este patrón sugiere que los pacientes con tumores sin mutación en el gen *KRAS* tienen más probabilidad de tener alteraciones en genes conductores para los cuales ya existen tratamientos dirigidos, como el estado MSI, amplificaciones o mutaciones en *ERBB2*, o alteraciones en genes DDR como *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* o *ATM*.

A nivel clínico, este hallazgo tuvo traducción directa en un subgrupo de pacientes que recibieron tratamiento dirigido en función del perfil molecular identificado. Seis pacientes fueron tratados con terapias específicas dirigidas a alteraciones ESCAT I o IIIa: cuatro de ellos con amplificación en *ERBB2*, uno con mutación *ERBB2* S310F, y otro con estado MSI-H. Los agentes utilizados incluyeron zanidatamab en dos casos para *ERBB2* amplificado, T-DXd en dos casos para *ERBB2* amplificado y para el caso de *ERBB2* S310F, y pembrolizumab para el caso co MSI-H. Pese a haberse administrado todos ellos más allá de la tercera línea de tratamiento sistémico para enfermedad avanzada, algunos pacientes presentaron beneficio clínico significativo.

Dos pacientes con MSI-H tratado con pembrolizumab y *ERBB2*^{AMP} tratado con zanidatamab se beneficiaron durante más de 15 meses de tratamiento dirigido, un paciente con *ERBB2*^{AMP} tratado con T-DXd se benefició durante 9 meses, y una paciente con *ERBB2* S310F tratada con T-DXd consiguiendo enfermedad estable durante 3 meses.

Es cierto que la respuesta al tratamiento dirigido no fue valorable en dos pacientes, ya que presentaron una complicación asociada al tumor dentro de las primeras 4 semanas de haber empezado el tratamiento. Esta interferencia por la propia enfermedad es común en pacientes multitratados y evolucionados, e impide la valoración del efecto farmacológico sobre la propia enfermedad. Este hecho se ha constatado en tratamientos dirigidos como T-DXd y pembrolizumab en cáncer de mama y de pulmón respectivamente⁸⁵⁻⁸⁸.

Estos resultados deben interpretarse en el contexto de la literatura sobre tratamiento dirigido independiente de histología, donde se incluyen tumores raros. En estudios *basket* como NCI-MATCH, MyPathway, LIBRETTO-001, STARTRK-NG, LOXO-TRK-14001, Keynote-158, Destiny Panumour-01 o ROAR, se ha demostrado que la asignación de tratamiento en función del perfil molecular puede producir respuestas significativas incluso en neoplasias poco frecuentes o sin opciones terapéuticas estándar, como el CAV^{55,57-59,89-92}. Por la misma razón, propondríamos incluir el CAV en el diseño de futuros estudios *basket*, tanto para alteraciones ya conocidas, como para nuevos biomarcadores que puedan aparecer.

La implicación es clara: más de un 50% de los CAV puede contener alteraciones potencialmente tratables, y más del 36% serían clasificados como ESCAT I-IIIa en el caso de los *KRAS*^{WT}, por lo que puede ser considerado dentro de este paradigma emergente de oncología agnóstica, donde la biología del tumor, más que su localización, guía el tratamiento.

También tenemos que tener presente el uso de tratamientos dirigidos específicos en tumores relacionados como el CP o el CC. En CP, el uso de inhibidores de Poly-ADP-ribose Polymerase (PARP) en pacientes con mutaciones en genes reparadores como *BRCA1*, *BRCA2* o *PALB2* ha demostrado ser efectivo como mantenimiento tras respuesta al platino, mostrando tasas de respuesta del 22-40% y aumento de la SLP respecto a placebo^{46,48}. Aunque son solo un 1% de los pacientes con CP, también se ha demostrado eficacia del uso de zenocutuzumab para pacientes con fusiones en *NRG1*⁵⁴. También se ha demostrado, tanto en CC como en CP, eficacia de los inhibidores de *KRAS* G12C^{40,43}. En cuanto al CC, se ha demostrado actividad contra algunas alteraciones descritas en el apartado de tumores raros, pero también algunas específicas contra mutaciones en *IDH1*, y contra fusiones o reordenamientos en *FGFR2*⁹³⁻⁹⁵. Tenemos que tener en cuenta que los pacientes analizados con los paneles VHIO-CARD-300 y AmpliconSeq-VHIO v1 no incluían el análisis de fusiones, por lo que desconocemos si pueden presentar algunas de estas alteraciones.

En este sentido, la incorporación sistemática de paneles de NGS en el algoritmo diagnóstico y terapéutico del CAV adquiere una importancia fundamental. Estas tecnologías permiten detectar de forma fiable y rápida no solo mutaciones puntuales, sino también amplificaciones, deleciones, fusiones génicas y biomarcadores de inmunoterapia como MSI o TMB-High.

La implementación de NGS en la práctica clínica ya está instaurada en nuestro medio para carcinoma de vía biliar por el mismo motivo, y podríamos extender este estudio a los CAV, lo que permitiría identificar precozmente pacientes candidatos a terapias dirigidas, optimizar el uso de recursos y mejorar los resultados clínicos, especialmente en contextos donde las opciones terapéuticas convencionales son limitadas.

Estos paneles genómicos se han desarrollado rápidamente en los últimos 10 años, y es uno de los motivos que justifica la heterogeneidad de los resultados obtenidos. De los pacientes diagnosticados en los últimos 3 años, la secuenciación se ha hecho con paneles que incluyen más de 300 genes capaces de detectar nuevas alteraciones para las que los tratamientos han aparecido progresivamente como los genes relacionados con la reparación del DNA, no incluidos en el panel Amplicon Seq VHIO v1.0. Este hecho muestra la dificultad de la correcta valoración de parte de las alteraciones de este estudio, y refleja la rápida evolución tecnológica que puede conllevar una mejoría del tratamiento personalizado del CAV.

Los resultados clínicos a partir de datos genómicos que hemos extraído en este estudio refuerzan la necesidad de incluir la evaluación molecular en los algoritmos de tratamiento del CAV, incluso en estadios iniciales. En pacientes con enfermedad reseca que presentan recurrencia precoz o quimioresistencia, el conocimiento previo del perfil molecular permitiría tomar decisiones terapéuticas más ágiles y con mayor precisión. Del mismo modo, en enfermedad metastásica, esta información puede ser clave para planificar líneas sucesivas de tratamiento más allá de la quimioterapia estándar.

Además, el bajo número de pacientes con CAV por centro o por país hace imprescindible el desarrollo de colaboraciones multicéntricas, tanto a nivel nacional como internacional. Solo mediante la integración de bases de datos y biobancos institucionales será posible aumentar la potencia estadística de los estudios y validar los hallazgos moleculares descritos en cohortes más diversas. Estas iniciativas también permitirían compartir recursos, armonizar criterios diagnósticos y terapéuticos, y generar evidencia más sólida para fundamentar futuras recomendaciones en guías clínicas.

7.5. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Como todo estudio retrospectivo, el presente trabajo presenta una serie de limitaciones inherentes a su diseño, que deben ser consideradas al interpretar los resultados. La primera y más evidente es su naturaleza no prospectiva y observacional, lo que implica una falta de control sobre la recogida de variables clínicas, el seguimiento longitudinal homogéneo y la aplicación sistemática de tratamientos. Aunque se trabajó con una base de datos robusta, algunas variables pudieron estar sujetas a sesgo de registro o a pérdida de información.

Otra limitación importante es el tamaño muestral, que, si bien es considerable para tratarse de un tumor raro como el CAV, sigue siendo limitado para realizar análisis estadísticos con suficiente potencia en determinados subgrupos, especialmente en el subtipo MIX o en pacientes con alteraciones moleculares poco frecuentes. Esto puede explicar, en parte, la ausencia de significación estadística en algunas comparaciones que mostraron tendencias clínicas relevantes, como la diferencia en TRO en función de la presencia de mutación en *TP53*, o la SG según subtipo histológico.

Además, la heterogeneidad en las plataformas de secuenciación empleadas a lo largo de los años introduce cierta variabilidad en la detección de alteraciones moleculares. Aunque todos los análisis se realizaron en el contexto de la práctica clínica habitual y bajo plataformas clínicamente validadas, la falta de uniformidad técnica podría haber condicionado la exhaustividad del análisis genómico en algunos casos, especialmente en la detección de fusiones génicas o alteraciones estructurales no cubiertas por los paneles iniciales como son los genes relacionados con DDR.

Tampoco puede descartarse la existencia de sesgos de selección, propios de estudios realizados en centros terciarios, donde los pacientes incluidos tienden a recibir tratamientos más intensivos o acceso a ensayos clínicos, lo que podría influir en la detección de alteraciones tratables o la supervivencia observada. Este aspecto, sin embargo, también puede interpretarse como una fortaleza al reflejar un escenario clínico con un nivel de especialización y multidisciplinariedad que marca el estándar deseable en el manejo de tumores complejos y poco frecuentes.

En contrapartida, el estudio presenta varias fortalezas relevantes que lo posicionan como una de las series más completas publicadas hasta la fecha sobre el CAV. En primer lugar, destaca el tamaño de la cohorte, que, con 78 pacientes incluidos, representa una muestra significativa para el análisis integrado clínico-genómico de esta neoplasia. Además, es la primera cohorte de CAV que realiza análisis molecular incluyendo pacientes en estadios avanzados. En segundo lugar, la alta tasa de caracterización molecular mediante NGS (96.2%), junto con la clasificación IHQ estandarizada en la mayoría de los casos, permitió un análisis robusto de la correlación entre subtipo histológico, perfil molecular y evolución clínica.

Otra fortaleza destacable es la disponibilidad de una cohorte externa para validación, lo cual permitió reforzar algunos hallazgos clave, como la distribución de mutaciones en *KRAS* o la mayor prevalencia de alteraciones tratables en pacientes *KRAS^{WT}*. La posibilidad de comparar resultados en dos poblaciones diferentes confiere mayor consistencia a las conclusiones del estudio y minimiza el riesgo de interpretaciones sesgadas por el contexto local.

Finalmente, el enfoque integrador del análisis –que combina datos clínicos, histológicos, moleculares y terapéuticos– permite generar hipótesis clínicas con aplicación directa y sienta las bases para futuras estrategias de estratificación y personalización del tratamiento en el CAV.

En vista de estas limitaciones, se hace evidente que el avance en el conocimiento del CAV dependerá, en gran medida, de la capacidad para establecer colaboraciones multicéntricas que permitan incluir un número más representativo de pacientes, favoreciendo la generación de evidencia más robusta y generalizable. Para garantizar la validez y comparabilidad de los resultados, estas colaboraciones deberán sustentarse en el uso de protocolos estandarizados de evaluación anatomopatológica y de análisis genómico. Este enfoque permitiría no solo validar los hallazgos actuales, sino también profundizar en el estudio biológico del CAV mediante metodologías como la secuenciación del exoma completo, la transcriptómica o el desarrollo de modelos preclínicos derivados de muestras tumorales frescas.

7.6. INCÓGNITAS POR RESOLVER

A pesar de los avances aportados por este estudio en la comprensión del CAV, numerosos aspectos de esta entidad permanecen sin resolver y continúan planteando preguntas clave, tanto desde el punto de vista biológico como clínico.

Una de las principales incógnitas radica en la naturaleza biológica real de los subtipos histológicos. Aunque tradicionalmente se han clasificado como variantes INT, PB o MIX, basándose en criterios morfológicos e IHQ, no está claro si esta clasificación refleja entidades biológicas diferenciadas o simplemente un espectro continuo de diferenciación celular. Si bien se han descrito ciertas diferencias en las vías de señalización entre subtipos, la ausencia de divergencias significativas en la frecuencia de mutaciones clave o en el número de alteraciones tratables sugiere que podrían compartir mecanismos oncogénicos fundamentales. Entender si los subtipos histológicos representan procesos moleculares distintos o un espectro de diferenciación tumoral es crucial para poder personalizar el abordaje terapéutico con mayor precisión.

También permanece sin resolver el grado de heterogeneidad intratumoral del CAV, tanto a nivel espacial como temporal. La posibilidad de que los tumores de la ampolla presenten clonas con perfiles moleculares distintos, o que evolucionen bajo presión terapéutica adquiriendo nuevas alteraciones, tiene implicaciones directas en la elección de tratamiento y en el desarrollo de resistencias. La caracterización longitudinal del tumor a través de biopsias líquidas o rebiopsias seriadas podría ofrecer nuevas perspectivas sobre este fenómeno.

Desde el punto de vista terapéutico, una de las cuestiones más urgentes es definir qué pacientes se benefician realmente de las terapias dirigidas, y en qué momento deben ser administradas. Aunque los resultados obtenidos en este estudio sugieren un beneficio clínico claro en algunos casos, la evidencia sigue siendo limitada y se requieren estudios más sistemáticos para establecer criterios sólidos de selección. De igual modo, la durabilidad de las respuestas, los mecanismos de resistencia adquirida y la posibilidad de combinaciones con quimioterapia o inmunoterapia siguen siendo áreas de incertidumbre.

Finalmente, el impacto real que tendría la implementación universal de NGS en todos los pacientes con CAV también necesita ser evaluado en profundidad. Si bien los datos de esta tesis apoyan su utilidad, cuestiones como el momento óptimo para realizar el análisis, su coste-efectividad, y cómo integrar estos resultados en algoritmos de decisión clínica aún no están completamente resueltas.



Estas incógnitas no solo reflejan los vacíos existentes en la literatura, sino que marcan claramente las líneas prioritarias que deberán abordarse en futuras investigaciones para avanzar hacia una medicina de precisión real y accesible en el CAV.





8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- 1) Más de un 50% de los pacientes presentaron alteraciones potencialmente tratables según la escala ESCAT, lo que refuerza la utilidad clínica de la caracterización molecular sistemática en el CAV. Dentro de estos, los tumores *KRAS*^{WT} mostraron una mayor carga de alteraciones moleculares tratables clasificadas como ESCAT I–IIIa en más de un 36%.
- 2) *KRAS* y *TP53* fueron los genes más frecuentemente mutados, sin demostrar valor pronóstico en términos de supervivencia.
- 3) El subtipo INT se asoció a alteraciones moleculares en la vía de TGF- β y en la vía de WNT. Estas diferencias y su implicación tienen que interpretarse con cautela, pues vienen limitadas por la heterogeneidad de los paneles usados, así como la limitación de la muestra a estudio.
- 4) La administración de tratamientos dirigidos guiados por perfil molecular demostró beneficio clínico incluso en líneas de tratamiento avanzadas. En particular, seis pacientes tratados para *ERBB2*^{AMP}, MSI-H y *ERBB2*^{MUT}, mostraron respuestas objetivas y supervivencias prolongadas, lo que valida el potencial uso de la medicina personalizada en este contexto.
- 5) Este trabajo contribuye al campo de la oncología de precisión en tumores poco frecuentes, generando evidencia aplicable y validada que sugiere el uso de paneles NGS en el CAV como una herramienta factible y clínicamente relevante, que puede guiar tanto la práctica clínica como futuras investigaciones en el CAV.



9. LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

9. LÍNEAS FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio aporta evidencia novedosa sobre la caracterización molecular del CAV y su potencial aplicación en la medicina personalizada. Por lo tanto, abre la puerta a seguir profundizando en el estudio de esta enfermedad, por lo que se plantean las siguientes líneas de investigación:

9.1. INVESTIGACIÓN CLÍNICA

- Validación multicéntrica: uno de los principales retos en el estudio del CAV es el tamaño limitado de las series disponibles. La realización de estudios prospectivos multicéntricos, que incorporen cohortes más amplias y representativas, permitiría validar los hallazgos moleculares identificados, evaluar su impacto clínico y establecer biomarcadores pronósticos o predictivos con mayor robustez estadística.
- Incorporación en ensayos clínicos *basket*. Los resultados obtenidos sugieren que el CAV, al igual que el resto de tumores de la vía biliar, pueden beneficiarse de diferentes tipos de terapias dirigidas basadas en alteraciones genómicas específicas. Por tanto, su inclusión en ensayos clínicos *basket* dirigidos por biomarcador, podría aumentar el armamento terapéutico contra esta enfermedad.

9.2. INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL

- Establecimiento de modelos preclínicos: modelos preclínicos específicos de CAV, como organoides derivados de pacientes (PDOs) o modelos murinos avatar, facilitarían el estudio funcional de las alteraciones moleculares encontradas, así como la evaluación preclínica de terapias dirigidas en un entorno más traslacional.
- Integración de análisis multi-ómicos: La caracterización genómica es solo una parte del panorama biológico del CAV. La incorporación de herramientas multi-ómicas (transcriptómica, epigenómica, proteómica, metabolómica) permitiría entender mejor la biología tumoral y clasificar los tumores de forma más precisa según sus mecanismos de acción subyacentes.



Para que estas iniciativas traslacionales puedan desarrollarse de manera efectiva, y como hemos comentado al tener en cuenta las limitaciones de nuestro estudio, sería imprescindible la creación de una colaboración multicéntrica sostenida, que permita no solo aumentar el tamaño muestral y la diversidad biológica, sino también implementar un protocolo estandarizado para la caracterización anatomopatológica y genómica de los tumores. Una vez establecida esta red colaborativa, se podrían plantear estudios más ambiciosos, incluyendo secuenciación completa del exoma, análisis transcriptómico y la generación de organoides específicos a partir de muestras frescas, con el objetivo de entender mejor la evolución de las células tumorales, el papel del microambiente y, en última instancia, definir si los subtipos histológicos representan entidades biológicas diferenciadas o simplemente fenotipos variables de una misma enfermedad.





10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rizzo A, Dadduzio V, Lombardi L, Ricci AD, Gadaleta-Caldarola G. Ampullary Carcinoma: An Overview of a Rare Entity and Discussion of Current and Future Therapeutic Challenges. *Curr Oncol* 2021;28(5):3393–402. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34590592/>. 10.3390/CURRONCOL28050293
2. Netter FH. Atlas de anatomía humana : abordaje por sistemas. 2023;
3. Adsay V, Ohike N, Tajiri T, et al. Ampullary region carcinomas: definition and site specific classification with delineation of four clinicopathologically and prognostically distinct subsets in an analysis of 249 cases. *Am J Surg Pathol* 2012;36(11):1592–608. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23026934/>. 10.1097/PAS.0B013E31826399D8
4. Ahn DH, Bekaii-Saab T. Ampullary Cancer: An Overview. American Society of Clinical Oncology educational book / ASCO American Society of Clinical Oncology Meeting 2014;(34):112. /pmc/articles/PMC4966534/. 10.14694/EDBOOK_AM.2014.34.112
5. Ramai D, Ofosu A, Singh J, John F, Reddy M, Adler DG. Demographics, tumor characteristics, treatment, and clinical outcomes of patients with ampullary cancer: a Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) cohort study. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2019;65(2):85–90. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30488680/>. 10.23736/S1121-421X.18.02543-6
6. Albores-Saavedra J, Schwartz AM, Batich K, Henson DE. Cancers of the ampulla of Vater: demographics, morphology, and survival based on 5,625 cases from the SEER program. *J Surg Oncol* 2009;100(7):598–605. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19697352/>. 10.1002/JSO.21374
7. Rostain F, Hamza S, Drouillard A, Faivre J, Bouvier AM, Lepage C. Trends in incidence and management of cancer of the ampulla of Vater. *World J Gastroenterol* 2014;20(29):10144–50. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25110442/>. 10.3748/WJG.V20.I29.10144
8. Zhou Y, Li D, Wu L, Si X. The histopathologic type predicts survival of patients with ampullary carcinoma after resection: A meta-analysis. *Pancreatology* 2017;17(2):273–8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28131524/>. 10.1016/J.PAN.2017.01.007

9. Nappo G, Funel N, Laurenti V, et al. Ampullary Cancer: Histological Subtypes, Markers, and Clinical Behaviour—State of the Art and Perspectives. *Current Oncology* 2023, Vol 30, Pages 6996–7006 2023;30(7):6996–7006. <https://www.mdpi.com/1718-7729/30/7/507/htm>. 10.3390/CURRONCOL30070507
10. Chiorean EG, Chiaro M Del, Tempero MA, et al. Ampullary Adenocarcinoma, Version 1.2023, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2023;21(7):753–82. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37433437/>. 10.6004/JNCCN.2023.0034
11. Tsagkalidis V, Langan RC, Ecker BL. Ampullary Adenocarcinoma: A Review of the Mutational Landscape and Implications for Treatment. *Cancers (Basel)* 2023;15(24). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38136318/>. 10.3390/CANCERS15245772
12. Nehme F, Lee JH. Preoperative biliary drainage for pancreatic cancer. *Digestive Endoscopy* 2022;34(3):428–38. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34275165/>. 10.1111/DEN.14081,
13. Elmunzer BJ, Maranki JL, Gómez V, et al. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Biliary Strictures. *American Journal of Gastroenterology* 2023;118(3):405–26. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36863037/>. 10.14309/AJG.0000000000002190,
14. El-Haddad HM, Sabry AA, Shehata GM. Endoscopic versus percutaneous biliary drainage for resectable pancreatic head cancer with hyperbilirubinemia and impact on pancreaticoduodenectomy: A randomized controlled study. *International Journal of Surgery* 2021;93. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34371176/>. 10.1016/j.ijso.2021.106043
15. Imamura T, Yamamoto Y, Sugiura T, et al. The Prognostic Relevance of the New 8th Edition of the Union for International Cancer Control Classification of TNM Staging for Ampulla of Vater Carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2019;26(6):1639–48. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30790111/>. 10.1245/S10434-019-07238-6
16. Kim SJ, An S, Kang HJ, et al. Validation of the eighth edition of the American Joint Committee on Cancer staging system for ampulla of Vater cancer. *Surgery* 2018;163(5):1071–9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29452703/>. 10.1016/J.SURG.2017.12.018
17. Ang DC, Shia J, Tang LH, Katabi N, Klimstra DS. The utility of immunohistochemistry in subtyping adenocarcinoma of the ampulla of vater. *Am J Surg Pathol* 2014;38(10):1371–9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24832159/>. 10.1097/PAS.0000000000000230

18. Cambell F, Carins A, Duthie F, Feakins R. Dataset for histopathological reporting of carcinomas of the pancreas, ampulla of Vater and common bile duct. 2019 Accessed Feb 11, 2025. . https://www.rcpath.org/resourceLibrary/g091-pancreasdataset.html?_gl=1*1fpjdhw*_up*MQ..*_ga*NjgwNTk2MjQ4LjE3MzkyOTgwMDI.*_ga_HT8YPHYFXZ*MTczOTI5ODAwMS4xLjEuMTczOTI5ODA2NS4wLjAuMA.
.
19. Kimura W, Futakawa N, Yamagata S, et al. Different clinicopathologic findings in two histologic types of carcinoma of papilla of Vater. *Jpn J Cancer Res* 1994;85(2):161–6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7511574/>. 10.1111/J.1349-7006.1994.TB02077.X
20. Sperduto PW, Kased N, Roberge D, et al. Effect of tumor subtype on survival and the graded prognostic assessment for patients with breast cancer and brain metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82(5):2111–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21497451>. 10.1016/j.ijrobp.2011.02.027
21. Quero G, Laterza V, Fiorillo C, et al. The impact of the histological classification of ampullary carcinomas on long-term outcomes after pancreaticoduodenectomy: a single tertiary referral center evaluation. *Langenbecks Arch Surg* 2022;407(7):2811–21. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00423-022-02563-z>. 10.1007/S00423-022-02563-Z/TABLES/4
22. Heise C, Ali EA, Hasenclever D, et al. Systematic Review with Meta-Analysis: Endoscopic and Surgical Resection for Ampullary Lesions. *J Clin Med* 2020;9(11):1–26. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33182806/>. 10.3390/JCM9113622
23. Kuesters S, Sundheimer J, Wittel UA, Chikhladze S, Fichtner-Feigl S, Biesel EA. Pancreatic head resection for carcinoma of the ampulla vateri - better long-term prognosis, but more postoperative complications. *Langenbecks Arch Surg* 2024;409(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38632147/>. 10.1007/S00423-024-03319-7
24. Servei Català de Salut. Instrucció 01/2012, de 10 de gener, sobre l’atenció oncològica d’alta especialització a Catalunya. Generalitat de Catalunya. 2012 Accessed May 10, 2025. . https://catsalut.gencat.cat/web/.content/minisite/catsalut/proveidors_professionals/normatives_instruccions/2012/instruccio-01-2012-10-gener/instruccio-01-2012.pdf.
25. Uijterwijk BA, Lemmers DH, Fusai GK, et al. Different Periapillary Types and Subtypes Leading to Different Perioperative Outcomes of Pancreatoduodenectomy: Reality and Not a Myth; An International Multicenter Cohort Study. *Cancers (Basel)*

- 2024;16(5). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38473260/>.
10.3390/CANCERS16050899
26. Neoptolemos JP, Moore MJ, Cox TF, et al. Effect of adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid or gemcitabine vs observation on survival in patients with resected perihilar adenocarcinoma: the ESPAC-3 perihilar cancer randomized trial. *JAMA* 2012;308(2):147–56.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22782416/>. 10.1001/JAMA.2012.7352
 27. Valle J, Wasan H, Palmer DH, et al. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer. *N Engl J Med* 2010;362(14):1273–81.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20375404/>. 10.1056/NEJMOA0908721
 28. Valle JW, Furuse J, Jitlal M, et al. Cisplatin and gemcitabine for advanced biliary tract cancer: a meta-analysis of two randomised trials. *Ann Oncol* 2014;25(2):391–8.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24351397/>. 10.1093/ANNONC/MDT540
 29. Okusaka T, Nakachi K, Fukutomi A, et al. Gemcitabine alone or in combination with cisplatin in patients with biliary tract cancer: A comparative multicentre study in Japan. *Br J Cancer* 2010;103(4):469–74. 10.1038/sj.bjc.6605779
 30. Kelley RK, Ueno M, Yoo C, et al. Pembrolizumab in combination with gemcitabine and cisplatin compared with gemcitabine and cisplatin alone for patients with advanced biliary tract cancer (KEYNOTE-966): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet* 2023;401(10391):1853–65.
<http://www.thelancet.com/article/S0140673623007274/fulltext>. 10.1016/S0140-6736(23)00727-4
 31. Oh D-Y, He AR, Qin S, et al. Durvalumab plus Gemcitabine and Cisplatin in Advanced Biliary Tract Cancer. *NEJM Evidence* 2022;1(8).
<https://evidence.nejm.org/doi/full/10.1056/EVIDOa2200015>.
10.1056/EVIDOa2200015
 32. Lamarca A, Palmer DH, Wasan HS, et al. Second-line FOLFOX chemotherapy versus active symptom control for advanced biliary tract cancer (ABC-06): a phase 3, open-label, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol* 2021;22(5):690–701.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33798493/>. 10.1016/S1470-2045(21)00027-9
 33. Gingras MC, Covington KR, Chang DK, et al. Ampullary Cancers Harbor ELF3 Tumor Suppressor Gene Mutations and Exhibit Frequent WNT Dysregulation. *Cell Rep* 2016;14(4):907–19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26804919/>.
10.1016/J.CELREP.2015.12.005

34. Yachida S, Wood LD, Suzuki M, et al. Genomic Sequencing Identifies ELF3 as a Driver of Ampullary Carcinoma. *Cancer Cell* 2016;29(2):229–40. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26806338/>. 10.1016/J.CCELL.2015.12.012
35. Perkins G, Svrcek M, Bouchet-Doumenq C, et al. Can we classify ampullary tumours better? Clinical, pathological and molecular features. Results of an AGEO study. *Br J Cancer* 2019;120(7):697–702. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30837681/>. 10.1038/S41416-019-0415-8
36. Mikhitarian K, Pollen M, Zhao Z, et al. Epidermal growth factor receptor signaling pathway is frequently altered in ampullary carcinoma at protein and genetic levels. *Mod Pathol* 2014;27(5):665–74. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24186143/>. 10.1038/MODPATHOL.2013.185
37. Patel MA, Kratz JD, Carlson AS, Ascencio YO, Kelley BS, LoConte NK. Molecular Targets and Therapies for Ampullary Cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2024;22(2D):1–8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38181507/>. 10.6004/JNCCN.2023.7051
38. Raphael BJ, Hruban RH, Aguirre AJ, et al. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell* 2017;32(2):185–203.e13. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28810144/>. 10.1016/j.ccell.2017.07.007
39. Philip PA, Azar I, Xiu J, et al. Molecular Characterization of KRAS Wild-type Tumors in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research* 2022;28(12):2704–14. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35302596/>. 10.1158/1078-0432.CCR-21-3581,
40. Strickler JH, Satake H, George TJ, et al. Sotorasib in KRAS p.G12C-Mutated Advanced Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2023;388(1):33–43. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36546651/>. 10.1056/NEJMOA2208470
41. Filis P, Salgkamis D, Matikas A, Zerdes I. Breakthrough in RAS targeting with pan-RAS(ON) inhibitors RMC-7977 and RMC-6236. *Drug Discov Today* 2025;30(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39586491/>. 10.1016/J.DRUDIS.2024.104250,
42. Wei D, Wang L, Zuo X, Maitra A, Bresalier RS. A Small Molecule with Big Impact: MRTX1133 Targets the KRASG12D Mutation in Pancreatic Cancer. *Clinical Cancer Research* 2024;30(4):655–62. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37831007/>. 10.1158/1078-0432.CCR-23-2098,
43. Bekaii-Saab TS, Spira AI, Yaeger R, et al. KRYSTAL-1: Updated activity and safety of adagrasib (MRTX849) in patients (Pts) with unresectable or metastatic pancreatic

- cancer (PDAC) and other gastrointestinal (GI) tumors harboring a KRASG12C mutation. *Journal of Clinical Oncology* 2022;40(4_suppl):519–519.
https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2022.40.4_suppl.519.
 10.1200/JCO.2022.40.4_SUPPL.519
44. Golan T, Kindler HL, Park JO, et al. Geographic and Ethnic Heterogeneity of Germline BRCA1 or BRCA2 Mutation Prevalence Among Patients With Metastatic Pancreatic Cancer Screened for Entry Into the POLO Trial. *J Clin Oncol* 2020;38(13):1442–54.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32073954/>. 10.1200/JCO.19.01890
 45. Kindler HL, Hammel P, Reni M, et al. Overall Survival Results From the POLO Trial: A Phase III Study of Active Maintenance Olaparib Versus Placebo for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *J Clin Oncol* 2022;40(34):3929–39.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35834777/>. 10.1200/JCO.21.01604
 46. Golan T, Hammel P, Reni M, et al. Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2019;381(4):317–27.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31157963/>. 10.1056/NEJMOA1903387
 47. O'Reilly EM, Lee JW, Zalupski M, et al. Randomized, Multicenter, Phase II Trial of Gemcitabine and Cisplatin With or Without Veliparib in Patients With Pancreas Adenocarcinoma and a Germline BRCA/PALB2 Mutation. *J Clin Oncol* 2020;38(13):1378–88. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31976786/>.
 10.1200/JCO.19.02931
 48. Reiss KA, Mick R, O'Hara MH, et al. Phase II Study of Maintenance Rucaparib in Patients With Platinum-Sensitive Advanced Pancreatic Cancer and a Pathogenic Germline or Somatic Variant in BRCA1, BRCA2, or PALB2. *J Clin Oncol* 2021;39(22):2497–505. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33970687/>.
 10.1200/JCO.21.00003
 49. Kendre G, Murugesan K, Brummer T, Segatto O, Saborowski A, Vogel A. Charting co-mutation patterns associated with actionable drivers in intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2023;78(3):614–26.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36528236/>. 10.1016/j.jhep.2022.11.030
 50. Montal R, Sia D, Montironi C, et al. Molecular classification and therapeutic targets in extrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2020;73(2):315–27.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32173382/>. 10.1016/j.jhep.2020.03.008
 51. Yuan W, Zhang Z, Dai B, et al. Whole-exome sequencing of duodenal adenocarcinoma identifies recurrent Wnt/ β -catenin signaling pathway mutations.

- Cancer 2016;122(11):1689–96. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26998897/>. 10.1002/CNCR.29974,
52. Mirallas O, López-Valbuena D, García-Illescas D, et al. Advances in the systemic treatment of therapeutic approaches in biliary tract cancer. *ESMO Open* 2022;7(3). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35696747/>. 10.1016/J.ESMOOP.2022.100503
 53. Trunk A, Miotke L, Nevala-Plagemann C, Verdaguer H, Macarulla T, Garrido-Laguna I. Emerging Treatment Strategies in Pancreatic Cancer. *Pancreas* 2021;50(6):773–87. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34398070/>. 10.1097/MPA.0000000000001845
 54. Schram AM, Goto K, Kim D-W, et al. Efficacy of Zenocutuzumab in NRG1 Fusion-Positive Cancer. *N Engl J Med* 2025;392(6):566–76. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39908431/>. 10.1056/NEJMOA2405008
 55. Desai A V., Robinson GW, Gauthier K, et al. Entrectinib in children and young adults with solid or primary CNS tumors harboring NTRK, ROS1, or ALK aberrations (STARTRK-NG). *Neuro Oncol* 2022;24(10):1776–89. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35395680/>. 10.1093/NEUONC/NOAC087
 56. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol* 2020;21(4):531–40. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32105622/>. 10.1016/S1470-2045(19)30856-3
 57. Subbiah V, Wolf J, Konda B, et al. Tumour-agnostic efficacy and safety of selpercatinib in patients with RET fusion-positive solid tumours other than lung or thyroid tumours (LIBRETTO-001): a phase 1/2, open-label, basket trial. *Lancet Oncol* 2022;23(10):1261–73. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36108661/>. 10.1016/S1470-2045(22)00541-1
 58. Meric-Bernstam F, Makker V, Oaknin A, et al. Efficacy and Safety of Trastuzumab Deruxtecan in Patients With HER2-Expressing Solid Tumors: Primary Results From the DESTINY-PanTumor02 Phase II Trial. *J Clin Oncol* 2024;42(1):47–58. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37870536/>. 10.1200/JCO.23.02005
 59. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J Clin Oncol* 2020;38(1):1–10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31682550/>. 10.1200/JCO.19.02105
 60. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab:

- prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncol* 2020;21(10):1353–65.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32919526/>. 10.1016/S1470-2045(20)30445-9
61. Lee H, Wang K, Johnson A, et al. Comprehensive genomic profiling of extrahepatic cholangiocarcinoma reveals a long tail of therapeutic targets. *J Clin Pathol* 2016;69(5):403–8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26500333/>.
10.1136/JCLINPATH-2015-203394
62. Sledge GW, Yoshino T, Xiu J, et al. Real-world evidence provides clinical insights into tissue-agnostic therapeutic approvals. *Nature Communications* 2025 16:1 2025;16(1):1–11. <https://www.nature.com/articles/s41467-025-57941-0>.
10.1038/s41467-025-57941-0
63. Caratù G, Mancuso FM, Sansó M, et al. VHIO-300 and a thousand and one nights: A tale of precision medicine. *Annals of Oncology* 2019;30:v810–1.
<http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753419601523/fulltext>.
10.1093/annonc/mdz269.044
64. Dienstmann R, Elez E, Argiles G, et al. Analysis of mutant allele fractions in driver genes in colorectal cancer - biological and clinical insights. *Mol Oncol* 2017;11(9):1263–72. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28618197/>. 10.1002/1878-0261.12099
65. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol* 2018;29(9):1895–902.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30137196/>. 10.1093/ANNONC/MDY263
66. Verdaguer H, Saurí T, Acosta DA, et al. ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets Driving Targeted Treatment in Patients with Cholangiocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2022;28(8):1662–71. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35042699/>.
10.1158/1078-0432.CCR-21-2384
67. Boscolo Bielo L, Crimini E, Repetto M, et al. Molecular tumour board in gastrointestinal cancers. *ESMO Open* 2025;10(4).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40112698/>. 10.1016/J.ESMOOP.2025.104510
68. Cherny NI, Dafni U, Bogaerts J, et al. ESMO-Magnitude of Clinical Benefit Scale version 1.1. *Ann Oncol* 2017;28(10):2340–66.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28945867/>. 10.1093/ANNONC/MDX310

69. Quero G, Laterza V, Fiorillo C, et al. The impact of the histological classification of ampullary carcinomas on long-term outcomes after pancreaticoduodenectomy: a single tertiary referral center evaluation. *Langenbecks Arch Surg* 2022;407(7):2811–21. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00423-022-02563-z>. 10.1007/S00423-022-02563-Z/TABLES/4
70. Shin DW, Kim S, Jung K, et al. Impact of histopathological type on the prognosis of ampullary carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2023;49(2):306–15. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36272870/>. 10.1016/J.EJSO.2022.10.001
71. Harding JJ, Fan J, Oh DY, et al. Zanidatamab for HER2-amplified, unresectable, locally advanced or metastatic biliary tract cancer (HERIZON-BTC-01): a multicentre, single-arm, phase 2b study. *Lancet Oncol* 2023;24(7):772–82. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37276871/>. 10.1016/S1470-2045(23)00242-5
72. Li BT, Li BT, Bardia A, et al. Trastuzumab deruxtecan in patients with solid tumours harbouring specific activating HER2 mutations (DESTINY-PanTumor01): an international, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2024;25(6):707–19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38710187/>. 10.1016/S1470-2045(24)00140-2
73. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab Deruxtecan in HER2-Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2022;386(3):241–51. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34534430/>. 10.1056/NEJMOA2112431
74. Jänne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring a KRASG12C Mutation. *N Engl J Med* 2022;387(2):120–31. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35658005/>. 10.1056/NEJMOA2204619
75. de Langen AJ, Johnson ML, Mazieres J, et al. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small-cell lung cancer with KRASG12C mutation: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2023;401(10378):733–46. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36764316/>. 10.1016/S0140-6736(23)00221-0
76. Joris S, Denys H, Collignon J, et al. Efficacy of olaparib in advanced cancers with germline or somatic mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2 and ATM, a Belgian Precision tumor-agnostic phase II study. *ESMO Open* 2023;8(6). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37852034/>. 10.1016/J.ESMOOP.2023.102041
77. Srkalovic G, Rothe M, Mangat PK, et al. Talazoparib in Patients With Solid Tumors With BRCA1/ 2 Mutation: Results From the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry Study. *JCO Precis Oncol* 2024;8(8). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38865672/>. 10.1200/PO.24.00026

78. Ramai D, Ofosu A, Singh J, John F, Reddy M, Adler DG. Demographics, tumor characteristics, treatment, and clinical outcomes of patients with ampullary cancer: a Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) cohort study. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2019;65(2):85–90. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30488680/>. 10.23736/S1121-421X.18.02543-6
79. Horak P, Heining C, Kreutzfeldt S, et al. Comprehensive Genomic and Transcriptomic Analysis for Guiding Therapeutic Decisions in Patients with Rare Cancers. *Cancer Discov* 2021;11(11):2780–95. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34112699/>. 10.1158/2159-8290.CD-21-0126
80. Park SJ, Shin K, Hong TH, et al. Histologic subtype-based evaluation of recurrence and survival outcomes in patients with adenocarcinoma of the ampulla of Vater. *Sci Rep* 2023;13(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37783755/>. 10.1038/S41598-023-42386-6
81. Robert PE, Leux C, Ouaisi M, et al. Predictors of long-term survival following resection for ampullary carcinoma: a large retrospective French multicentric study. *Pancreas* 2014;43(5):692–7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24713843/>. 10.1097/MPA.0000000000000112
82. Tan J, Tan P, Teh BT. Defining the Molecular Alterations of Ampullary Carcinoma. *Cancer Cell* 2016;29(2):135–6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26859450/>. 10.1016/J.CCELL.2016.01.011
83. Valsangkar NP, Ingkakul T, Correa-Gallego C, et al. Survival in ampullary cancer: potential role of different KRAS mutations. *Surgery* 2015;157(2):260–8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25616942/>. 10.1016/J.SURG.2014.08.092
84. National Library of Medicine (US). ClinicalTrials.gov. Accessed May 13, 2025. <https://clinicaltrials.gov/>.
85. Cortés J, Kim S-B, Chung W-P, et al. Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer. *N Engl J Med* 2022;386(12):1143–54. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35320644/>. 10.1056/NEJMOA2115022
86. André F, Hee Park Y, Kim SB, et al. Trastuzumab deruxtecan versus treatment of physician’s choice in patients with HER2-positive metastatic breast cancer (DESTINY-Breast02): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet* 2023;401(10390):1773–85. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37086745/>. 10.1016/S0140-6736(23)00725-0

87. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016;375(19):1823–33. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27718847/>. 10.1056/NEJMOA1606774
88. Herbst RS, Garon EB, Dong-Wan K, et al. Long-Term Outcomes and Retreatment Among Patients With Previously Treated, Programmed Death-Ligand 1–Positive, Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer in the KEYNOTE-010 Study. *J Clin Oncol* 2020;38(14):1580–91. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32078391/>. 10.1200/JCO.19.02446
89. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med* 2018;378(8):731–9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29466156/>. 10.1056/NEJMOA1714448
90. Subbiah V, Kreitman RJ, Wainberg ZA, et al. Dabrafenib plus trametinib in BRAFV600E-mutated rare cancers: the phase 2 ROAR trial. *Nat Med* 2023;29(5):1103–12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37059834/>. 10.1038/S41591-023-02321-8
91. Hainsworth JD, Meric-Bernstam F, Swanton C, et al. Targeted Therapy for Advanced Solid Tumors on the Basis of Molecular Profiles: Results From MyPathway, an Open-Label, Phase IIa Multiple Basket Study. *J Clin Oncol* 2018;36(6):536–42. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29320312/>. 10.1200/JCO.2017.75.3780
92. Flaherty KT, Gray RJ, Chen AP, et al. Molecular Landscape and Actionable Alterations in a Genomically Guided Cancer Clinical Trial: National Cancer Institute Molecular Analysis for Therapy Choice (NCI-MATCH). *J Clin Oncol* 2020;38(33):3883–94. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33048619/>. 10.1200/JCO.19.03010
93. Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, et al. Futibatinib for FGFR2-Rearranged Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *N Engl J Med* 2023;388(3):228–39. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36652354/>. 10.1056/NEJMOA2206834
94. Abou-Alfa GK, Sahai V, Hollebecque A, et al. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2020;21(5):671–84. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32203698/>. 10.1016/S1470-2045(20)30109-1
95. Abou-Alfa GK, Macarulla T, Javle MM, et al. Ivosidenib in IDH1-mutant, chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma (ClarIDHy): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*



2020;21(6):796–807. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32416072/>. 10.1016/S1470-2045(20)30157-1