

TESIS DOCTORAL



ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Desarrollo de un índice pronóstico basado en
biomarcadores onco-metabólicos circulantes para la
progresión metastásica y la mortalidad (en pacientes
oncológicos)

Autor/a:

Javier Díaz Santos

Directora:

Dra. Dña. Silvia Montoro García

Murcia, Febrero de 2026

TESIS DOCTORAL



ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Desarrollo de un índice pronóstico basado en
biomarcadores onco-metabólicos circulantes para la
progresión metastásica y la mortalidad (en pacientes
oncológicos)

Autor/a:

Javier Díaz Santos

Directora:

Dra. Dña. Silvia Montoro García

Murcia, Febrero de 2026

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS **PARA SU PRESENTACIÓN**

La Dra. Dña. Silvia Montoro García como Directora de la Tesis Doctoral titulada "Desarrollo de un índice pronóstico basado en biomarcadores onco-metabólicos circulantes para la progresión metastásica y la mortalidad (en pacientes oncológicos)", realizada por D. Javier Díaz Santos en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, autoriza su presentación a trámite dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 6 de abril de 2026.

Firmado por FIRMA
ELECTRÓNICA
Murcia, 06 de abril de
2026.
Silvia Montoro García,

Dra. Dña. Silvia Montoro García

⁽¹⁾ Si la Tesis está dirigida por más de un Director tienen que constar y firmar ambos.

RESUMEN

Introducción e hipótesis: La detección precoz de la progresión metastásica continúa siendo un desafío crítico en la oncología de precisión. A pesar de los avances, las técnicas radiológicas convencionales no permiten identificar con suficiente sensibilidad la enfermedad micrometastásica. Si bien es cierto que la detección de DNA tumoral circulante sí ha demostrado utilidad clínica en la evaluación de enfermedad residual mínima, los biomarcadores onco-metabólicos representan una alternativa escasamente explorada. En este trabajo de investigación, se postula la hipótesis de que la integración de este tipo de biomarcadores solubles junto con parámetros analíticos globales podría generar nuevas variables sintéticas que permitan discriminar con mayor fiabilidad el riesgo de metástasis *de novo* y la mortalidad en estos pacientes oncológicos.

Metodología: Para analizar la utilidad de los biomarcadores onco-metabólicos, se planteó un estudio piloto prospectivo y observacional en el que se incluyeron 30 pacientes con neoplasias sólidas heterogéneas (edad mediana: 64.4 años; 56.7% mujeres). Se cuantificaron 11 biomarcadores séricos onco-metabólicos mediante inmunoensayo multiplex Luminex, junto con 20 parámetros analíticos globales obtenidos durante las evaluaciones rutinarias realizadas en la práctica clínica habitual. Posteriormente, se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico aglomerativo que permitió definir dos variables sintéticas, denominadas Stigma (ς) y Qoppa ($\wp$) basadas en estos parámetros anteriores. El rendimiento de estas variables se evaluó mediante análisis de curvas ROC, supervivencia de Kaplan-Meier y regresión de Cox, siempre para la predicción de metástasis *de novo* y mortalidad.

Resultados: Qoppa mostró una capacidad discriminativa aceptable para la predicción de metástasis *de novo* (AUC=0.78). En cuanto a la mortalidad, su rendimiento global fue similar (AUC=0.78), con una clara superioridad en pacientes sin enfermedad metastásica basal (AUC=0.98) y ausencia de valor discriminativo en aquellos que ya habían desarrollado metástasis en el diagnóstico. Por otro lado,

el análisis de Kaplan-Meier reveló diferencias significativas tanto en supervivencia global ($p=0.042$) como en supervivencia libre de metástasis del subgrupo no metastásico ($p=0.024$). Asimismo, se identificaron diferencias en la expresión de biomarcadores y en variables clínicas (estadio, carga tumoral y carga metastásica) entre los estratos de Qoppa alto y bajo.

Conclusiones: En esta cohorte piloto heterogénea, este estudio ofrece una prueba de concepto de que la integración de biomarcadores séricos onco-metabólicos con parámetros de laboratorio de rutina puede capturar señales biológicamente relevantes para la estratificación del riesgo metastásico en pacientes oncológicos. El nuevo parámetro compuesto definido, Qoppa, constituye una base para el desarrollo de futuras investigaciones en biomarcadores y el diseño de pruebas clínicas integrativas. Si bien, este trabajo requiere de una validación externa en cohortes multicéntricas más amplias antes de su aplicación clínica.

PALABRAS CLAVE

Biopsia líquida, biomarcadores, metástasis, medicina de precisión, progresión de la enfermedad.

ABSTRACT

Background: Early detection of metastatic progression remains a major challenge in precision oncology. Conventional radiological imaging cannot reliably identify micrometastatic disease. Although circulating tumor DNA is promising for minimal residual disease detection, the utility of onco-metabolic biomarkers remains unexplored. We hypothesized that integrating these biomarkers with global laboratory parameters would generate a synthetic variable with improved discrimination for *de novo* metastasis and mortality.

Methods: A prospective observational pilot study was performed in order to evaluate this hypothesis. Thirty patients (median age 64.4 years; 56.7% female) were enrolled with heterogeneous solid malignancies. Peripheral blood onco-metabolic biomarkers (n=11) were quantified using multiplexed beads Luminex immunoassay. Global analytical parameters (n=20) were derived from routine laboratory assessments. Hierarchical agglomerative clustering analysis generated two synthetic variables: Stigma (ς) and Qoppa (ϱ). Receiver operating characteristic curve analysis, Kaplan-Meier survival analysis, and Cox regression were used to evaluate the performance.

Results: Qoppa demonstrated acceptable discriminatory performance for *de novo* metastasis (AUC=0.78). For mortality prediction, performance varied by disease status (overall AUC=0.78): superior in non-metastatic patients (AUC=0.98) but negligible in those with baseline metastases. Kaplan-Meier analysis confirmed significant survival differences (p=0.042 overall survival; p=0.024 for metastasis-free survival in the non-metastatic subgroup). Differences in biomarker expression and clinical variables (stage, tumor burden, and metastatic burden) were recorded between the high and low Qoppa strata.

Conclusions: This small, heterogeneous pilot cohort provides a proof of concept that integrating onco-metabolic biomarkers with routine laboratory parameters may capture clinically relevant signals for metastatic risk stratification in oncology patients. This composite parameter, Qoppa, supports the generation of hypotheses for future biomarker-driven research and clinical test development. External validation in larger multicenter cohorts is required before clinical implementation.

KEYWORDS

Liquid biopsy, biomarkers, metastasis, precision medicine, disease progression.

AGRADECIMIENTOS

A ti, Marta

"Suerte que tú ríes".
-Facto Delafé y las Flores Azules (2009).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	7
I Introducción	31
1.1. Conceptos básicos del cáncer	33
1.2. Epidemiología actual del cáncer	34
1.3. Carcinogénesis	35
1.3.1. Autosuficiencia respecto a las señales de crecimiento	37
1.3.2. Evasión de la apoptosis	39
1.3.3. Insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento	40
1.3.4. Invasión tisular y metástasis	40
1.3.5. Potencial de replicación ilimitado	41
1.3.6. Inducción del acceso vascular	41
1.3.7. Evasión de la destrucción inmunomediada	42
1.3.8. Desregulación metabólica celular	42
1.3.9. Estado proinflamatorio tumoral	44
1.3.10. Inestabilidad genómica y mutacional	44
1.3.11. Desbloqueo de plasticidad fenotípica	45
1.3.12. Senescencia celular	45
1.3.13. Reprogramación no-mutacional epigenética	46
1.3.14. Variabilidad polimórfica del microbioma	46
1.4. Microambiente tumoral y secretoma	47
1.5. Proceso de formación de metástasis	48
1.5.1. El problema del diagnóstico en estadio metastásico	49
1.5.2. Principios generales de tratamiento en estadio metastásico	51
II Justificación	55

2.1. Planteamiento del presente estudio	57
2.2. Hipótesis	59
III Objetivos	61
3.1. Objetivo principal	63
3.2. Objetivos secundarios	63
IV Material y Método	65
4.1. Tipo de estudio	67
4.2. Población de estudio	67
4.2.1. Criterios de inclusión	68
4.2.2. Criterios de exclusión	68
4.2.3. Grupos de estudio	69
4.3. Materiales de estudio	69
4.3.1. Muestras de estudio	69
4.3.2. Variables de estudio	69
4.3.2.1. Datos basales	69
4.3.2.2. Antecedentes personales más relevantes	70
4.3.2.3. Datos clínicos de la enfermedad	71
4.3.2.4. Datos analíticos de la enfermedad	71
4.3.2.5. Datos de biomarcadores onco-metabólicos	72
4.4. Métodos de estudio	73
4.4.1. Revisión de la literatura para biomarcadores propuestos	75
4.4.2. Cronología planificada	75
4.4.3. Selección de candidatos	75
4.4.3.1. Identificación de población candidata	75
4.4.3.2. Reclutamiento de población candidata	75
4.4.4. Procedimiento de extracción de muestras	76
4.4.5. Procesado de muestras y conservación	76
4.4.6. Análisis de muestras	77
4.4.7. Procedimiento de seguimiento postextracción	78
4.4.8. Análisis de población de estudio	78

4.4.9. Análisis de los parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos	79
4.4.10. Análisis multivariante clínico - analítico	81
4.4.11. Producción científica	83
V Resultados	93
5.1. Resultados de revisión de la literatura sobre los biomacardores propuestos	95
5.1.1. Panel de biomarcadores onco-metabólicos seleccionados para el estudio	95
5.2. Análisis de la población de estudio	107
5.2.1. Estudio poblacional descriptivo	107
5.2.2. Análisis de la situación de la enfermedad oncológica	115
5.2.3. Evolución clínica de población de estudio	119
5.3. Análisis de los parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos	120
5.3.1. Descripción de valores obtenidos de biomarcadores y parámetros analíticos para la población de estudio	120
5.3.2. Test de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores	130
5.3.3. Matriz de correlaciones de Spearman de biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales frente a superficie corporal, índice de masa corporal y edad	132
5.3.4. Matriz de correlaciones de Spearman para el conjunto completo de variables de estudio	134
5.3.5. Clustering jerarquizado por agregación de variables para la población de estudio completa	136
5.3.6. Creación de variables sintéticas de estudio por clúster	139
5.4. Análisis multivariante clínico - analítico	141
5.4.1. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión	142
5.4.2. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión	146
5.4.3. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en toda la población	150
5.4.4. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión	154

5.4.5. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión	158
5.4.6. Estudio de diferencias de parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney	162
5.4.7. Estudio de diferencias clínicas entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney	163
5.4.8. Análisis de Kaplan - Meier y modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa . .	173
5.4.9. Análisis de Kaplan - Meier y modelo de regresión de Cox de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa	178
VI Discusión	181
6.1. Test de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores	183
6.2. Papel discriminador del riesgo de metástasis <i>de novo</i> y éxitus de Qoppa	183
VII Conclusiones	189
VIII Limitaciones y Futuras líneas de investigación	193
8.1. Limitaciones	195
8.2. Futuras líneas de investigación	196
IX Referencias bibliográficas	199
X Anexos	219

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AJCC, *American Joint Committee on Cancer*, Comité Conjunto Americano del Cáncer

ANGPTL4, *Angiopoietin-like 4*, Angiopoyetina-like 4

ATP, Adenosina trifosfato

CAFs, *Cancer-associated fibroblasts*, Fibroblastos asociados al cáncer

CATD, *Cathepsin D*, Catepsina D

DNA, *Deoxyribonucleic acid*, Ácido desoxirribonucleico

EDTA, *Ethylenediaminetetraacetic acid*, Ácido etilendiaminotetraacético

FGF21, *Fibroblast growth factor 21*, Factor de crecimiento de fibroblastos 21

FIGO, Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia

GDF15, *Growth differentiation factor 15*, Factor de crecimiento diferenciación 15

HGF, *Hepatocyte growth factor*, Factor de crecimiento hepatocitario

ICAM1, *Intercellular adhesion molecule 1*, Molécula de adhesión intercelular 1

IL6, *Interleukin 6*, Interleuquina 6

IL10, *Interleukin 10*, Interleuquina 10

IL18, *Interleukin 18*, Interleuquina 18

LEP, *Leptin*, Leptina

LOD, Límite operacional de detección

LPL, Lipoproteínlipasa

MFI, *Median fluorescence intensity*, Intensidad de fluorescencia mediana

MPO, *Myeloperoxidase*, Mieloperoxidasa

MRD, *Minimal Residual Disease*, Enfermedad residual mínima

NCI, *National Cancer Institute*, Instituto Nacional del Cáncer

OMIM, *Online Mendelian Inheritance in Man*, OMIM, Herencia mendeliana en línea en el hombre

SASP, *Senescence-Associated Secretory Phenotype*, Fenotipo secretor asociado a la senescencia

SEER, *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*, Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales

SBRT, *Stereotactic Body Radiation Therapy*, Radioterapia corporal esterotáctica

TARGA, Terapia antirretroviral de gran actividad

TGF- β , *Transforming Growth Factor- β* , Factor transformador del crecimiento beta

TMB, *Tumor Mutational Burden*, Carga mutacional tumoral

TNF- α , *Tumor Necrosis Factor- α* , Factor de necrosis tumoral alfa

UNIPROT, *The Universal Protein Resource*, UNIPROT, Recurso universal de proteínas

VEGF, *Vascular Endothelial Growth Factor*, Factor de crecimiento endotelial vascular

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Carcinogénesis y características del cáncer	38
Figura 2: Proceso de secreción de biomarcadores onco-metabólicos y metástasis	60
Figura 3: Flujo de trabajo del estudio	74
Figura 4: Diagrama de Gantt	75
Figura 5: Situación de la enfermedad oncológica de la población de estudio	117
Figura 6: Tamaño de grupos y subgrupos de la población de estudio	118
Figura 7: Evolución de población de estudio durante el seguimiento	119
Figura 8: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	121
Figura 9: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	122
Figura 10: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	123
Figura 11: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	124
Figura 12: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	125
Figura 13: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	126
Figura 14: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	127
Figura 15: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales	128
Figura 16: Perfil de parámetros analíticos globales discretizados	129
Figura 17: Análisis estadístico de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores mediante test de Shapiro - Wilk	131
Figura 18: Mapa de calor de la matriz de correlaciones de Spearman de biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales frente a superficie corporal, índice de masa corporal y edad	133

Figura 19: Mapa de calor de la matriz de correlaciones de Spearman para el conjunto completo de variables de estudio	135
Figura 20: Mapa de calor de los clústeres jerarquizados por variables y pacientes para la población de estudio completa	137
Figura 21: Dendrograma de los clústeres jerarquizados por variables para la población de estudio completa	138
Figura 22: Diagrama de distancias, aceleración y número de clústeres según método del codo (<i>elbow method</i>) por variables para la población de estudio completa	138
Figura 23: Diagrama de <i>Average Silhouette Score</i> y número de clústeres según método de <i>silhouette score</i> por variables para la población de estudio completa	139
Figura 24: Perfil de valores de variables sintéticas de clústeres Stigma (ζ) y Qoppa (φ)	140
Figura 25: Perfil de valores Qoppa (φ) distribuido por status metastásico a la extracción	141
Figura 26: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión	142
Figura 27: Curva ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión	143
Figura 28: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (φ_B) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión	144
Figura 29: Curva ROC para Qoppa-analítico (φ_G) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión	145
Figura 30: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión . .	146
Figura 31: Curva ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión . .	147

Figura 32: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión	148
Figura 33: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión	149
Figura 34: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población	150
Figura 35: Curva ROC para Qoppa (Q) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población	151
Figura 36: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población	152
Figura 37: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población	153
Figura 38: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión	154
Figura 39: Curva ROC para Qoppa (Q) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión	155
Figura 40: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión	156
Figura 41: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión	157
Figura 42: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes metastásicos a la inclusión	158
Figura 43: Curva ROC para Qoppa (Q) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes metastásicos a la inclusión	159
Figura 44: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes metastásicos a la inclusión	160
Figura 45: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes metastásicos a la inclusión	161

Figura 46: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para ANGPTL4, CATD y FGF21	164
Figura 47: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para ICAM1, lar y MPO . .	165
Figura 48: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para npm	166
Figura 49: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio al diagnóstico, extracción y postextracción	167
Figura 50: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para carga tumoral al diagnóstico, extracción y postextracción	168
Figura 51: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para carga metastásica ponderada al diagnóstico, extracción y postextracción	169
Figura 52: Análisis de diferencias entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio, carga tumoral y carga metastásica ponderada postextracción	170
Figura 53: Análisis de diferencias entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para metástasis de novo postextracción	171
Figura 54: Análisis de diferencias entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio y carga metastásica ponderada al diagnóstico	172
Figura 55: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa	174
Figura 56: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa .	175

Figura 57: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa . . .	176
Figura 58: Análisis de modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa	177
Figura 59: Análisis de modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa	177
Figura 60: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa	179
Figura 61: Análisis de modelo de regresión de Cox de libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa	179

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Tropismo de metástasis en principales tumores primarios	50
Tabla 2:	Demografía de metástasis en principales localizaciones	52
Tabla 3:	Variables recogidas asociadas a datos basales	70
Tabla 4:	Variables recogidas asociadas a antecedentes personales	70
Tabla 5:	Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual	84
Tabla 6:	Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual	85
Tabla 7:	Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual	86
Tabla 8:	Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual (1/2)	87
Tabla 9:	Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual (2/2)	88
Tabla 10:	Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual discretizadas (1/2)	89
Tabla 11:	Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual discretizadas (2/2)	90
Tabla 12:	Relación de biomarcadores onco-metabólicos analizados	91

Tabla 13: Biomarcador ANGPTL4	96
Tabla 14: Biomarcador CATD	97
Tabla 15: Biomarcador FGF21	98
Tabla 16: Biomarcador GDF15	99
Tabla 17: Biomarcador HGF	100
Tabla 18: Biomarcador ICAM1 (CD54)	101
Tabla 19: Biomarcador IL6	102
Tabla 20: Biomarcador IL10	103
Tabla 21: Biomarcador IL18	104
Tabla 22: Biomarcador LEP	105
Tabla 23: Biomarcador MPO	106
Tabla 24: Características de la población de estudio (1/5)	110
Tabla 25: Características de la población de estudio (2/5)	111
Tabla 26: Características de la población de estudio (3/5)	112
Tabla 27: Características de la población de estudio (4/5)	113
Tabla 28: Características de la población de estudio (5/5)	114

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Método de <i>silhouette score</i> para la determinación del número óptimo de clústers por variables en el análisis de parámetros analíticos y de biomarcadores órgano - específicos	221
Anexo 2. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de <i>JER3</i> y <i>JER11232</i>	
Anexo 3. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de <i>JER3</i> y <i>JER11</i>	236
Anexo 4. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de <i>JER3</i> y <i>JER11</i>	240
Anexo 5. Informe positivo del Comité de Ética de Investigación y Medicamentos de HM Hospitales	245
Anexo 6. Informe positivo del Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia	249
Anexo 7. Publicación en revista indexada JCR « <i>Journal of Clinical Medicine</i> »	253

I - INTRODUCCIÓN

I – INTRODUCCIÓN

1.1. CONCEPTOS BÁSICOS DEL CÁNCER

El concepto de cáncer ha evolucionado a lo largo de la historia a medida que se ampliaban los conocimientos en biología, bioquímica, fisiopatología o anatomía, entre otras materias. Esto ha producido cambios en su definición y una progresión en la manera de entender la enfermedad a lo largo de los siglos [1]. A día de hoy, podemos definir el cáncer como un conjunto de enfermedades que tienen en común el desarrollo de células anormales en algún tejido u órgano, con un posterior crecimiento incontrolable más allá de los límites fisiológicos habituales. Con el tiempo adecuado, dicho crecimiento puede dar lugar a la invasión de los tejidos colindantes o a su diseminación e invasión a distancia en un proceso denominado metastatización [2-4].

El concepto de tumor es más amplio, entendiéndose como tal una masa celular fruto del crecimiento excesivo de una población celular determinada o primaria. Dentro de dicho concepto distinguimos entre tumor benigno y tumor maligno. Mientras que los términos de tumor maligno y cáncer son aparentemente equivalentes, la diferencia entre tumor benigno y cáncer radica en la capacidad de invasión a los tejidos cercanos o a distancia que poseen estos últimos [4]. A lo largo del presente estudio, se utilizará el término tumor haciendo alusión exclusivamente a los tumores malignos y como término intercambiable con el de cáncer. En aquellos casos donde se haga referencia a los tumores, en general, abarcando aquellos de comportamiento benigno y maligno se especificará explícitamente.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA ACTUAL DEL CÁNCER

El cáncer es uno de las principales causas de morbilidad y mortalidad global. Aproximadamente 19 millones de pacientes se diagnostican anualmente en todo el mundo con una mortalidad anual aproximada de 9 millones de pacientes [5]. De manera global, la incidencia de cáncer aumenta de forma sostenida por el envejecimiento poblacional, el crecimiento demográfico y los factores de riesgo como la obesidad, sedentarismo, tabaco y alcohol [6-9]. Esta realidad es aún más compleja, ya que existe un incremento de cáncer en la población inferior a 50 años en los países desarrollados que no puede explicarse completamente a día de hoy con los datos actuales [10].

En España, la incidencia de cáncer ha presentado un incremento continuo en el periodo 2022-2026. Las estimaciones de nuevos casos anuales entre 2022 y 2024 se sitúan en torno a 280 mil, con una previsión de 300 mil casos para 2026, según los informes de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). De manera detallada, se objetivan el cáncer colorrectal, de mama, próstata y pulmón como las principales neoplasias malignas diagnosticadas en nuestro país en los últimos años.

Respecto a las causas de mortalidad, aunque las enfermedades cardiovasculares siguen siendo de manera general la principal causa de muerte (1 de cada 3 en la población de los países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, *Organisation for Economic Co-operation and Development*, OECD) y el cáncer se sitúa en un segundo puesto (1 de cada 5 muertes en los países de la OECD), en los países de alto desarrollo económico comienza a despuntar el cáncer como primera causa de muerte [7-9, 11].

La mortalidad por cáncer está determinada por la compleja interrelación entre factores de riesgo modificables, estadio al diagnóstico y posibilidad de acceso a tratamientos innovadores como inmunoterapia y terapias dirigidas. Actualmente, se evidencia el impacto creciente del cáncer en la mortalidad española. Según datos oficiales del Instituto Nacional de Estadística en 2024, los tumores se consolidaron

como la principal causa de defunción (26.7% del total), superando por primera vez al grupo de enfermedades cardiovasculares (25.9%) [12-17].

1.3. CARCINOGENESIS

El proceso por el cual una célula del cuerpo humano evoluciona a una célula tumoral se denomina carcinogénesis, utilizándose en general oncogénesis y tumorigénesis como términos nuevamente equivalentes. Mediante este proceso, una célula deja de coexistir con el resto de células de su entorno para desarrollar un crecimiento anormal e incontrolado sin respuesta a los diferentes mecanismos fisiológicos de regulación, esquivando incluso el control inmune [4]. Cabe destacar que un tumor no está únicamente constituido por células cancerígenas con capacidad de invasión y que no respetan la homeostasis, sino también por una gran variedad de células normales que influyen en el comportamiento del tumor; a esto se le denomina microambiente tumoral [2].

Aunque no se ha definido el orden en el que transcurren los cambios necesarios para la carcinogénesis, el desarrollo de la biología molecular y del estudio de los mecanismos fisiopatológicos de control han permitido definir una serie de hitos en dicha secuencia que se consideran necesarios para el desarrollo tumoral [2, 18]. Este conjunto de características a adquirir por una célula para alcanzar el comportamiento tumoral fue recopilado por Douglas Hanahan y Robert A. Weinberg en Hanahan y Weinberg, ya en el año 2000 [19]. En dicho artículo, se describieron seis capacidades adquiridas fundamentales que deben presentar las células cancerígenas:

- Evasión de la apoptosis.
- Autosuficiencia respecto a las señales de crecimiento.
- Insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento.
- Invasión tisular - metástasis.

- Potencial de replicación ilimitado.
- Inducción del acceso vascular.

Asimismo, estos autores propusieron que si bien estos hitos son adquiridos por toda célula cancerígena tras el tiempo suficiente, no queda definida una secuencia cronológica ni mecánica única para ello [19].

A lo largo de las últimas décadas, el avance en el conocimiento de los mecanismos de regulación celular y el desarrollo de nuevas técnicas moleculares ha facilitado que se definan, no sólo capacidades adquiridas de las células tumorales, sino también características habilitantes que hacen posible el desarrollo posterior de otras capacidades adquiridas. Por ello, una década más tarde, ya en 2010, los mismos autores ampliaron dicha recopilación añadiendo cuatro características más, dos capacidades adquiridas y dos características habilitantes:

- Evasión de la destrucción inmunomediada.
- Desregulación metabólica celular.
- Estado proinflamatorio tumoral.
- Inestabilidad genómica y mutacional [20].

Actualmente la nueva evidencia científica ha ido aún más allá y se ha ampliado más el número de capacidades adquiridas consideradas como fundamentales para el desarrollo tumoral. En 2022, Douglas Hanahan amplió las diez características previas ya descritas con la inclusión de dos nuevas capacidades adquiridas y dos características habilitantes más:

- Desbloqueo de plasticidad fenotípica.
- Senescencia celular.
- Reprogramación no-mutacional epigenética.

- Variabilidad polimórfica del microbioma [18].

El conjunto de todos estos hitos de la carcinogénesis podemos verlos representados en la Figura 1 extraída de Hanahan 2022.

Los mecanismos moleculares que explican cada una de las características descritas como habilitantes o capacidades adquiridas son múltiples y a veces interconectados. Aunque comparten distintas vías, la adquisición de una misma capacidad hace posible que desencadene el desarrollo de otras características adquiridas. Dentro de estos procesos de señalización, ocurre la activación y silenciamiento de múltiples genes, según su estado e impacto en la carcinogénesis podemos distinguir los siguientes genes [21]:

- **Gen supresor tumoral:** Son genes presentes de manera constitutiva en células sanas y cuya actividad inhibe la proliferación y crecimiento celular. La mutación de las dos copias de dichos genes produce la pérdida de actividad inhibitoria, promoviendo la carcinogénesis.
- **Protooncogen:** Son genes presentes de forma normal en células sanas, la mutación o sobreexpresión de los mismos conlleva la conversión a una forma modificada que induce la proliferación y crecimiento celular. Dicha forma se denomina oncogen. Por lo tanto, la mutación de una de las dos copias de dichos genes también puede estimular por sí misma la carcinogénesis.
- **Oncogen:** Es la forma mutada o sobreexpresada de un protooncogen, presentando la activación de la proliferación y crecimiento celular.

1.3.1. Autosuficiencia respecto a las señales de crecimiento

La proliferación crónica sostenida en el tiempo puede considerarse una capacidad adquirida fundamental en el desarrollo tumoral. La homeostasis del número celular

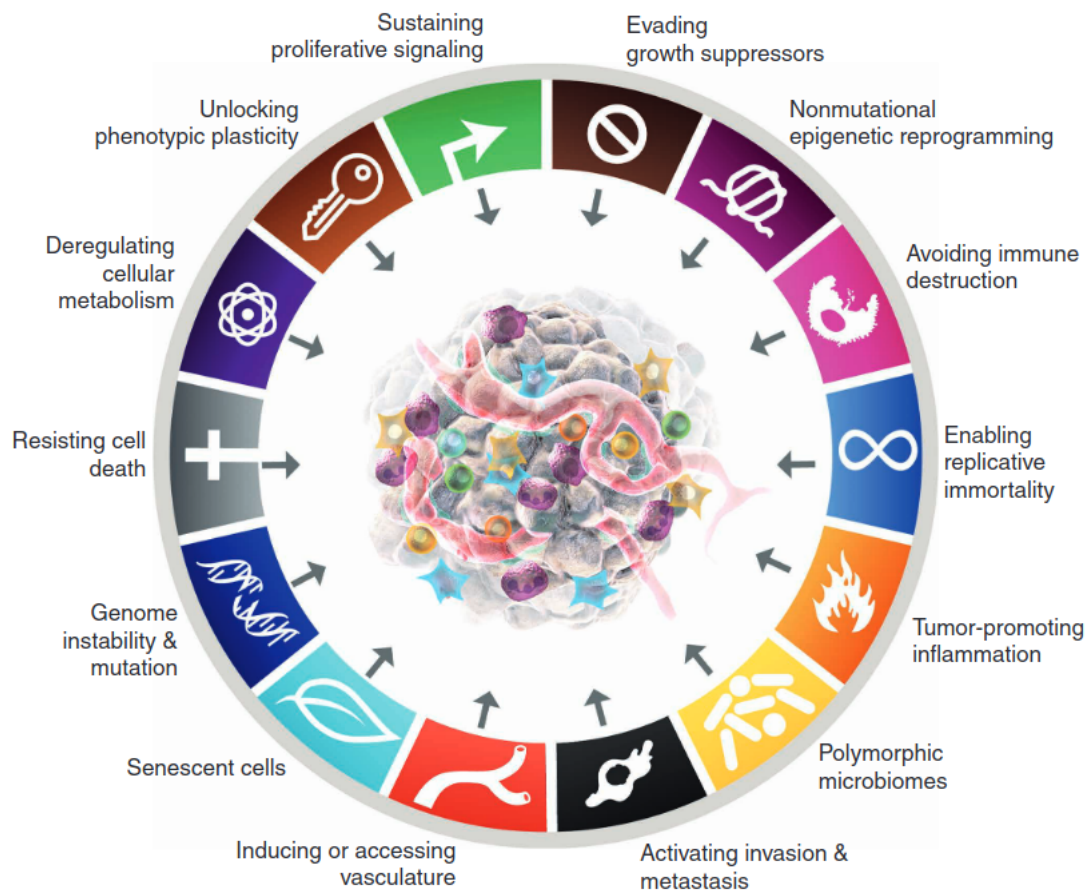


Figura 1: Carcinogénesis y características del cáncer.

Extraído de Hanahan 2022. El conjunto de capacidades adquiridas y características habilitantes registradas en este diagrama ha sufrido múltiples cambios desde su primera publicación en el año 2000 debido principalmente al avance en el conocimiento de la regulación celular y la biología molecular. De unos seis hitos reseñables en la carcinogénesis hemos pasado, actualmente, a catorce, que con alta probabilidad se verán modificados y ampliados en el futuro (con la adquisición de nuevas evidencias). Cabe destacar que no existe un mecanismo único ni un orden cronológico exclusivo para el desarrollo de estos hitos en el proceso de oncogénesis [18].

mantiene la arquitectura tisular normal a través de una regulación bien balanceada de los factores de crecimiento y de proliferación secretados.

Estas señales de crecimiento y proliferación tienen a menudo un componente paracrino y temporal en el tejido sano que dificulta su estudio. En el cáncer, se encuentran habitualmente desreguladas, siendo autosuficientes independientemente de los requerimientos del resto del tejido sano. Se han identificado diversos mecanismos para ello, como la señalización autocrina

mediante la secreción de ligandos con aumento en la expresión de receptores o amplificación de la señalización proveniente de células sanas del microambiente tumoral [2, 20].

1.3.2. Evasión de la apoptosis

La apoptosis es un mecanismo programado de muerte celular inducido por señales desencadenantes. Aunque las vías moleculares implicadas en la apoptosis son múltiples, podemos destacar la vía del gen TP53 [4, 20].

El gen TP53 codifica un factor de transcripción denominado p53 que en condiciones normales se encuentra en el citoplasma asociado a MDM2. Cuando está unido permite su eliminación por el proteasoma. La aparición de daño celular o en el propio material genético (DNA y RNA) produce el desacople de p53 de MDM2 mediante distintos mecanismos, aumentando su concentración libre citoplasmática. Este aumento de p53 libre implica que se una seguidamente al DNA nuclear y, por diferentes vías, deriva en una parada transitoria del ciclo celular con la finalidad de reparar ese daño en el DNA. Si esta parada es permanente, puede dar lugar a la senescencia celular o a la inducción de la apoptosis [21].

En las células tumorales es frecuente encontrar una pérdida de funcionalidad de p53 como capacidad adquirida, lo cual propicia la acumulación de mutaciones desencadenantes (*driver mutations*) en oncogenes que tienen como consecuencia la activación de la carcinogénesis [2, 20, 21]. Por otra parte, las catepsinas son enzimas que degradan la matriz extracelular permitiendo el avance e invasión del frente tumoral. Más recientemente, se ha visto que la inhibición de la catepsina D (*Cathepsin D*, CATD) aumenta la activación del factor transcripcional Nrf2 e induce la apoptosis celular mediada por fármacos [22].

1.3.3. Insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento

Paralelamente a la autoestimulación de señales de crecimiento y proliferación, los tumores desarrollan como capacidad adquirida la posibilidad de inhibir la regulación negativa de la proliferación celular. Esta regulación está mediada por múltiples vías moleculares redundantes. En muchas de ellas, se ha descrito que los genes supresores de tumores como RB o TP53 actúan como puntos de control antes de iniciar un cambio de fase del ciclo celular. La ausencia de esta inhibición permite una proliferación celular persistente contribuyendo de nuevo a la carcinogénesis [2, 20]. En este sentido, la angiopoyetina-like 4 (*angiopoietin-like*, ANGPTL4) es una glicoproteína que ha mostrado efectos protumorales al favorecer la proliferación, la supervivencia celular, la angiogénesis y la metástasis en distintos tipos de cánceres [23].

1.3.4. Invasión tisular y metástasis

En los tejidos sanos las células normales limitan su proliferación según la densidad celular mediante señalización paracrina y señalización directa. Dentro de esta última señalización, una de las vías de inhibición por contacto más relevantes es la mediada por la proteína Merlina. Esta proteína está codificada por el gen NF2 y modula la inhibición por contacto mediante su acoplamiento con las moléculas de E-cadherina que están presentes entre células epiteliales vecinas. En los tumores, frecuentemente se observa una disminución de la expresión de E-cadherina, y ello insensibiliza a la inhibición por contacto, facilitando la invasión local [2, 20]. Esta capacidad adquirida del cáncer conlleva la destrucción de la arquitectura tisular habitual y favorece la invasión a otros tejidos.

1.3.5. Potencial de replicación ilimitado

La población celular sana del cuerpo humano tiene una capacidad de replicación limitada, ello se traduce en que, tras un número suficiente de replications, una célula entra en senescencia o en muerte celular. Dicha limitación está mediada en gran parte por los telómeros, secuencias repetitivas de DNA presentes en los extremos de los cromosomas y que los protegen de la degradación. Estos telómeros se acortan en cada replicación con lo que se produce una limitación en el número posible de replications [2, 20]. La longitud de los telómeros se asocia también con el envejecimiento celular.

Sin embargo, en el caso de las células tumorales, dicha limitación está ausente ya que las células tumorales presentan la capacidad adquirida de replicación ilimitada por lo que se consideran «células inmortalizadas». En estos casos, se observa una actividad aumentada de la polimerasa telomerasa que alarga los telómeros con nuevas secuencias repetitivas de DNA [2, 20].

1.3.6. Inducción del acceso vascular

La replicación celular, así como el mantenimiento de la masa celular existente, obligan a los tumores a disponer de oxígeno, nutrientes y de una eliminación adecuada de metabolitos. Todo ello con el objetivo de poder persistir y seguir dividiéndose. Inicialmente, en volúmenes tumorales bajos la transmisión de sustancias por ósmosis es factible, pero conforme progresa la carga tumoral se vuelve insuficiente y se produce un cambio entre los factores antiangiogénicos y los proangiogénicos secretados en el cáncer (*angiogenic switch*). Este desbalance conlleva la capacidad adquirida hacia una neoangiogénesis activada de manera continua para desencadenar la formación de neovascularización distorsionada, ramificada, con exceso de capilaridad y tendencia a fugas y hemorragias [2, 20]. De entre los factores liberados por las células endoteliales y que demuestran una elevada proliferación

necesaria en el avance de la carcinogénesis destaca la molécula intracelular de adhesión 1 (*Intercellular adhesion molecule 1*, ICAM1) [24]. Esta glicoproteína ha sido recientemente utilizada como marcador de pronóstico tumoral por Yang et al. en distintos tumores [25].

1.3.7. Evasión de la destrucción inmunomediada

Estudios observacionales en una población inmunosuprimida y ensayos realizados en ratones con silenciamiento de la inmunidad innata y/o adquirida han demostrado que el sistema inmune tiene un papel fundamental en la erradicación de precursores tumorales y tumores incipientes [2, 20]. La evidencia más actual muestra además, que las células cancerígenas fomentan una respuesta altamente inmunogénica y pueden sufrir destrucción por parte del sistema inmune. Sin embargo, también puede ocurrir que se secreten biomarcadores, proteínas o metabolitos que inducen al silenciamiento de esa respuesta inmune o de la detección del propio cáncer. Este es el caso concreto del factor de crecimiento de fibroblastos 21 (*Fibroblast growth factor*, FGF21), secretado por los fibroblastos del microambiente tumoral, que favorece la evasión inmune tumoral [26]. Esta capacidad adquirida puede ser mediada por diferentes vías como los puntos de control inmunitario PD1 - PD1L y CTLA4 - CD80/CD86 [2, 4, 27]. Por otro lado, la mieloperoxidasa (*Myeloperoxidase*, MPO) es una enzima liberada por células del sistema inmune como neutrófilos o células mieloides y parece mantener una estrecha relación con la resistencia adquirida a anticuerpos monoclonales específicos para los puntos de control inmunitario, alterando la respuesta a tratamientos [28].

1.3.8. Desregulación metabólica celular

El crecimiento desmedido y crónicamente mantenido obliga a un consumo energético continuo y a la disponibilidad de precursores moleculares que permitan la replicación celular, así como mantener el microambiente tumoral. Con este

fin, las células tumorales presentan la capacidad adquirida de desregular el metabolismo celular habitual utilizando vías metabólicas alternativas. Una de estas vías metabólicas es la fermentación láctica. Si bien la glucólisis está presente de manera fisiológica en situaciones anaeróbicas, las células cancerígenas pueden hacer uso de la glucólisis aeróbica incluso en la presencia de oxígeno. Esta capacidad adquirida les proporciona menos producción de ATP por molécula de glucosa respecto a la fosforilación oxidativa mitocondrial, pero a cambio les permite generar precursores (nucleótidos, aminoácidos, lípidos...) que se utilizarán posteriormente para la replicación o la formación de nuevas estructuras intracelulares (como haces de actina necesarios en la migración e invasión). Esta glucólisis menos eficiente se denomina efecto Warburg [29].

Desde el punto de vista temporal, se ha registrado una heterogeneidad en las vías metabólicas tumorales. La oxigenación del tumor varía con el tiempo debido a la cambiante vasculatura tumoral, ello puede producir estados de hipoxia que potencian el uso de la glucólisis aeróbica respecto a otras vías. Asimismo se ha visualizado una heterogeneidad metabólica espacial, ya que dentro de un mismo tumor pueden coexistir diferentes subpoblaciones con distintas vías metabólicas predominantes (fibroblastos, células dendríticas, células inmunes, tumorales...). En concreto, se ha observado que determinadas subpoblaciones tumorales pueden desarrollar ventajas competitivas al utilizar como fuente de energía el lactato (fermentación) producido por otras células tumorales. Este lactato acidifica el medio tumoral, lo que incluso degrada la matriz extracelular, facilitando la migración tumoral [20].

En este sentido, distintas proteínas liberadas por el hígado como por ejemplo, el factor de crecimiento de hepatocitos (*Hepatocyte growth factor*, HGF) se han visto relacionadas con la regulación metabólica necesaria en el proceso tumoral [30] y elevados niveles plasmáticos de HGF se asocian con un peor pronóstico en pacientes con distintos tipos de cáncer [31]. En el contexto del cáncer de mama, la leptina, una hormona liberada principalmente a nivel gástrico y en el tejido adiposo, pero también por células del microambiente tumoral, parece regular el metabolismo

tumoral [32, 33].

En esta reprogramación metabólica, el FGF21 se asocia con un incremento del transporte de glucosa al interior celular debido a la sobreexpresión de transportadores para la glucosa en células hepáticas tumorales [34]. Por su parte, el factor de crecimiento y diferenciación 15 (*Growth differentiation factor 15*, GDF15) es un regulador metabólico que incrementa el efecto Warburg en células tumorales, esto es, induce la fermentación de glucosa a lactato (menos eficiente) en presencia de oxígeno [35].

1.3.9. Estado proinflamatorio tumoral

La necrosis de las células tumorales produce liberación de precursores inflamatorios en el microambiente tumoral como, por ejemplo, las interleuquinas 6, 10 y 18 (IL6, IL10, IL18), el factor de necrosis tumoral α (*Tumor necrosis factor*, TNF α), a una escala incluso mayor que la apoptosis. Estos factores proinflamatorios atraen a continuación diversas células que amplifican la respuesta inflamatoria: granulocitos, linfocitos, macrófagos, fibroblastos, plaquetas, entre otras. Esta respuesta inflamatoria puede favorecer el crecimiento tumoral así como la angiogénesis. Por tanto, la necrosis en los tumores constituye una característica habilitante, ya que representa una ventaja dentro del equilibrio adecuado entre población tumoral y necrosis [20].

1.3.10. Inestabilidad genómica y mutacional

Fisiológicamente los sistemas de control modulan las tasas mutacionales durante la replicación celular, pero en las células tumorales estas tasas mutacionales se ven incrementadas. Esta capacidad habilitante se denomina inestabilidad genómica y permite a la célula tumoral adquirir nuevas funciones que le aporten una ventaja de supervivencia [20].

Los mecanismos que suceden para ello en la célula tumoral son diversos, afectando desde a los sistemas de control de DNA en varios puntos como en la detección del daño genómico, la maquinaria de reparación, hasta la intercepción de factores mutagénicos. Esto da lugar a la aparición de mutaciones somáticas que son potenciadas por la existencia de deficiencias en la reparación del DNA (como por ejemplo los oncogenes BRCA1 y 2). Como consecuencia de esa inestabilidad genómica aparecerá una mayor diversidad genética en la población tumoral, favoreciendo que un tumor sea heterogéneo y presente distintas subpoblaciones celulares en su interior. Esto facilita la supervivencia al aumentar la probabilidad de que existan clones que se adaptan a los diferentes microambientes espaciales y temporales, y evadan al sistema inmune antitumoral o los posibles tratamientos recibidos. [20].

1.3.11. Desbloqueo de plasticidad fenotípica

La capacidad adquirida de plasticidad fenotípica permite a las células cancerígenas desdiferenciarse del estado celular determinado propio del tejido donde se han originado. Esta plasticidad fenotípica puede expresarse mediante la desdiferenciación de células somáticas maduras hacia células progenitoras que presentan una mayor pluripotencialidad. Ello ocurre mediante el bloqueo de la diferenciación de células progenitoras a células maduras, o bien, mediante la transdiferenciación por la cual células progenitoras que deberían dar lugar a ciertas células maduras terminan originando células pseudodiferenciadas metaplásicas con otra diferenciación alternativa a la esperada [18].

1.3.12. Senescencia celular

La senescencia celular es uno de los posibles finales del ciclo vital de una célula junto con la apoptosis, necrosis o autofagia. El programa de senescencia implica una interrupción proliferativa habitualmente irreversible, y la célula detiene su ciclo

celular. Dicha característica ha sido considerada históricamente como puramente protectora dentro de la carcinogénesis al interrumpir la hiperproliferación. Sin embargo, la evidencia más reciente mantiene que desempeña un papel promotor de la carcinogénesis. En este contexto, las células senescentes pueden llegar a desarrollar un fenotipo especial denominado «fenotipo secretor asociado a la senescencia» (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*, SASP) que libera al microambiente tumoral y a la circulación sanguínea diversas citoquinas (IL6, IL8) y biomoléculas protumorales (GDF15). Asimismo, también se ha objetivado la aparición de senescencia transitoria como mecanismo de resistencia terapéutica [18].

1.3.13. Reprogramación no-mutacional epigenética

La reprogramación no-mutacional epigenética es la característica habilitante por la cual se regula la expresión génica por inducción epigenética. Esto implica que ciertas condiciones del entorno que rodea al tumor promueven la activación o silenciamiento de genes mediante diversos mecanismos más allá de la aparición de mutaciones en oncogenes o genes supresores de tumores. Por ejemplo, la disminución de la actividad de las desmetilasas por la hipoxia en el microambiente tumoral, conlleva a una hipermetilación de regiones promotoras de la transcripción, produciendo el silenciamiento de ciertos genes [4, 18, 36].

1.3.14. Variabilidad polimórfica del microbioma

El microbioma se define como el conjunto de microorganismos independientes que colonizan los tejidos barrera del cuerpo humano como la epidermis, mucosa del tracto gastrointestinal, bronquial o genitourinario. El microbioma no es único, siendo específico de cada individuo y pudiendo modificarse a lo largo del tiempo por lo que posee una variabilidad individual y temporal dinámica. Se han identificado diferentes organismos asociados al microbioma que poseen impacto tanto promotor como protector para el desarrollo de tumores. Es por ello que

la variabilidad del microbioma es una característica habilitante en el proceso de carcinogénesis [18].

1.4. MICROAMBIENTE TUMORAL Y SECRETOMA

El microambiente tumoral es el conjunto de células fisiológicamente normales, moléculas, tejido conectivo, vasos sanguíneos y linfáticos que rodean las células tumorales y sirven como tejido de soporte y nutricional al tumor. Algunas de estas células son los fibroblastos asociados al cáncer (*Cancer-associated fibroblasts*, CAFs), plaquetas, células inmunitarias, células endoteliales y pericitos [2, 4, 18].

Existe una relación multilateral del cáncer con su entorno tumoral. Por una parte, el tumor induce cambios en el microambiente tumoral y este interactúa a su vez con el tumor. Sin embargo, por otra parte las propias células del entorno tumoral interactúan además entre sí. Todo esto da lugar a que el microambiente tumoral sea un conjunto de ecosistemas complejos, heterogéneos y dinámicos que evolucionan a lo largo del tiempo y el espacio [2]. Los modelos actuales hipotetizan que estas interrelaciones reprograman a las células que constituyen el microambiente tumoral mediante regulación epigénética, más que inducir en ellas mutaciones que fomenten el desarrollo tumoral [18].

Además del componente celular no tumoral que constituye el microambiente tumoral, las neoplasias secretan gran cantidad de sustancias a ese espacio extracelular. Este conjunto de moléculas se denomina secretoma tumoral y abarca una gran variedad de sustancias tanto solubles como almacenadas en vesículas extracelulares: citoquinas, enzimas, factores de crecimiento, factores angiogénicos, factores hormono - metabólicos y micro-RNA, entre otros [37]. Este secretoma participa en la comunicación celular mediante mecanismos autocrinos, paracrinos o endocrinos y está implicado en los procesos de inmunoseñalización, extravasación, formación del nicho premetastásico y metastatización [37-39].

1.5. PROCESO DE FORMACIÓN DE METÁSTASIS

La literatura actual muestra que la diseminación metastásica es un fenómeno complejo y dinámico, y por tanto, no sigue una secuencia lineal ni predecible. Este proceso comprende varias etapas que pueden coexistir temporal o espacialmente dentro de un mismo tumor primario y diferentes tejidos diana, tales como la invasión de vasos sanguíneos o linfáticos, la infiltración perineural, la extravasación de células tumorales, períodos de latencia tumoral, así como la formación de micrometástasis y macrometástasis [40, 41].

En función de las neoplasias primarias se observan patrones de diseminación metastásica diferentes, con aparición de metástasis en ciertas localizaciones de manera preferente respecto a otras [42, 43]. Este fenómeno se denomina tropismo orgánico de las neoplasias para la formación de metástasis y ha motivado un interés en conocer los mecanismos biológicos que lo producen. Un resumen del tropismo de las principales neoplasias primarias y localizaciones metastásicas se encuentra recogido en la Tabla 1.

La hipótesis de que el proceso de metastatización no es exclusivamente aleatorio y que las células cancerígenas muestran preferencias por ciertos tejidos data del siglo XIX. En 1889, Steven Paget publica la hipótesis de *seed and soil* (semilla y suelo), en la que desarrolla que hay una interacción entre las células cancerígenas primarias (*seed*) y los tejidos periféricos donde podría metastatizar (*soil*), tal que en función de la estirpe de origen de las células tumorales, entre otros parámetros, existen unos tejidos donde preferentemente se desarrollarán metástasis al ser más favorable dicha interacción [42-44].

Este proceso de metastización con tropismo tisular parece estar favorecido por la aparición de nichos premetastásicos en diferentes órganos según el tumor primario original. Los nichos premetastásicos son estructuras dentro de órganos aún sanos que constituyen un microambiente anómalo caracterizado por la acumulación de células inmunes, fibroblastos y proteínas que alteran la arquitectura tisular local del

órgano diana. La formación de estos nichos es promovida por el tumor primario mediante la secreción de moléculas solubles y exosomas que al alcanzar órganos con capilaridad suficiente para retenerlos desarrollan una respuesta inmuno - inflamatoria frente a ellos. Este entorno especial facilita la atracción y supervivencia de las células tumorales diseminadas que alcancen el nicho premetastásico, dando lugar a unas condiciones mucho más favorables que las del resto del órgano diana para que proliferen dichas células y se desarrollen las metástasis [40, 41, 43]. Este proceso ocurre más fácilmente en órganos de gran volumen y alta densidad capilar, principalmente hígado, pulmón y cerebro [45, 46]. La respuesta fisiopatológica a este proceso se expresa mediante la liberación de biomarcadores onco-metabólicos, pudiendo ser detectados en sangre periférica [47, 48].

Aunque se han realizado grandes esfuerzos en la investigación básica para estudiar el proceso de metastización, la evidencia obtenida muchas veces no ha podido ser trasladada al escenario clínico, reduciendo, por tanto, su impacto. En general, la mayoría de tratamientos farmacológicos testados en el escenario metastásico carecen de un enfoque integral sobre los mecanismos de metastatización, lo cual puede lastrar su efecto [42].

1.5.1. El problema del diagnóstico en estadio metastásico

El estado metastásico empeora la supervivencia y calidad de vida de los pacientes, siendo responsable de más del 90% de la mortalidad en tumores sólidos [42, 49-51]. Las metástasis más frecuentes son las hepáticas, óseas, pulmonares y cerebrales con una incidencia entre aproximadamente 8 y 22 casos por año y 100000 habitantes según datos extraídos del análisis de datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (*Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*, SEER) del Instituto Nacional del Cáncer (*National Cancer Institute*, NCI) de Estados Unidos [42, 49-52]. Dichos datos demográficos están recopilados en la Tabla 2.

Tabla 1: Tropismo de metástasis en principales tumores primarios.

Tumor primario	Metástasis			
	Hueso	Cerebro	Hígado	Pulmón
Mama	+++	+++	+	+
Pulmón y árbol bronquial	++++	++++	++	++++
Páncreas	+	ND	++++	+++
Próstata	+++	ND	+	+
Hígado	+	ND	+	++
Colorrectal	+	ND	+++	++
Estómago	+	ND	+++	++
Huesos y articulaciones	ND	ND	ND	++++
Melanoma	+	+	+	+

++++: Extremadamente frecuente
 +++: Muy frecuente
 ++: Frecuente
 +: Poco frecuente
 ND: No determinado

Elaboración propia. Adaptación de Li et al. 2025 [42].

Las metástasis pueden ser sincrónicas si son diagnosticadas en el momento del diagnóstico del tumor o hasta dentro de los primeros tres meses tras el diagnóstico, o bien metacrónicas si el diagnóstico es posterior. Cabe destacar que la definición de metástasis sincrónicas no es uniforme, considerándose en ciertos estudios como sincrónicas únicamente aquellas presentes al diagnóstico de cáncer y en otros estudios siendo variable el periodo ventana posterior entre 3 y 6 meses tras diagnóstico [53-58].

En especial, el pronóstico es aún peor en los pacientes metastásicos al diagnóstico. Tanto en el caso de las metástasis pulmonares como cerebrales sincrónicas, el diagnóstico en estadio metastásico implica un peor pronóstico como factor

independiente por sí mismo [49, 51]. Esto es de gran importancia, ya que aproximadamente un 5% de los pacientes diagnosticados de cáncer tiene metástasis pulmonares o hepáticas sincronas al diagnóstico. Esta cifra aumenta hasta un 13% en el caso de las metástasis pulmonares donde la neoplasia primaria es asimismo pulmonar o hasta un 34% en el caso de metástasis hepáticas y neoplasia primaria pancreática [50, 51]. Este peor pronóstico y morbilidad se observa también en otras localizaciones como en el caso de las metástasis cerebrales donde la barrera hematoencefálica supone un problema para el acceso de los fármacos a las lesiones, o en el caso de las metástasis óseas donde aumenta el riesgo de fracturas o dolor oncológico que afecta no sólo a la calidad de vida, sino también a la supervivencia [59].

La detección de metástasis se realiza en la práctica clínica habitual mediante pruebas de imagen que presentan limitaciones significativas en la identificación de enfermedad micrometastásica. Estas técnicas requieren un volumen tumoral mínimo para su visualización y no permiten una monitorización continua y no invasiva durante el seguimiento clínico [60, 61]. Consecuentemente, existe una ventana temporal importante entre la aparición de metástasis biológicamente relevantes y su detección radiológica clínica, durante la cual los pacientes podrían beneficiarse de intervenciones tempranas. Es por ello que la búsqueda de biomarcadores no invasivos para la detección temprana del riesgo metastásico se ha convertido en un área de investigación prioritaria en oncología de precisión [62, 63]. Los biomarcadores podrían permitir la identificación de subgrupos de pacientes de alto riesgo, una estratificación terapéutica apropiada y la monitorización de la respuesta terapéutica con mayor sensibilidad que los métodos convencionales [60-63].

1.5.2. Principios generales de tratamiento en estadio metastásico

En la mayoría de las neoplasias, el tratamiento en estadio metastásico tiene finalidad paliativa de control de la enfermedad. Sólo en ciertas excepciones es

Tabla 2: Demografía de metástasis en principales localizaciones.

Demografía	Metástasis			
	Hueso	Cerebro	Hígado	Pulmón
Incidencia (casos por año y 100000 habitantes)	18.8	8.3 - 14.3	22.6	17.92

Elaboración propia. Datos extraídos de Ryan et al. 2022 [52]; Jiang et al. 2023 [49]; Horn et al. 2020 [50]; y Chen et al. 2021 [51].

posible aspirar a un tratamiento radical o curativo en el escenario metastásico, de ahí la importancia de adelantarse al establecimiento de las metástasis. Algunos escenarios metastásicos particulares que permiten aspirar a un tratamiento radical son, entre otros:

- **Tumores germinales:** Los tumores germinales, sobre todo del tipo seminomatoso, pueden responder de manera completa al tratamiento quimioterápico intensivo pese a encontrarse en estadio metastásico [64].
- **Cistoadenocarcinoma seroso de ovario con carcinomatosis peritoneal:** La carcinomatosis peritoneal en estos casos se clasifica como un estadio 3 sobre los 4 posibles de la clasificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) y del Comité Conjunto Americano del Cáncer (*American Joint Committee on Cancer, AJCC*). En ocasiones puede responder de manera completa al tratamiento quimioterápico combinado con inhibidores de la angiogénesis, o más frecuentemente, producir una respuesta parcial lo suficientemente importante como para llevar a cabo en un segundo tiempo una resección quirúrgica (cirugía de intervalo) [65].
- **Oligometástasis:** En el caso de escenario metastásico con escaso número de lesiones, clásicamente varias lesiones en un único órgano o aproximadamente unas tres lesiones en órganos distintos, los tratamientos ablativos como la radiofrecuencia, criocirugía o la radioterapia corporal estereotáctica (*Stereotactic*

Body Radiation Therapy, SBRT) pueden producir la respuesta metabólica completa de la enfermedad [66].

- **Presencia de dianas accionables o alta carga mutacional tumoral (*High Tumor Mutational Burden*, High-TMB):** La utilización de inmunoterapia puede dar lugar a la respuesta metabólica completa de la enfermedad en el escenario de tumores con high-TMB o inestabilidad de microsatélites, principalmente. Aunque es menos probable, también se ha descrito ante la presencia de mutaciones accionables como las de EGFR o ALK [66, 67].

II – JUSTIFICACIÓN

II – JUSTIFICACIÓN

2.1. PLANTEAMIENTO DEL PRESENTE ESTUDIO

Los tumores primarios emiten numerosos factores solubles que alcanzan la circulación sistémica. Al llegar a órganos con microcirculación sensible a estos mediadores, dichos factores alteran la homeostasis y fisiología tisular local, desencadenando respuestas inmunoinflamatorias y metabólicas que transforman el microambiente. Esta respuesta local origina microambientes anormales dentro de tejidos por otra parte sanos, caracterizados por acumulación de células inmunes infiltrantes, fibroblastos activados y componentes de matriz extracelular alterados que modifican la arquitectura tisular y facilitan el desarrollo de nichos premetastásicos. Estos microambientes especializados facilitan tanto la atracción como la supervivencia de células tumorales circulantes, proporcionando condiciones sustancialmente más favorables para la proliferación metastásica y el establecimiento de enfermedad avanzada que las presentes en el tejido circundante [40, 41, 43].

Este proceso se produce más fácilmente en órganos de gran volumen y con alta densidad capilar, como el hígado, pulmón y cerebro [45, 46]. Varios tumores como el cáncer colorrectal y el melanoma también tienden a desarrollar estos nichos premetastásicos. En el caso del cáncer colorrectal y de las metástasis hepáticas se han encontrado evidencias de un equilibrio aberrante entre mecanismos fisiopatológicos hepáticos que se desregulan como respuesta sistémica a la aparición del cáncer y factores propios de las células tumorales.

A nivel preclínico se han observado diferentes factores solubles que median el proceso de formación del nicho premetastásico como el factor transformador del crecimiento beta (*Transforming Growth Factor β* , TGF- β). Estos factores solubles se

han identificado como posibles dianas para tratamientos dirigidos.

La interacción entre los factores solubles y los órganos diana da como consecuencia una respuesta fisiopatológica de estos órganos. A nivel preclínico se han identificado diversos biomarcadores onco-metabólicos como consecuencia de esta interacción [47, 48]. La bibliografía más reciente ha asociado estos biomarcadores fisiopatológicos (interleuquinas, FGF21, GDF15, HGF, ICAM1, ANGPTL4...) con la existencia de actividad tumoral oculta y podrían ser utilizados en la práctica clínica como marcadores pronósticos.

En años recientes, la identificación de DNA tumoral circulante (ctDNA) mediante biopsia líquida ha demostrado capacidad para detectar enfermedad residual mínima (*Minimal Residual Disease*, MRD) con impacto en el pronóstico [68, 69]. Un ejemplo paradigmático es Signatera™ (Natera, Inc.), un ensayo personalizado informado por tumor que utiliza mutaciones específicas del tumor para realizar amplificación PCR multiplex y secuenciación masiva de DNA libre circulante. En estudios clínicos, Signatera™ detectó recurrencia con sensibilidad del 89% y tiempo de anticipación (*lead time*) mediano de 10.5 meses en comparación con diagnóstico radiológico clínico para cáncer de mama [70].

Mientras que la mayoría de estudios de biopsia líquida se enfocan en DNA tumoral circulante y células tumorales circulantes, los biomarcadores onco-metabólicos permanecen poco explorados. Hasta nuestro mejor conocimiento, aún no se ha analizado a nivel clínico la posible integración de diversos biomarcadores plasmáticos con otros parámetros de actividad tumoral para mejorar la detección temprana del proceso de formación de nichos premetastásicos, respuesta a tratamiento o incluso recaídas. Este enfoque integrado captura la biología compleja de las interacciones tumor-huésped esenciales para el seguimiento de la enfermedad. Esto podría permitir anticiparse a la formación de metástasis y mejorar por tanto, el abordaje clínico en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento (Figura 2).

2.2. HIPÓTESIS

Por todo ello, en este proyecto planteamos como hipótesis que es posible el análisis de biomarcadores onco-metabólicos en sangre periférica (plasma) de pacientes oncológicos en la práctica clínica real, y que dichos marcadores pueden integrarse con otros parámetros analíticos globales de interés para permitir definir la población con mayor alto riesgo de desarrollo de metástasis *de novo* y éxitus en diversos tipos de cáncer.

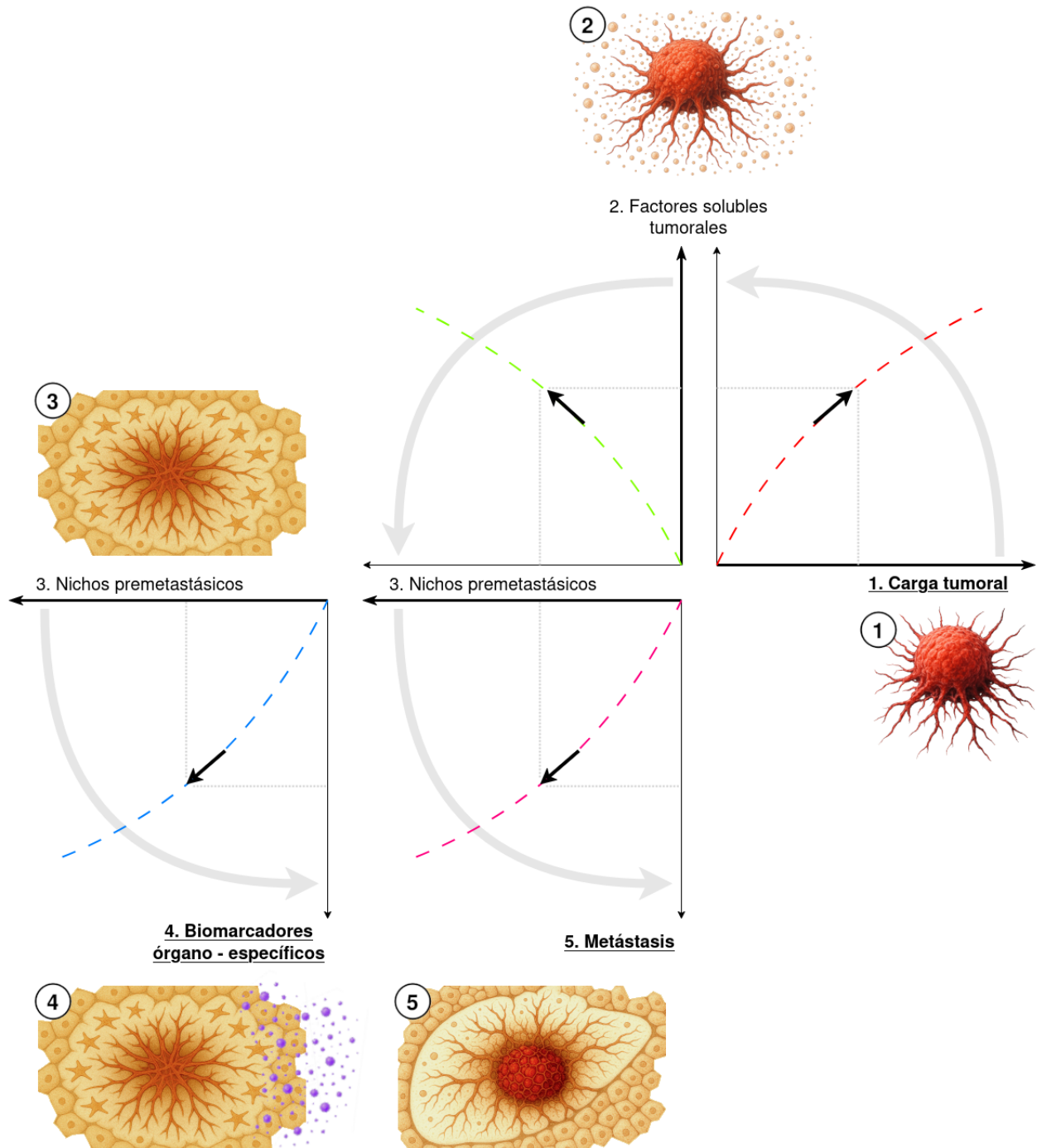


Figura 2: Proceso de secreción de biomarcadores onco-metabólicos y metástasis.

Elaboración propia. Ilustraciones (1, 2, 3, 4 y 5) generadas mediante ChatGPT® de OpenAI® con finalidad exclusivamente aclaratoria para una mejor divulgación. De manera general, una mayor carga tumoral (1) tiene una mayor probabilidad de secretar factores solubles a sangre (2). Cuanto más numerosos sean estos factores más probabilidad existe de que desencadenen la formación de nichos premetastásicos (3). Esta formación de nichos premetastásicos conllevará por una parte la secreción de biomarcadores onco-metabólicos (4) y, por otra parte, el potencial de desarrollar metástasis (5). De manera que una mayor formación de nichos premetastásicos (3) conlleva una mayor probabilidad de metástasis (5) y también una potencial mayor secreción de biomarcadores onco-metabólicos medibles en la práctica clínica (4).

III – OBJETIVOS

III – OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal de esta tesis doctoral es desarrollar un índice pronóstico basado en biomarcadores onco-metabólicos circulantes, integrado con parámetros analíticos globales, para la predicción de progresión metastásica y mortalidad en pacientes oncológicos. Para la consecución de este objetivo, se definen los siguientes objetivos específicos:

- Seleccionar y analizar el panel de biomarcadores onco-metabólicos en sangre periférica en pacientes oncológicos del sur de España. Se analizarán la asociación de estos biomarcadores con parámetros analíticos globales descritos (hemograma, marcadores inflamatorios, función hepática/renal, etcétera).
- Integrar dichos biomarcadores onco-metabólicos con parámetros analíticos globales en un nuevo índice pronóstico y evaluar su capacidad para detectar el riesgo de desarrollo de metástasis *de novo* y el riesgo de mortalidad.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Evaluar el efecto de covariables de confusión clave (edad, sexo, índice de masa corporal, etcétera) sobre biomarcadores e índices pronósticos.
- Comprobar la viabilidad del procedimiento preanalítico de toma de muestras, procesado y análisis en la práctica clínica asistencial habitual.

IV – MATERIAL Y MÉTODO

IV – MATERIAL Y MÉTODO

4.1. TIPO DE ESTUDIO

Este estudio ha sido planteado como un estudio piloto prospectivo observacional y dispone de una hoja de consentimiento informado para el paciente. En el presente estudio, se ha seleccionado un panel de biomarcadores onco-metabólicos relevantes y factibles técnicamente basado en la opinión de expertos y revisión de la literatura. Posteriormente, se han determinado dichos biomarcadores en el transcurso de la enfermedad oncológica de una población reclutada en el sur de España con un seguimiento posterior fijado con fecha de fin el 15 de julio de 2025, salvo éxitus del paciente, pérdida de seguimiento o retirada de consentimiento para su participación en este estudio. Asimismo, se extrajeron una serie de parámetros analíticos globales seleccionados a partir de la evidencia científica disponible previamente y calculados a partir de analíticas de rutina realizadas previamente a la extracción de sangre para la determinación de biomarcadores.

Dicho diseño fue seleccionado dado que el proceso de toma de muestras para la determinación de biomarcadores onco-metabólicos se realizó de manera prospectiva sin hacer uso de un biobanco previo.

En lo que sigue en el presente documento se hace referencia al momento de la toma de muestras para el análisis de biomarcadores onco-metabólicos como «extracción» o «a la extracción».

4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Como población de estudio se consideró a los pacientes oncológicos atendidos en el proceso diagnóstico, tratamiento o seguimiento en el Centro Integral Oncológico

de HM Hospitales en la provincia de Málaga (HM CIO Málaga) desde el 1 de mayo de 2024 al 15 de julio de 2025 que cumplieran criterios de inclusión y ninguno de exclusión. El reclutamiento se realizó de manera activa contactando con los pacientes y ofreciéndoles participar. La restricción del proyecto a únicamente la población atendida en la división territorial del sur de España del Centro Integral Oncológico de HM Hospitales fue debida a las limitaciones logísticas y económicas.

Dada la naturaleza exploratoria de este estudio piloto y dado que el procedimiento de toma de muestras es poco invasivo, se estimó un tamaño de muestra de aproximadamente el 5% de nuestro pool disponible de pacientes oncológicos (aproximadamente 500 pacientes). Esto resultó en un tamaño muestral estimado de 25 pacientes.

4.2.1. Criterios de inclusión

- Paciente con patología oncológica o múltiples patologías oncológicas diagnosticadas. Al menos una de las patologías oncológicas del paciente debe no ser un linfoma, leucemia o mieloma, es decir tumores sólidos.
- Paciente mayor de edad (>18 años) y con capacidad propia para consentir.
- Paciente diagnosticado, tratado o en seguimiento en HM CIO Málaga.
- Paciente que consienta por escrito la participación en este estudio.

4.2.2. Criterios de exclusión

- Paciente con incapacidad temporal o permanente para consentir.
- Paciente que desee consentir únicamente de manera verbal.

4.2.3. Grupos de estudio

La población de estudio reclutada se definió como un único grupo de estudio dado el limitado tamaño muestral abarcable. Se consideró para el posterior análisis de la población la heterogeneidad de la misma pudiendo coexistir pacientes metastásicos a la inclusión y extracción con otros no metastásicos.

4.3. MATERIALES DE ESTUDIO

4.3.1. Muestras de estudio

Para el análisis de biomarcadores onco-metabólicos se extrajeron 10 mL de sangre periférica tras más de 8 horas de ayuno a los pacientes participantes en tubos de bioquímica con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) siguiendo un proceso normalizado. Todas las muestras fueron codificadas asegurando la privacidad de los pacientes.

4.3.2. Variables de estudio

4.3.2.1. Datos basales

Como datos basales se consideraron aquellos propios del paciente e independientes de su estado de salud, historia personal, enfermedad oncológica o de los biomarcadores analizados. Se recopilaron un total de cuatro variables cualitativas dicotómicas y cuantitativas (denominadas VB#) y que están recogidas junto a su rango y descripción en la Tabla 3.

Tabla 3: Variables recogidas asociadas a datos basales.

Datos Basales				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
Sexo	VB1	Dicotómica	0 (mujer) 1 (hombre)	Sexo biológico
Edad al diagnóstico	VB2	Cuantitativa	Número racional positivo $Q > 0$	Edad en años en el momento del diagnóstico con dos decimales redondeados al alza
Edad a la extracción	VB3	Cuantitativa	Número racional positivo $Q > 0$	Edad en años en el momento de la extracción con dos decimales redondeados al alza
Edad al fin del seguimiento	VB4	Cuantitativa	Número racional positivo $Q > 0$	Edad en años al finalizar seguimiento con dos decimales redondeados al alza

4.3.2.2. Antecedentes personales más relevantes

Se consideraron como antecedentes personales a recoger dos variables: la presencia de factores de predisposición hereditaria al cáncer ya sean por criterios clínicos o genéticos y la presencia de enfermedades autoinmunes o inmunodeficiencias. Estas dos variables cualitativas (*VP#*) están recogidas junto a su rango y descripción en la Tabla 4.

Tabla 4: Variables recogidas asociadas a antecedentes personales.

Antecedentes Personales				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
Presencia de factores de predisposición hereditaria al cáncer	VP1	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Factores de predisposición ya sean por criterios clínicos (Criterios de Amsterdam, de riesgo de mama y ovario, de riesgo de próstata, de riesgo de melanoma, de riesgo de páncreas, de riesgo de neuroendocrinos múltiples...), factores genéticos o alta carga familiar a criterio de médico clínico
Presencia de enfermedades autoinmunes o inmunodeficiencias	VP2	Cualitativa	Patologías	Enfermedades prevalentes que condicionen una inmunodeficiencia funcional o estructural

4.3.2.3. Datos clínicos de la enfermedad

Respecto a los datos clínicos, se consideraron aquellas variables relacionadas con la situación clínica de la enfermedad al diagnóstico, con su evolución hasta la extracción de las muestras para el análisis de biomarcadores onco-metabólicos, con su evolución hasta fecha de fin de seguimiento, así como las variables relacionadas con los tratamientos establecidos. Se definieron un total de 16 variables cualitativas y cuantitativas (VC#) que se encuentran recogidas en las Tablas 5, 6 y 7 al final de este capítulo.

4.3.2.4. Datos analíticos de la enfermedad

Respecto a datos analíticos, se consideraron una serie de parámetros relacionados con mayor riesgo de metastatización o peor pronóstico con evidencia científica descrita en la literatura actual que pueden calcularse a partir de los controles analíticos rutinarios que se realizan durante el transcurso de la enfermedad oncológica.

Estos controles analíticos se llevan a cabo tanto en el diagnóstico, tratamiento como seguimiento, lo que podría permitir calcular los parámetros de estudio a partir de los valores analíticos en diferentes momentos de la enfermedad oncológica. Con la finalidad de unificar variables y una mejor relación con los biomarcadores onco-metabólicos se decidió calcular 20 parámetros analíticos cualitativos y cuantitativos únicamente previos a la extracción de la muestra para el análisis de biomarcadores. Para ello, se consideraron aquellas analíticas de rutina tomadas hasta 190 días previos a la extracción.

Dado que es posible que haya valores analíticos que no estén siempre disponibles en una única extracción de sangre, lo cual podría complicar el cálculo de los parámetros de estudio, aceptamos completar los datos ausentes con los provenientes de otra extracción del mismo momento del estudio. Si aún así no fuera posible

completar dicho valor analítico con una extrapolación de otra extracción analítica, se considerará que dicho valor tiene el valor medio del rango de normalidad del laboratorio siempre y cuando el número de valores analíticos ausentes no supere el 50% del total.

Con la finalidad de sintetizar, se muestran agrupadas las variables que miden los parámetros analíticos calculados (VA#) en las Tablas 8 y 9 junto a las referencias que aportan su impacto en progresión, metastización o pronóstico. Se encuentran disponibles al final de este capítulo.

Estos parámetros analíticos son en su mayoría cuantitativos continuos. Para el análisis posterior requerimos no sólo de su valor continuo, sino también de una discretización de dichos valores. Por ello, se recogen en las Tablas 10 y 11 las variables analíticas discretizadas en base a puntos de corte descritos en la literatura científica previa (VAd#).

Para diferenciar estos parámetros analíticos globales de los biomarcadores onco-metabólicos, los alias de estos parámetros se presentan escritos en minúsculas en lo que sigue del presente texto.

4.3.2.5. Datos de biomarcadores onco-metabólicos

Se definen los biomarcadores onco-metabólicos como un conjunto de moléculas con evidencia preclínica cuya expresión varía en relación con la evolución de la enfermedad oncológica y han sido brevemente referenciados en la introducción. Su expresión está mediada por la acción serológica a distancia del tumor a través de factores solubles, siendo potenciales candidatos a marcadores subrogados del impacto de dichos factores solubles a nivel orgánico.

Los biomarcadores plasmáticos fueron seleccionados siguiendo las recomendaciones de un investigador externo experto en la materia. Posteriormente, se realizó una revisión de la evidencia científica disponible del papel de dichas

moléculas plasmáticas. En cada uno de los marcadores propuestos se comprobó que existiera variabilidad clínica en contextos de alta carga tumoral y posibilidad de medición mediante los métodos técnicos disponibles. Los once biomarcadores plasmáticos seleccionados se enumeran en la Tabla 12.

Para diferenciar los biomarcadores onco-metabólicos del resto de parámetros analíticos globales, los alias de estos biomarcadores se presentan escritos en MAYÚSCULAS en lo que sigue del presente texto.

4.4. MÉTODOS DE ESTUDIO

La metodología planificada para llevar a cabo los objetivos propuestos se estructuró en cuatro fases de revisión de la literatura para los biomarcadores propuestos, reclutamiento, análisis y conclusiones, respectivamente. Cada una de estas fases ha abarcado diferentes procedimientos, habiéndose solapado en el tiempo distintas fases y procedimientos. De manera general, podemos estructurar la metodología del estudio en:

1. Revisión de la literatura para los biomarcadores propuestos

2. Reclutamiento

- Selección de candidatos
- Extracción de muestras
- Procesado y conservación de muestras
- Análisis de muestras
- Seguimiento postextracción

3. Análisis

- Análisis de población de estudio
- Análisis de los parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos

- Análisis multivariante clínico - analítico

4. Conclusiones

- Producción científica y comunicaciones
- Conclusiones y redacción de la memoria de tesis

DISEÑO DEL ESTUDIO

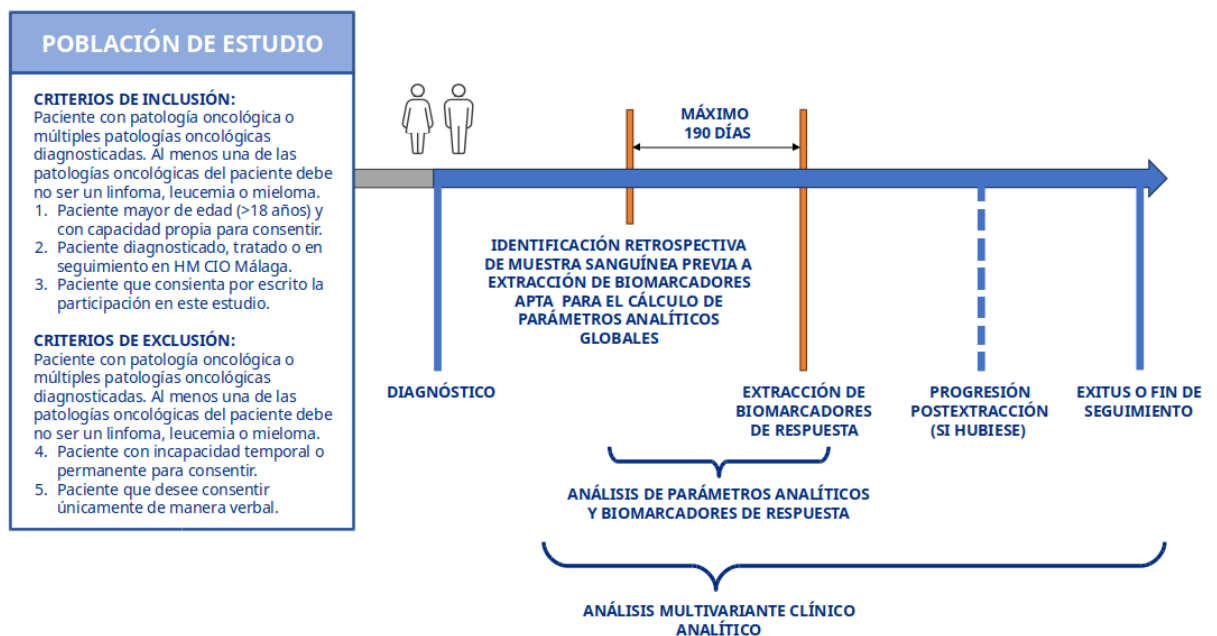


Figura 3: Flujo de trabajo del estudio.

Figura de elaboración propia. Se observan los distintos momentos clave del estudio: extracción de biomarcadores onco-metabólicos, identificación de datos analíticos previos, primera progresión postextracción si la hubiese, fecha de éxito o fecha de fin de seguimiento.

4.4.1. Revisión de la literatura para biomarcadores propuestos

4.4.2. Cronología planificada

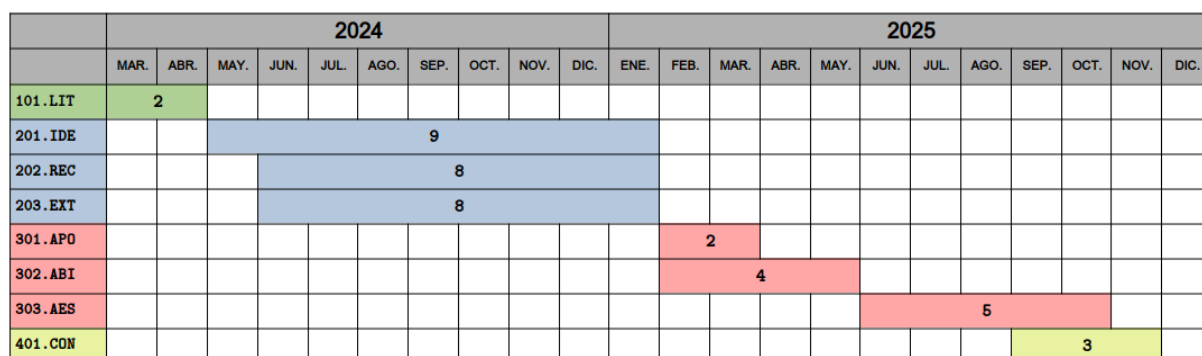


Figura 4: Diagrama de Gantt.

Figura de elaboración propia. Cronograma con las diferentes fases del proyecto: 101.LIT - Revisión sistemática de la literatura, 201.IDE - Identificación de población candidata, 202.REC - Reclutamiento de población candidata, 203.EXT - Extracción de muestras, 301.APO - Análisis de población de estudio, 302.ABI - Análisis de biomarcadores, 303.AES - Análisis estadístico, 401.CON - Conclusiones y redacción.

4.4.3. Selección de candidatos

4.4.3.1. Identificación de población candidata

Del total de pacientes visitados diariamente en el HM CIO Málaga, se preseleccionó en cada consulta a aquellos que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

4.4.3.2. Reclutamiento de población candidata

El proceso de reclutamiento se realizó de manera activa y directa, informando a todo paciente candidato la posibilidad de participar, el objetivo del estudio, las implicaciones conllevadas y resto de condiciones del estudio. Posteriormente, se entregó hoja de información al paciente con formulario de consentimiento del

estudio aprobado por el Comité de Ética (CE) e Investigación con medicamentos en su versión 4.0 del 21 de Abril de 2024. Tras la firma del mismo por duplicado se entregó una copia al paciente y otra permaneció en el centro HM CIO Málaga archivada. Este estudio también fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad Católica de Murcia (UCAM, CE). Ver aprobaciones de los CE en los anexos de esta memoria.

La fecha de cierre de reclutamiento se prefijó en 31/01/2025.

4.4.4. Procedimiento de extracción de muestras

La muestra se extrajo en condiciones de práctica clínica habitual ya fuese por catéter reservorio tipo Port-A-Cath o por vía periférica y siguiendo las más estrictas medidas de asepsia y antisepsia. Se obtuvieron al menos dos tubos de hemograma de 5 mL con EDTA mediante un sistema BD Vacutainer®.

4.4.5. Procesado de muestras y conservación

Las muestras fueron procesadas y conservadas siguiendo un proceso normalizado de trabajo:

- 1. Inversión suave**

Los dos tubos de sangre fueron invertidos suavemente un par de veces y posteriormente se depositaron en una gradilla hasta su centrifugación.

- 2. Primera centrifugación**

Los dos tubos de sangre se centrifugaron inicialmente a 1600 g durante 10 minutos a temperatura ambiente.

- 3. Extracción de primer sobrenadante**

Se recuperó el primer sobrenadante, correspondiente con el plasma, y se

dispuso en tubos Eppendorf autoclavados de 1.5 mL.

4. Segunda centrifugación

El conjunto de tubos Eppendorf fue centrifugado por segunda vez a 10000 g durante 10 minutos a 4°C.

5. Extracción de segundo sobrenadante

Se recuperó el segundo sobrenadante y se transfirió a un tubo Falcon de 50 mL estéril.

6. Homogeneización por inversión suave

Tras mezclar el contenido de todos los Eppendorf en el tubo Falcon se procedió a inversión suave un par de veces y a traspasar el contenido a tubos Eppendorf de 1.5 mL autoclavados que constituyeron las muestras a mantener.

7. Conservación

Los tubos Eppendorf de plasma se guardaron y conservaron a -80 °C hasta su envío al laboratorio de análisis de Persona Biomed Spain S.L. en las instalaciones del Hospital Universitario Doctor Peset de Valencia.

4.4.6. Análisis de muestras

La determinación de biomarcadores onco-metabólicos se realizó en sangre periférica con EDTA obtenida en ayunas mediante ensayo de inmunodetección personalizado multiplex (Merck Millipore) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El inmunoensayo multiplexado utiliza tecnología basada en perlas de poliestireno para medir los once biomarcadores. La placa se cargó en el sistema Luminex 200 (Luminex Corporation, Austin, Texas, USA) para lectura. Los analitos se midieron en duplicados en tres placas/paneles: HAGE1MAG-20K-6p (FGF21, GDF15, IL6, IL10, IL18, LEPTIN), HLPPMAG-57K-2p (ANGPTL4, HGF) y HNDG3MAG-36K-3p (CATHEPSIN-D, ICAM1, MPO). Con base en las mediciones de concentraciones

estándar proporcionadas por el fabricante, se utilizaron curvas estándar para convertir valores de intensidad de fluorescencia mediana (MFI) en concentraciones (pg/mL o ng/mL). El CV intra-ensayo medio fue de 7.84%, y el 80% de las mediciones mostraron $CV \leq 10\%$. El límite operacional de detección (LOD) para cada analito se definió como la concentración esperada para la concentración de estándar inferior.

Para evitar el sesgo de sobredetección que inflaría artificialmente los resultados, los valores faltantes se imputaron utilizando el valor mínimo detectado dentro del rango de ensayo para cada parámetro.

4.4.7. Procedimiento de seguimiento postextracción

A los pacientes se les realizó seguimiento tras la extracción con base en las indicaciones de práctica clínica actual de su enfermedad oncológica, finalizándose el mismo por pérdida de seguimiento, éxitus o haber alcanzado la fecha del 15 de julio de 2025 predefinida como fecha de fin del estudio.

4.4.8. Análisis de población de estudio

Con la finalidad de caracterizar adecuadamente la población de estudio reclutada se llevó a cabo un estudio descriptivo basado en los siguientes enfoques:

- **Estudio poblacional descriptivo:**

Cálculo y análisis de los estadísticos descriptivos de la población. Dado el tamaño muestral y la probable heterogeneidad se opta por utilizar como estadísticos descriptivos la mediana y el rango.

- **Análisis de la situación de la enfermedad oncológica:**

Distribución de la población de estudio en función de su carga de enfermedad tumoral a la extracción y al fin del seguimiento.

- **Evolución clínica de los pacientes:**

Análisis de la evolución clínica de los pacientes reclutados respecto a intervalos diagnóstico - tratamiento, diagnóstico - extracción, extracción - fin de seguimiento, intervalos de progresión, patología tumoral, estadio al diagnóstico, a la extracción y al fin del seguimiento y tratamientos recibidos. La mortalidad se determinó por certificado oficial de defunción. La metástasis *de novo* se definió como carga metastásica ponderada que aumenta de cero a >0 en pacientes basales libres de metástasis. La progresión metastásica se definió como un incremento positivo en la carga metastásica ponderada de basales a seguimiento en pacientes con metástasis basales. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado por un solo operador.

4.4.9. Análisis de los parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos

Con la finalidad de caracterizar adecuadamente los parámetros analíticos, biomarcadores onco-metabólicos y sus interrelaciones se procedió a realizar los siguientes estudios:

- **Test de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores:**

Test de normalidad de Shapiro - Wilk para cada uno de los parámetros analíticos y de los biomarcadores estudiados teniendo en cuenta que el tamaño muestral estimado *a priori* es de aproximadamente 26 pacientes.

- **Análisis de correlaciones:**

Cálculo de la matriz de correlaciones de Pearson o Spearman según resultados del test de normalidad, así como análisis de sus implicaciones.

- **Análisis de agrupación jerarquizada:**

Análisis multidimensional de clústeres jerarquizados (*hierarchical clustering*) mediante algoritmos de agregación con métrica eucladiana y método de Ward.

- **Análisis del *clustering* resultante por variables:**

Cálculo del número óptimo de clústeres de variables mediante el método del codo (*elbow method*) y el método del coeficiente de silueta (*silhouette score*).
Determinación de los clústeres de variables obtenidos.

■ **Creación de variables sintéticas de estudio por clúster:**

Construcción de una nueva variable sintética (Ω_i) por cada clúster i -ésimo (i de un total de n clústers) que agrupe la información de las variables analíticas (ω_j , j de un total de m variables) abarcadas en cada clúster según un modelo lineal múltiple tipo suma ponderada, donde (κ_{ij}) representa cada uno de los coeficientes multiplicadores para cada variable j -ésima de cada clúster i -ésimo, tal y como se describe en la fórmula a continuación según notación indexada con el convenio de suma de Einstein:

$$\Omega_i = \kappa_{ij} \cdot \omega_j \quad (1)$$

Consideramos, por definición, que cada variable analítica tiene el mismo aporte y peso en la nueva variable derivada del clúster. Por ello consideramos que $\kappa_{ij} = 1$ para todo i y j y que toda variable ω_j dentro de cada clúster i -ésimo se escala entre 0 y 1 resultando en $\overline{\omega_j}$.

De este modo se define una nueva variable sintética (Ω_i) por cada clúster i -ésimo que es la suma de todas las variables incluidas en él ya escaladas. Considerando la notación indexada con el convenio de suma de Einstein y la definición de matriz unitaria J como una matriz donde todos sus componentes son iguales a la unidad ($J_{ij} = 1$ para todo i, j dentro de los rangos de números naturales $1, n$ y $1, m$ respectivamente), cada variable de clúster se define como:

$$\Omega_i = J_{ij} \cdot \overline{\omega_j} \quad (2)$$

Este enfoque utilizando pesos unitarios evita sesgo subjetivo y previene el sobreajuste en conjuntos de datos pequeños, donde la optimización de pesos impulsada por datos corre el riesgo de ajustar ruido en lugar de señal. Consecuentemente, la variable sintética de cada clúster es matemáticamente

equivalente a la suma de todas las variables escaladas incluidas en ese clúster.

4.4.10. Análisis multivariante clínico - analítico

■ Estudio de curvas operador ROC

Se estratifica la población en dos subgrupos: población con metástasis existentes a la extracción y población sin metástasis existentes a la extracción. Se procede a la realización de las curvas ROC de cada una de las nuevas variables derivadas de cada clúster frente al riesgo de muerte para el conjunto completo de la población de estudio y ambos subgrupos, frente al riesgo de aparición de metástasis *de novo* en la población sin metástasis existentes a la extracción y frente al riesgo de aumento de metástasis postextracción para la población con metástasis existentes a la extracción. Dichos tres eventos son variables discretas binarias por lo que la aparición de metástasis *de novo* postextracción en la población sin metástasis a la extracción hace referencia a la ausencia o presencia de las mismas, el aumento de metástasis postextracción en la población con metástasis a la extracción indica si hay aumento de la carga metastásica o no (incluyendo aparición de metástasis en nuevas localizaciones) y el riesgo de muerte para toda la población y ambos subgrupos hace referencia al fallecimiento o supervivencia del paciente. De estas curvas operador ROC se determinan asimismo los posibles niveles de corte para las nuevas variables derivadas de cada clúster. Asimismo, se analiza por separado el papel como clasificador para cada evento del componente debido a biomarcadores y del componente debido a parámetros analíticos globales de cada variable sintética de clúster.

El término postextracción hace referencia al primer evento que ocurre antes de la extracción de los siguientes: primera progresión postextracción, fecha de éxito o fecha de fin de seguimiento. Tras dicho evento postextracción, el seguimiento del paciente continúa y puede ocurrir una estabilización de la enfermedad o una nueva progresión de la misma. Sin embargo, para el estudio

nos enfocamos en el primer evento postextracción que ocurra para poder llevar a cabo el análisis.

Para cada curva ROC, también se realizó corrección de optimismo mediante bootstrap del área bajo la curva (AUC) con 1000 bootstraps por caso. Se obtuvieron intervalos de confianza del noventa y cinco por ciento (IC 95%) tanto para el área bajo la curva como para el punto de corte óptimo. Además, se calculó el valor p para la comparación utilizando la prueba U de Mann-Whitney para cada curva ROC versus la ausencia de capacidad discriminatoria (AUC=0.5).

- **Estudio de diferencias de parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos entre la población con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster**

Análisis mediante Mann – Whitney, o t-Student si se cumple la normalidad, de las posibles diferencias en la distribución de los biomarcadores y parámetros analíticos para los grupos con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster.

- **Estudio de diferencias clínicas entre los individuos con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster**

Análisis mediante Mann – Whitney, o t-Student si se cumple la normalidad, de las posibles diferencias poblacionales para los grupos con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster.

- **Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster**

Análisis mediante Kaplan - Meier de las posibles diferencias en supervivencia y en supervivencia libre de progresión metastásica para los grupos con niveles altos y bajos de las nuevas variables derivadas de cada clúster.

4.4.11. Producción científica

- **Póster en congreso nacional**

«X Jornadas de Investigación y Doctorado - Bienestar Psicológico en los Estudios de Doctorado: Repercusión en la Calidad de los Programas» con el título *Análisis de biomarcadores onco-metabólicos en pacientes oncológicos del sur de España* [94].

- **Póster en congreso internacional**

«The 3rd International Online Conference on Clinical Medicine» con el título *Qoppa as a new synthetic analytical marker to detect the oncological population at high risk of metastasis during follow-up and optimize the imaging test schedule* [95].

- **Publicación en revista indexada JCR (Q1, Medicine, General & Internal)**

Qoppa as a New Pan-Tumor Synthetic Parameter Derived from Tumor-Associated Biomarkers for Identifying Oncology Patients at High Risk of Metastasis: A Prospective Pilot Study Javier Diaz-Santos, Alba Rodriguez-Valle, Beatriz Berrocal-Gavilan, Olivia Urquizar-Rodriguez y Silvia Montoro-Garcia. Journal of Clinical Medicine. MDPI. 2026, 15(2), 846; <https://doi.org/10.3390/jcm15020846> [96].

Tabla 5: Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual.

Datos Clínicos (1/3)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
Condición de pluripatología tumoral	VC1	Dicotómica	0 (monopatol.) 1 (pluripatología)	Presencia de más de una patología tumoral en la historia del paciente. Ya sea un antecedente pasado, un tumor sincrónico o nuevas neoplasias metacrónicas posteriores
Condición de patología tumoral pasada	VC2	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de patología/s tumoral/es pasada/s
Estadio más avanzado diagnóstico	VC3	Cualitativa	In situ Estadio 1 Estadio 2 Estadio 3 Estadio 4	Estadio al diagnóstico considerando el mayor de todas las patologías oncológicas concurrentes
Intervalo entre diagnóstico y primer tratamiento	VC4	Cuantitativa	Número natural incluido el cero N ₀	Número de días transcurridos entre diagnóstico y primer tratamiento
Número líneas de tratamiento hasta extracción	VC5	Cuantitativa	Número natural incluido el cero N ₀	Número de líneas de tratamiento iniciadas hasta el momento de la extracción
Tratamiento activo durante extracción	VC6	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	En curso de ciclo de tratamiento en el momento de extracción. No implica necesariamente que el tratamiento haya sido administrado en el momento exacto de la extracción
Estadio a la extracción	VC7	Cualitativa	IS (In situ) 1 (Estadio 1) 2 (Estadio 2) 3 (Estadio 3) 4 (Estadio 4)	Estadio a la extracción considerando el mayor de todas las patologías oncológicas concurrentes
Intervalo entre diagnóstico y extracción	VC8	Cuantitativa	Número natural incluido el cero N ₀	Número de días transcurridos entre diagnóstico y extracción
Número líneas de tratamiento hasta fin de seguimiento	VC9	Cuantitativa	Número natural incluido el cero N ₀	Número de líneas de tratamiento iniciadas hasta fin de seguimiento
Estadio a fin de seguimiento	VC10	Cualitativa	IS (In situ) 1 (Estadio 1) 2 (Estadio 2) 3 (Estadio 3) 4 (Estadio 4)	Estadio a fin de seguimiento considerando el mayor de todas las patologías oncológicas concurrentes
Intervalo entre diagnóstico y fin de seguimiento	VC11	Cuantitativa	Número natural incluido el cero N ₀	Número de días transcurridos entre diagnóstico y fin de seguimiento
Motivo de fin de seguimiento	VC12	Cualitativa	0 (Fecha de fin alcanzada) 1 (Éxito) 2 (Pérdida de seguimiento) 3 (Retirada del consentimiento)	Motivo de fin de seguimiento

Tabla 6: Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual.

Datos Clínicos (2/3)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
Volumen elipsoidal equivalente de tumor primario al diagnóstico	VC13	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Volumen en mm^3 del elipsoide realizado con las tres dimensiones principales del tumor principal al diagnóstico sin tener que ser estas estrictamente ortogonales
Adenopatías locorregionales al diagnóstico	VC14	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de adenopatías locorregionales al diagnóstico
Metástasis al diagnóstico	VC15	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de metástasis al diagnóstico
Metástasis ponderadas al diagnóstico	VC16	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de $\sum_{i=0}^N \mu_i$ donde el índice i hace referencia a las diferentes localizaciones metastásicas al diagnóstico variando entre 0 y N . El coeficiente μ_i toma el valor del número de lesiones metastásicas en cada localización i considerándose 4 si hay más de tres lesiones. Por ello el valor de μ_i está definido entre 1 y 4
Carga tumoral al diagnóstico	VC17	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de sumar al valor de metástasis ponderadas al diagnóstico un punto si está presente el tumor primario y otro punto si hay afectación adenopática locorregional
Adenopatías locorregionales a la extracción	VC18	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de adenopatías locorregionales a la extracción
Metástasis a la extracción	VC19	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de metástasis a la extracción
Metástasis ponderadas a la extracción	VC20	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de $\sum_{i=0}^N \mu_i$ donde el índice i hace referencia a las diferentes localizaciones metastásicas a la extracción variando entre 0 y N . El coeficiente μ_i toma el valor del número de lesiones metastásicas en cada localización i considerándose 4 si hay más de tres lesiones. Por ello el valor de μ_i está definido entre 1 y 4
Carga tumoral a la extracción	VC21	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de sumar al valor de metástasis ponderadas a la extracción un punto si está presente el tumor primario y otro punto si hay afectación adenopática locorregional

Tabla 7: Variables clínicas recogidas asociadas a la enfermedad oncológica actual.

Datos Clínicos
(3/3)

	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
Superficie corporal a la extracción	VC22	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Superficie corporal según Dubois [m ²]
Índice de masa corporal a la extracción	VC23	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Índice de masa corporal a la extracción [kg/m ²]
Edad a la extracción	VC24	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Edad en años a la extracción
Adenopatías locorregionales al fin de seguimiento	VC25	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de adenopatías locorregionales al fin de seguimiento
Metástasis al fin de seguimiento	VC26	Dicotómica	0 (Ausencia) 1 (Presencia)	Presencia de metástasis al fin de seguimiento
Metástasis ponderadas al fin de seguimiento	VC27	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de $\sum_{i=0}^N \mu_i$ donde el índice i hace referencia a las diferentes localizaciones metastásicas al fin de seguimiento variando entre 0 y N . El coeficiente μ_i toma el valor del número de lesiones metastásicas en cada localización i considerándose 4 si hay más de tres lesiones. Por ello el valor de μ_i está definido entre 1 y 4
Carga tumoral al fin de seguimiento	VC28	Cuantitativa	Número natural incluido el cero $\mathbb{N}_0$	Resultante de sumar al valor de metástasis ponderadas al fin de seguimiento un punto si está presente el tumor primario y otro punto si hay afectación adenopática locorregional

Tabla 8: Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual (1/2).

Datos Analíticos (1/2)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
alb	VA1	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Valor de albuminemia periférica [g/dL]
apri	VA2	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio aspartato aminotransferasa (AST) - plaquetas (aspartate aminotransferase - platelet count ratio, $apri = \frac{AST}{\text{Límite superior de la normalidad de AST}} \times \frac{\text{Plaquetas absolutas} \times 10^9/L}{100}$)
anri	VA3	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio aspartato aminotransferasa (AST) - neutrófilos (aspartate aminotransferase - neutrophil ratio, $anri = \frac{AST}{\text{Límite superior de la normalidad de AST}} \times \frac{\text{Neutrófilos absolutos} \times 10^9/L}{100}$)
halp	VA4	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Índice hemoglobina - albúmina - linfocitos - plaquetas (hemoglobin - albumin - lymphocyte - platelet, $halp = 100 \times \frac{\text{Hemoglobina [g/dL]} \times \text{Albúmina [g/dL]} \times \text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Plaquetas absolutas en sangre periférica}}$)
hb	VA5	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Valor de hemoglobina en sangre venosa periférica g/dL
lar	VA6	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio lactato deshidrogenasa - albúmina (lactate dehydrogenase - albumin ratio, $lar = \frac{\text{Lactato deshidrogenasa}}{\text{Albúmina}}$)
lmr	VA7	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio linfocitos - monocitos (lymphocyte - monocyte ratio, $lmr = \frac{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Monocitos absolutos en sangre periférica}}$)
llr	VA8	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio leucocitos - linfocitos (leukocyte - lymphocyte ratio, $llr = \frac{\text{Leucocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$)
nlr	VA9	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio neutrófilos - linfocitos (neutrophil - lymphocyte ratio, $nlr = \frac{\text{Neutrófilos absolutos en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$)
nps	VA10	Cualitativa	0 (NPS=0) 1 (NPS=1) 2 (NPS=2) 3 (NPS=3) 4 (NPS=4)	Índice pronóstico de Nápoles (Naples prognostic score, $NPS = \sum_{i=1}^4 nps_i$ donde $nps_1 = 1$ si $alb \geq 4\text{mg/dL}$, $nps_2 = 1$ si $colesterol\ total \leq 180\text{mg/dL}$, $nps_3 = 1$ si $NLR > 2.96$ y $nps_4 = 1$ si $LMR \geq 4.44$) [71]

Tabla 9: Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual (2/2).

Datos Analíticos (2/2)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
pcr	VA11	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Valor de proteína C reactiva (PCR) en sangre venosa periférica
nplhb	VA12	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio neutrófilos - plaquetas - linfocitos - hemoglobina (neutrophil - platelet - lymphocyte - hemoglobin ratio, $nplhb = \frac{\text{Neutrófilos} \times \text{Plaquetas en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica} \times \text{Hemoglobina}}$)
npm	VA13	Cualitativa	0 (NPM=0) 1 (NPM=1) 2 (NPM=2)	Nuevo modelo pronóstico (novel prognostic model, $NPM = \sum_{i=1}^4 npm_i$ donde $npm_1 = 1$ si $NP/LHb \geq 5.667$ y $npm_2 = 1$ si monocitos absolutos en sangre periférica $\geq 0.5051 mL$) [72]
plr	VA14	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Ratio plaquetas - linfocitos (platelet - lymphocyte ratio, $PLR = \frac{\text{Plaquetas absolutas en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$)
pni	VA15	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Índice pronóstico nutricional (prognostic nutritional index, $PNI = 5 \times \text{Linfocitos absolutos} 10^9/L - 10 \times \text{Albúmina [g/dL]}$)
si	VA16	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Hierro sérico (serum iron)
sii	VA17	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Índice inflamación inmune sistémica (systemic immune inflammation index, $sii = \frac{\text{Neutrófilos absolutos} 1L \times \text{Plaquetas en sangre periférica} 1L}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica} 1L}$)
siri	VA18	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Índice respuesta inflamatoria sistémica (systemic inflammation response index, $siri = \frac{\text{Neutrófilos absolutos} 1L \times \text{Monocitos en sangre periférica} 1L}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica} 1L}$)
copnlr	VA19	Cualitativa	0 (COP-NLR=0) 1 (COP-NLR=1) 2 (COP-NLR=2)	Índice combinado plaquetas - NLR (combined platelet - NLR score, $COP-NLR = \sum_{i=1}^2 copnlr_i$ donde $copnlr_1 = 1$ si $NLR > 3$ y $copnlr_2 = 1$ si plaquetas absolutas $> 300 \times 10^9/L$) [73, 74]
vitb12	VA20	Cuantitativa	Número real mayor o igual a cero $\mathbb{R} \geq 0$	Valor de vitamina B12 en sangre periférica [pg/mL] [75]

Tabla 10: Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual discretizadas (1/2).

Datos Analíticos Discretizados (1/2)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
ALB	VAd1	Dicotómica	0 (Normal) 1 (Hipoalb.)	Presencia de hipoalbuminemia. Se define como hipoalbuminemia valores de albúmina inferiores a 3.5g/dL ($\text{alb} < 3.5\text{g/dL}$) y como normal igual o superiores a 3.5g/dL ($\text{alb} \geq 3.5\text{g/dL}$) [76-78]
APRI	VAd2	Dicotómica	0 (Normal) 1 (APRI elevado)	Presencia de ratio aspartato aminotransferasa (AST) - plaquetas (aspartate aminotransferase - platelet count ratio, $\text{APRI} = \frac{\text{AST} \text{ límite superior de la normalidad de AST}}{\text{Plaquetas absolutas} \times 10^9/\text{L}} \times 100$) elevado como $\text{APRI} > 0.18$ y como normal $\text{APRI} \leq 0.18$ [73, 74]
ANRI	VAd3	Dicotómica	0 (Normal) 1 (ANRI elevado)	Presencia de ratio aspartato aminotransferasa (AST) - neutrófilos (aspartate aminotransferase - neutrophil ratio, $\text{ANRI} = \frac{\text{AST} \text{ UI}}{\text{Neutrófilos absolutos} \times 10^9/\text{L}}$) elevado como $\text{ANRI} > 3.47$ y como normal $\text{ANRI} \leq 3.47$ [73, 74, 79, 80]
HALP	VAd4	Dicotómica	0 (Normal) 1 (HALP disminuido)	Presencia de índice hemoglobina - albúmina - linfocitos - plaquetas (hemoglobin - albumin - lymphocyte - platelet, $\text{HALP} = 100 \times \frac{\text{Hemoglobina} [\text{g/dL}] \times \text{Albúmina} [\text{g/dL}] \times \text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Plaquetas absolutas en sangre periférica}}$) disminuido definido como $\text{HALP} < 40$ y como normal $\text{HALP} \geq 40$ [81-83]
HB	VAd5	Dicotómica	0 (Normal) 1 (Hb disminuido)	Presencia de hemoglobina (Hb) disminuida definida como $\text{Hb} < 12\text{g/dL}$ y como normal $\text{Hb} \geq 12\text{g/dL}$ [84, 85]
LAR	VAd6	Dicotómica	0 (Normal) 1 (LAR elevado)	Presencia de ratio lactato deshidrogenasa - albúmina (lactate dehydrogenase - albumin ratio, $\text{LAR} = \frac{\text{Lactato deshidrogenasa}}{\text{Albúmina}}$) elevada definida como $\text{LAR} > 62.82$ y como normal $\text{LAR} \leq 62.82$ [86]
LMR	VAd7	Dicotómica	0 (Normal) 1 (LMR elevado)	Presencia de ratio linfocitos - monocitos (lymphocyte - monocyte ratio, $\text{LMR} = \frac{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Monocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevada definida como $\text{LMR} \geq 4.44$ y como normal $\text{LMR} < 4.44$ [71, 73, 74]
LLR	VAd8	Dicotómica	0 (Normal) 1 (LLR elevado)	Presencia de ratio leucocitos - linfocitos (leukocyte - lymphocyte ratio, $\text{LLR} = \frac{\text{Leucocitos absolutos en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevada definida como $\text{LLR} \geq 4.17$ y como normal $\text{LLR} < 4.17$ [73, 74]
NLR	VAd9	Dicotómica	0 (Normal) 1 (NLR elevado)	Presencia de ratio neutrófilos - linfocitos (neutrophil - lymphocyte ratio, $\text{NLR} = \frac{\text{Neutrófilos absolutos en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevada definida como $\text{NLR} \geq 3.2$ y como normal $\text{NLR} < 3.2$ [78, 82, 84, 87-90]
NPS	VAd10	Cualitativa	0 (NPS=0) 1 (NPS=1) 2 (NPS=2) 3 (NPS=3) 4 (NPS=4)	Índice pronóstico de Nápoles (Naples prognostic score, $\text{NPS} = \sum_{i=1}^4 \text{nps}_i$ donde $\text{nps}_1 = 1$ si $\text{alb} \geq 4\text{mg/dL}$, $\text{nps}_2 = 1$ si $\text{colesterol total} \leq 180\text{mg/dL}$, $\text{nps}_3 = 1$ si $\text{NLR} > 2.96$ y $\text{nps}_4 = 1$ si $\text{LMR} \geq 4.44$) [71]

Tabla 11: Variables analíticas asociadas a la enfermedad oncológica actual discretizadas (2/2).

Datos Analíticos Discretizados (2/2)				
	Alias	Tipo de variable	Rango	Descripción
PCR	VAd11	Dicotómica	0 (Normal) 1 (PCR elevada)	Presencia de proteína C reactiva (PCR) elevada definida como $PCR \geq 1\text{mg/L}$ y como normal $PCR < 1\text{mg/L}$ [77]
NPLHb	VAd12	Dicotómica	0 (Normal) 1 (NP/LHb elevado)	Presencia de ratio neutrófilos - plaquetas - linfocitos - hemoglobina (neutrophil - platelet - lymphocyte - hemoglobin ratio, $NPLHb = \frac{\text{Neutrófilos} \times \text{Plaquetas en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica} \times \text{Hemoglobina}}$) elevada definida como $NPLHb \geq 56.67$ y como normal $NPLHb < 56.67$ [72]
NPM	VAd13	Cualitativa	0 (NPM=0) 1 (NPM=1) 2 (NPM=2)	Nuevo modelo pronóstico (novel prognostic model, $NPM = \sum_{i=1}^4 npm_i$ donde $npm_1 = 1$ si $NP/LHb \geq 5.667$ y $npm_2 = 1$ si monocitos absolutos en sangre periférica $\geq 0.5051\text{mL}$) [72]
PLR	VAd14	Dicotómica	0 (Normal) 1 (PLR elevado)	Presencia de ratio plaquetas - linfocitos (platelet - lymphocyte ratio, $PLR = \frac{\text{Plaquetas absolutas en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevada definida como $PLR \geq 226$ y como normal $PLR < 226$ [78, 82, 87, 88, 90]
PNI	VAd15	Dicotómica	0 (Normal) 1 (PNI disminuido)	Presencia de índice pronóstico nutricional (prognostic nutritional index, $PNI = 5 \times \text{Linfocitos absolutos} \times 10^9/L + 10 \times \text{Albúmina [g/dL]}$) disminuido definido como $PNI < 36.18$ y como normal $PNI \geq 36.18$ [83, 88, 90, 91]
SI	VAd16	Dicotómica	0 (Normal) 1 (SI disminuido)	Presencia de hierro sérico (serum iron) disminuido como $SI < 13.5\mu\text{mol/L}$ y como normal $SI \geq 13.5\mu\text{mol/L}$ [92]
SII	VAd17	Dicotómica	0 (Normal) 1 (SII elevado)	Presencia de índice inflamación inmune sistémica (systemic immune inflammation index, $SII = \frac{\text{Neutrófilos absolutos} \times \text{Plaquetas en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevado como $SII > 10001L$ y como normal $SII \leq 10001L$ [73, 74]
SIRI	VAd18	Dicotómica	0 (Normal) 1 (SIRI elevado)	Presencia de índice respuesta inflamatoria sistémica (systemic inflammation response index, $SIRI = \frac{\text{Neutrófilos absolutos} \times \text{Monocitos en sangre periférica}}{\text{Linfocitos absolutos en sangre periférica}}$) elevado como $SIRI > 1.391L$ y como normal $SIRI \leq 1.391L$ [93]
COPNLR	VAd19	Cualitativa	0 (COP-NLR=0) 1 (COP-NLR=1) 2 (COP-NLR=2)	Índice combinado plaquetas - NLR (combined platelet - NLR score, $COP-NLR = \sum_{i=1}^2 copnlr_i$ donde $copnlr_1 = 1$ si $NLR > 3$ y $copnlr_2 = 1$ si plaquetas absolutas $> 300 \times 10^9/L$) [73, 74]
VITB12	VAd20	Dicotómica	0 (Normal) 1 (VitB12 elevada)	Presencia de vitamina B12 (VitB12) elevada definida como $VitB12 \geq 1000\text{pg/mL}$ y como normal $VitB12 < 1000\text{pg/mL}$ [75]

Tabla 12: Relación de biomarcadores onco-metabólicos analizados.

Biomarcadores analizados				
	Alias	Tipo de biomarcador		
Angiopoietin-like 4	ANGPTL4	Proteína hepatoquina		
Cathepsin D	CATD	Proteína lisosomal	proteasa	aspártica
Fibroblast growth factor 21	FGF21	Proteína hepatoquina		
Growth differentiation factor 15	GDF15	Proteína citoquina		
Hepatocyte growth factor	HGF	Proteína citoquina		
Intercellular adhesion molecule 1	ICAM1 (CD54)	Glicoproteína intercelular	de	adhesión
Interleukin 6	IL6	Proteína interleuquina		
Interleukin 10	IL10	Proteína interleuquina		
Interleukin 18	IL18	Proteína interleuquina		
Leptin	LEP	Proteína adipokuina		
Myeloperoxidase	MPO	Enzima		

V – RESULTADOS

V – RESULTADOS

5.1. RESULTADOS DE REVISIÓN DE LA LITERATURA SOBRE LOS BIOMACARDORES PROPUESTOS

5.1.1. Panel de biomarcadores onco-metabólicos seleccionados para el estudio

Primeramente, se realizó una revisión de la literatura con el objetivo de seleccionar biomarcadores plasmáticos asociados a factores solubles tumorales en pacientes oncológicos. El papel de estas moléculas en algunos casos puede ser promotora del nicho premetastásico y en otros protectora, intentando contrarrestar el desarrollo del mismo. Pero en todos ellos, la evidencia científica establece una asociación entre los 11 biomarcadores seleccionales y la progresión tumoral y, en ocasiones, se han postulado como biomarcadores pronóstico de enfermedad.

De manera detallada describimos a continuación cada uno de los biomarcadores seleccionados para este estudio, definiendo su alias, nombre completo, código OMIM del gen codificante, código UNIPROT de la proteína, estructura principal según base de datos UNIPROT, tipo de molécula, descripción de su acción, relación con neoplasias y con enfermedades no neoplásicas según la evidencia clínica previa en las Tablas 13 - 23.

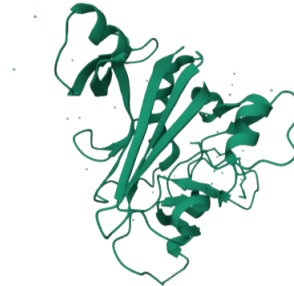
Tabla 13: Biomarcador ANGPTL4.

ANGPTL4

Angiopoietin-like 4

OMIM: 605910 (ANGPTL4)

UNIPROT: Q9BY76 (ANGPTL4)



Tipo	Proteína hepatoquina
Descripción	ANGPTL4 es una proteína expresada predominantemente en el tejido adiposo e hígado, aunque también se puede expresar en tejido muscular, cardíaco, endotelio vascular, macrófagos o células tumorales. Su expresión es regulada de manera multinivel por el estado nutricional o metabólico, y la hipoxia potencia también su expresión. Inhibe a la lipoproteinlipasa (LPL) lo cual implica un aumento de los triglicéridos circulantes en sangre [97, 98]. Desde el punto de vista angiogénico se ha descrito un comportamiento heterogéneo, habiéndose objetivado en estudios un papel proangiogénico que puede actuar independientemente de los factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF), mientras en otros un papel limitador al reducir la permeabilidad vascular. Este comportamiento heterogéneo también se ha evidenciado respecto a su potencial promotor o protector de la metastatización [99-101]. Actualmente, este comportamiento aparentemente contradictorio se explica en base al diferente procesamiento proteolítico de ANGPTL4 postranscripcional, existiendo diferentes formas que pueden potenciar en algunos casos la oncogénesis y la metastatización [97, 98, 102]
Neoplasias	Melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de endometrio, cáncer de próstata [98].
No neoplasias	Ateroesclerosis, dislipemia [101].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 14: Biomarcador CATD.

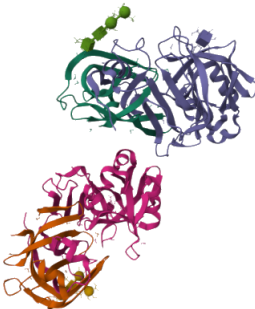
CATD Cathepsin D OMIM: 116840 (CTSD) UNIPROT: P07339 (CATD) 	
Tipo	Proteína proteasa aspártica lisosomal
Descripción	Cathepsin D es una proteína expresada en numerosos tejidos a nivel lisosomal. Se secreta como Procathepsin D y posteriormente es procesada dando lugar a la Cathepsin D [103, 104]. A nivel fisiológico desempeña no sólo un papel en la degradación proteica lisosomal, sino también en la regulación de la apoptosis. Por otra parte las células cancerígenas pueden secretar de manera irregular procathepsin D, que actúa como promotor de la replicación e invasión y prometastásico así como estimular las células del microambiente tumoral [104, 105].
Neoplasias	Cáncer de tiroides, carcinoma de pulmón, cáncer renal, gliomas, cáncer de laringe, cáncer de mama, cáncer de ovario [105].
No neoplasias	Lipofuscinosis ceroides neuronal[104].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 15: Biomarcador FGF21.

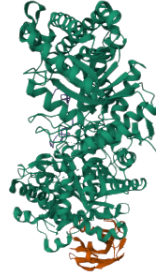
FGF21 Fibroblast growth factor 21 OMIM: 609436 (FGF21) UNIPROT: Q9NSA1 (FGF21)	
	
Tipo	Proteína hepatoquina
Descripción	FGF21 es una proteína con expresión mayoritariamente en hígado y en menor medida en tejido adiposo, músculo, corazón y páncreas [106, 107]. Pese a ello los niveles circulantes de FGF21 detectables provienen principalmente de la secreción hepática [106]. Su expresión tisular está fuertemente influenciada por el estado nutricional, regulándose tanto en los estados de ayuno como de realimentación y actuando como un factor clave en la homeostasis nutricional. En el caso del ayuno prolongado, el hígado comienza a secretar a la sangre FGF21 que favorece la gluconeogénesis y cetogénesis mediante la activación del eje hipotálamo - adrenal. Tras el ayuno, al iniciar la realimentación, FGF21 funciona como un sensibilizador a la insulina reduciendo los niveles de glucosa circulantes. Asimismo también juega un papel fundamental en la regulación térmica [106, 107]. Paralelamente a su producción fisiológica, se ha observado la secreción patológica de FGF21 por fibroblastos y adipocitos del microambiente tumoral. En estos casos, actúa como un factor inmunometabólico supresor de los linfocitos T CD8+ promoviendo su agotamiento. Esto facilita la progresión tumoral y la metastatización [108, 109].
Neoplasias	Hepatocarcinoma [34, 48].
No neoplasias	Síndrome metabólico [106, 107].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 16: Biomarcador GDF15.

GDF15 Growth differentiation factor 15 OMIM: 605312 (GDF15) UNIPROT: Q99988 (GDF15) 	
Tipo	Proteína citoquina
Descripción	Miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante-β (TGF-β). Su expresión basal en la mayoría de tejidos somáticos es escasa, pero se induce de forma marcada por estrés tisular, inflamación, daño, isquemia y cáncer [35, 110, 111]. En el contexto tumoral, GDF15 se comporta como una citoquina cuyos niveles plasmáticos elevados se asocian a un mayor riesgo de eventos y mortalidad. En concreto potencia la preferencia metabólica por la glucólisis en las células tumorales (reprogramación glucolítica conocida como efecto Warburg comentada en la introducción) a través de la vía de señalización TGF-β, favoreciendo así el crecimiento tumoral. Paralelamente, GDF15 induce anorexia y pérdida de peso, desempeñando un papel destacado en la caquexia asociada al cáncer [35, 110, 111]. Desde el punto de vista inmunológico, se ha propuesto que el GDF15 actúa como un nuevo punto de control inmunitario (<i>immune checkpoint</i>) emergente. Se ha observado que altas concentraciones de GDF15 en el tejido neoplásico podrían suprimir por una parte la maduración de las células dendríticas, y por otra parte elevar la secreción de TGF-β para así reducir la capacidad de los linfocitos T citotóxicos para penetrar en el tejido tumoral [35, 110].
Neoplasias	Cáncer colorrectal, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, mieloma múltiple [35, 110].
No neoplasias	Caquexia, síndrome metabólico, enfermedades autoinmunes [110, 111].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

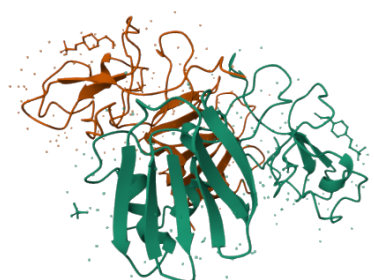
Tabla 17: Biomarcador HGF.

HGF

Hepatocyte growth factor

OMIM: 142409 (HGF)

UNIPROT: P14210 (HGF)



Tipo	Proteína citoquina
Descripción	HGF es un factor de crecimiento secretado principalmente por células mesenquimales que actúa a través de un receptor tirosinquinasa c-MET [31, 112, 113]. La vía de señalización HGF/c-MET está implicada en la progresión tumoral, la metástasis y el metabolismo del cáncer, participando en procesos como la proliferación celular, la supervivencia y la transición epitelio mesenquimal [31, 112, 113]. c-MET ha sido ampliamente estudiado como diana terapéutica y como biomarcador en la progresión oncológica [31, 113]. Desde el punto de vista de la angiogénesis tumoral, su señalización favorece la proliferación y migración de células endoteliales, y su inhibición reduce la angiogénesis tumoral en múltiples modelos; puede funcionar como vía angiogénica alternativa que media resistencia a inhibidores de VEGF/VEGFR [112, 113].
Neoplasias	Hepatocarcinoma, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, melanoma [31, 112, 113].
No neoplasias	Insuficiencia cardíaca [114], fibrosis pulmonar [115].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 18: Biomarcador ICAM1 (CD54).

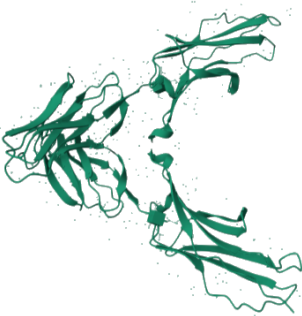
ICAM1 (CD54) Intercellular Adhesion Molecule 1 (Cluster of Differentiation 54) OMIM: 147840 (ICAM1) UNIPROT: P05362 (ICAM1) 	
Tipo	Glicoproteína de adhesión intercelular
Descripción	ICAM1 es una glicoproteína de adhesión intercelular. Su expresión basal es baja, pero aumenta marcadamente ante estímulos inflamatorios estimulando el reclutamiento de leucocitos desde la circulación hacia los tejidos inflamados, activando linfocitos T, regulando permeabilidad endotelial y epitelial dentro del proceso de resolución de la inflamación y reparación tisular [116, 117]. En el contexto oncológico, ICAM1 promueve la progresión del cáncer regulando la actividad de la molécula de señalización celular SRC como proteína adaptadora, tal como se ha descrito en el cáncer colorrectal [117]. Asimismo, el papel de ICAM1 como biomarcador inmunológico y pronóstico se ha observado en otras múltiples neoplasias [118]. Fomenta la formación de agrupaciones de células tumorales circulantes (CTC clusters) y la formación del nicho premetastásico [116, 117].
Neoplasias	Cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer gástrico [116-118].
No neoplasias	Procesos inflamatorios y resolución de lesiones tisulares [116-118].

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 19: Biomarcador IL6.

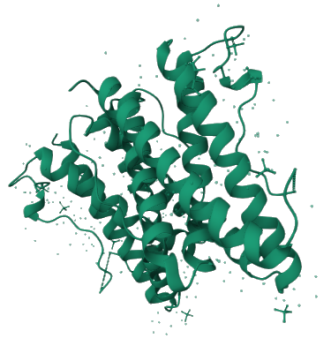
IL6 Interleukin 6 OMIM: 147620 (IL6) UNIPROT: P05231 (IL6) 	
Tipo	Proteína interleuquina
Descripción	Interleuquina proinflamatoria que activa STAT3 a través de la vía JAK en células tumorales y células del estroma. Facilita la transición epitelio-mesénquima e inhibe la inmunidad anti-tumoral mediada por linfocitos T citotóxicos [119, 120].
Neoplasias	Cáncer colorrectal, cáncer de mama [119, 120]
No neoplasias	Procesos inflamatorios

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 20: Biomarcador IL10.

IL10 Interleukin 10 OMIM: 124092 (IL10) UNIPROT: P22301 (IL10) 	
Tipo	Proteína interleuquina
Descripción	Interleuquina antiinflamatoria con actividad paradójicamente prometastásica en contextos malignos. Promueve el escape inmunológico mediante amplificación de linfocitos T reguladores, el aumento de expresión de PD-L1 en monocitos, y la inhibición de infiltración de linfocitos T CD8+, así como la inmunidad anti-tumoral citotóxica [121-123].
Neoplasias	Cáncer de mama, cáncer colorrectal [121, 124]
No neoplasias	Procesos inflamatorios

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

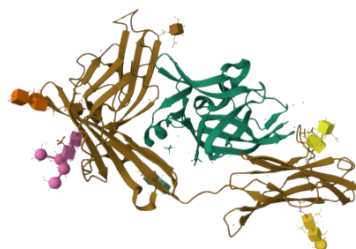
Tabla 21: Biomarcador IL18.

IL18

Interleukin 18

OMIM: 600953 (IL18)

UNIPROT: Q14116 (IL18)



Tipo	Proteína interleuquina
Descripción	Interleuquina proinflamatoria con funcionalidad dual dependiente del estadio tumoral y del contexto tisular. Puede suprimir el tumor primario, sin embargo, también puede potenciar la capacidad invasiva en fase metastásica [122, 125-127].
Neoplasias	Carcinoma hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer de mama [122, 125-127].
No neoplasias	Procesos inflamatorios.

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 22: Biomarcador LEP.

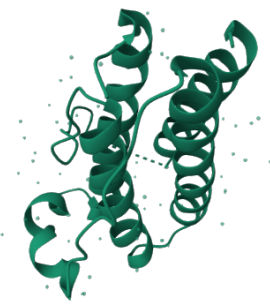
LEP Leptin OMIM: 164160 (LEP) UNIPROT: P41159 (LEP) 	
Tipo	Proteína adipoquina
Descripción	La leptina es una adipoquina secretada por el tejido adiposo con un papel hormonal multifuncional. Por una parte, regula el apetito y el balance energético y por otra parte, se asocia estrechamente con la masa grasa corporal [119, 128]. En el contexto tumoral se ha descrito la regulación del metabolismo energético en células de cáncer de mama por parte de la leptina, influyendo en procesos metabólicos celulares que pueden favorecer la supervivencia tumoral y la migración celular. En estudios epidemiológicos, se ha investigado la asociación entre los niveles circulantes de leptina y el pronóstico a largo plazo del cáncer de mama observando un comportamiento complejo, actuando como marcador de mejor pronóstico en ciertas cohortes y observándose como marcador de peor pronóstico en otras [128-131]. Adicionalmente, la leptina también ha sido identificada como un potencial biomarcador de pérdida de masa grasa en el contexto de la caquexia asociada al cáncer [119]. [119, 128].
Neoplasias	Cáncer de mama [129-131].
No neoplasias	Trastornos metabólicos.

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

Tabla 23: Biomarcador MPO.

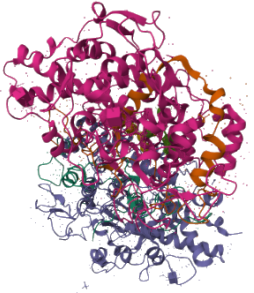
MPO Myeloperoxidase OMIM: 606989 (MPO) UNIPROT: P05164 (MPO) 	
Tipo	Enzima
Descripción	Enzima constitutivamente expresada en granulocitos neutrófilos. Ha sido estudiada en el contexto del microambiente tumoral como marcador subrogado de infiltración neutrofílica e invasión de células inflamatorias asociadas a progresión tumoral [132, 133]. Se ha descrito que la MPO altera la función de las células de cáncer de pulmón, favoreciendo su supervivencia [133]. En el contexto de la inmunoterapia, la inhibición de MPO ha demostrado potenciar la terapia de punto de control inmunitario (<i>immune checkpoint therapy</i>) en melanoma [28].
Neoplasias	Cáncer de pulmón, melanoma, cáncer colorrectal [28, 132, 133].
No neoplasias	Procesos inflamatorios.

Figura de elaboración propia, estructura del biomarcador extraída de UNIPROT.

5.2. ANÁLISIS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

5.2.1. Estudio poblacional descriptivo

Un total de 30 pacientes fueron reclutados sobre los 26 inicialmente planificados, con una proporción de 17 mujeres frente a 13 hombres. La mediana de edad al diagnóstico fue de 64.44 años abarcando un rango entre 32.31 y 79.52 años al diagnóstico. De los pacientes incluidos, aproximadamente 13 tenían antecedentes familiares de cáncer, que se limitan a sólo nueve en caso de familiares de primer grado. Como antecedentes de enfermedad oncológica pasada tres pacientes presentaban historia previa de cáncer, en todo caso resuelto. No se objetivó ningún caso de neoplasias concurrentes ni sincrónicas ni metacrónicas. A destacar como enfermedades prevalentes la presencia de artritis reumatoide de larga data en dos pacientes con necesidad de tratamiento inmunomodulador de años de evolución y un paciente seropositivo para el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) con carga viral indetectable bajo tratamiento con terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) de años de evolución. Estos tres pacientes no presentaban secuelas limitantes asociadas a dichas enfermedades. Estos datos están reflejados en la Tabla 24.

Respecto a las neoplasias diagnosticadas, los orígenes primarios predominantes fueron mama en 7 pacientes, pulmón en 4 pacientes y colon y vejiga en 3 pacientes cada uno respectivamente. En función del tipo histológico tumoral se objetivaron mayoritariamente adenocarcinoma en 8 pacientes, carcinoma ductal infiltrante en 5 pacientes, carcinoma neuroendocrino en 4 pacientes y carcinoma urotelial con 4 pacientes. Dichos resultados se muestran en la Tabla 24.

En el momento del diagnóstico la mediana de estadio fue de 2.5. Un total de 11 pacientes tenían afectación adenopática locorregional y 7 ya presentaban metástasis al diagnóstico. De los 7 pacientes metastásicos al diagnóstico, distinguimos 5 metástasis hepáticas, 4 tenían metástasis óseas, 3 metástasis peritoneales y uno

metástasis pulmonares. El volumen elipsoidal equivalente del tumor primario presentó una mediana de 6481.89mm^3 , con valor medio de 69313.19mm^3 y rango entre 65.45 y 1518661.60mm^3 . La carga tumoral al diagnóstico presentaba una mediana de 1 con un valor promedio de 2.8 y un rango entre 1 y 13. Un resumen de dichos datos se muestra en la Tabla 25.

A la extracción de sangre para el análisis de biomarcadores onco-metabólicos, el 60% de los pacientes presentaban enfermedad. La mediana del estadio fue de 3.5 y presentaron una carga tumoral mediana de 2 con un valor promedio de 3.3 y un rango entre 0 y 14. La mediana de recaídas fue nula con un valor promedio de 0.4 y un rango entre 0 y 2. El número de tratamientos recibidos hasta la extracción fue de 1.5 con un valor promedio de 1.7 y un rango entre 0 y 5. Los años con enfermedad que implican el periodo transcurrido entre el diagnóstico y la extracción mostraban una mediana de 0.39 con un valor promedio de 1.15, situándose el rango entre 0 y 5.4. La mediana de seguimiento de la población global fue de 202 días con un rango intercuartil de [144.25-232.75]. Dichos datos están recogidos en la Tabla 26.

En el momento del diagnóstico, dos pacientes (*JER11* y *JER3*) presentaban metástasis locorregionales que desaparecieron por completo con el tratamiento correspondiente llevado a cabo. El primer paciente fue diagnosticado de un adenocarcinoma de vesícula biliar con invasión del lecho hepático y afectación oligometastásica hepática de los segmentos perivesiculares 1, 5 y 6. Se realizó intervención quirúrgica radical con ecografía intraoperatoria y posterior tratamiento adyuvante con quimioterapia con cisplatino y gemcitabina. El segundo paciente presentó un carcinoma microcítico de pulmón localizado al diagnóstico que tras intervención desarrolla recaída oligometastásica pulmonar. Se inició quimioterapia combinada con inmunoterapia con carboplatino, etopósido y atezolizumab y posterior mantenimiento con atezolizumab en monoterapia alcanzando respuesta completa. En consecuencia, ninguno de los pacientes presentaba metástasis a la extracción e inclusión y llevaba libres de metástasis 6 y 12 meses respectivamente. De estos dos pacientes sólo el primero presentó recaída posterior en peritoneo y éxitus, sin presentar recaída hepática. El segundo paciente se encontraba en respuesta

completa tras dos años de tratamiento a fin de seguimiento del presente estudio.

Tabla 24: Características de la población de estudio (1/5).

Baseline demographic and clinical characteristics of the study population		
Characteristic	Type	Value
Population size	Size	30
Female : Male	Ratio	17:13
Age at diagnosis	Average	61.59
	Median	64.44
	Range	[32.31–79.52]
Age at sample collection	Average	62.73
	Median	66.86
	Range	[32.39–81.23]
Age at the end of follow-up	Average	63.21
	Median	67.36
	Range	[32.98–81.67]
History of family cancer	Average	0.43
	Median	0
History of past cancer	Average	0.1
	Median	0
Histological type of current cancer	Size	
Adenocarcinoma		8
Endometrioid adenocarcinoma		1
Serous adenocarcinoma		1
Clear cell carcinoma		1
Invasive ductal carcinoma		5
Squamous cell carcinoma		1
Invasive lobular carcinoma		2
Neuroendocrine carcinoma		4
High grade serous carcinoma		1
Urothelial carcinoma		4
Cholangiocarcinoma		1
Liposarcoma		1
Origin of current cancer	Size	
Colon		3
Cervix		1
Endometrium		2
Esophagus		1
Breast		7
Pancreas		2
Prostate		1
Lung		4
Retroperitoneal		1
Kidney		2
Bladder		3
Gallbladder		1
Distal biliary tract		1
Ovary		1

Figura de elaboración propia.

Tabla 25: Características de la población de estudio (2/5).

Population characteristics at diagnosis

Characteristic	Type	Value
Stage at diagnosis	Average	2.4
	Median	2.5
Equivalent primary tumor volume at diagnosis	Average	69313.19
	Median	6481.89
	Range	[65.45–1518661.60]
Tumor burden at diagnosis	Average	2.8
	Median	1
	Range	[1–13]
Lymph node involvement at diagnosis	Ratio	0.37
Metastasis at diagnosis	Ratio	0.23
Metastatic burden at diagnosis	Average	1.43
	Median	0
	Range	[0–12]
Bone metastasis at diagnosis	Ratio	0.57
Liver metastasis at diagnosis	Ratio	0.71
Lung metastasis at diagnosis	Ratio	0.14
Brain metastasis at diagnosis	Ratio	0
Peritoneum metastasis at diagnosis	Ratio	0.43
Kidney metastasis at diagnosis	Ratio	0
Distant lymph node metastases at diagnosis	Ratio	0
Skin metastasis at diagnosis	Ratio	0

Figura de elaboración propia.

Tabla 26: Características de la población de estudio (3/5).

Population characteristics at sample collection for biomarkers analysis

Characteristic	Type	Value
Age at sample collection	Average	62.7
	Median	66.9
	Range	[32.4–81.2]
Body mass index at sample collection	Average	24.1
	Median	23.3
	Range	[18.0–33.1]
Body surface at sample collection	Average	1.79
	Median	1.81
	Range	[1.42–2.17]
Presence of disease at sample collection	Ratio	0.6
Number of treatments at sample collection	Average	1.7
	Median	1.5
	Range	[0–5]
Number of relapses at sample collection	Average	0.4
	Median	0
	Range	[0–2]
Years with disease at sample collection	Average	1.15
	Median	0.39
	Range	[0–5.40]
Stage at sample collection	Average	3.03
	Median	3.5
	Range	[0–14]
Tumor burden at sample collection	Average	3.3
	Median	2
	Range	[0–14]
Lymph node involvement at sample collection	Ratio	0.37
Metastasis at sample collection	Ratio	0.4
Metastatic burden at sample collection	Average	2.4
	Median	0
	Range	[0–12]
Bone metastasis at sample collection	Ratio	0.5
Liver metastasis at sample collection	Ratio	0.42
Lung metastasis at sample collection	Ratio	0.5
Brain metastasis at sample collection	Ratio	0.08
Peritoneum metastasis at sample collection	Ratio	0.25
Kidney metastasis at sample collection	Ratio	0.08
Distant lymph node metastases at sample collection	Ratio	0
Skin metastasis at sample collection	Ratio	0.08

Figura de elaboración propia.

Tabla 27: Características de la población de estudio (4/5).

Population characteristics at post-extraction

Characteristic	Type	Value
Presence of disease at post-extraction	Ratio	0.67
Number of treatments at post-extraction	Average	1.9
	Median	2
	Range	[0–5]
Number of relapses after the extraction	Average	0.73
	Median	0.5
	Range	[0–3]
Years with disease at post-extraction	Average	1.59
	Median	0.92
	Range	[0–6.08]
Stage at post-extraction	Average	3.38
	Median	4
Tumor burden at post-extraction	Average	3.93
	Median	2
	Range	[0–14]
Lymph node involvement at post-extraction	Ratio	0.3
Metastasis at post-extraction	Ratio	0.57
Metastatic burden at post-extraction	Average	3.1
	Median	1
	Range	[0–12]
Bone metastasis at post-extraction	Ratio	0.35
Liver metastasis at post-extraction	Ratio	0.35
Lung metastasis at post-extraction	Ratio	0.35
Brain metastasis at post-extraction	Ratio	0.06
Peritoneum metastasis at post-extraction	Ratio	0.35
Kidney metastasis at post-extraction	Ratio	0.06
Distant lymph node metastases at post-extraction	Ratio	0.06
Skin metastasis at post-extraction	Ratio	0.06

Figura de elaboración propia.

Tabla 28: Características de la población de estudio (5/5).

Population characteristics at the end of follow-up		
Characteristic	Type	Value
Presence of disease at the end of follow-up	Ratio	0.67
Number of treatments at the end of follow-up	Average	2.07
	Median	2
	Range	[0–5]
Number of relapses at the end of follow-up	Average	1.03
	Median	0.5
	Range	[0–4]
Years with disease at the end of follow-up	Average	1.63
	Median	0.92
	Range	[0.01–6.08]
Stage at the end of follow-up	Average	3.23
	Median	4
Exitus	Size	0.23
Tumor burden at the end of follow-up	Average	4.2
	Median	2
	Range	[0–22]
Lymph node involvement at the end of follow-up	Ratio	0.3
Metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.57
Metastatic burden at the end of follow-up	Average	3.37
	Median	1
	Range	[0–20]
Bone metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.35
Liver metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.35
Lung metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.35
Brain metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.12
Peritoneum metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.41
Kidney metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.06
Distant lymph node metastases at the end of follow-up	Ratio	0.06
Skin metastasis at the end of follow-up	Ratio	0.06
Differences and follow-up		
Relative difference in tumor burden	Delta	0.27
Relative difference in lymphatic node involvement	Delta	-0.18
Relative difference in metastatic burden	Delta	0.40
Relative difference in relapses	Delta	1.58
Follow-up time	Average	191.1
	Median	202

Figura de elaboración propia.

5.2.2. Análisis de la situación de la enfermedad oncológica

La población de estudio reclutada se puede distribuir según su situación de enfermedad oncológica en el momento del reclutamiento y al final del seguimiento de la siguiente manera, y también se refleja en la Figura 5:

Situación 1 Ausencia de enfermedad a la extracción y al final del seguimiento: Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis.

Situación 1.1 Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis a la extracción y al final del seguimiento.

Situación 2 Presencia de enfermedad a la extracción y ausencia de enfermedad al fin del seguimiento: Presencia de tumor/recidiva local y/o metástasis a la extracción y ausencia completa de enfermedad al final del seguimiento.

Situación 2.1 Presencia de tumor/recidiva local a la extracción y ausencia completa de enfermedad al final del seguimiento.

Situación 2.2 Presencia de sólo metástasis a la extracción (tumor/recidiva local resecado) y ausencia completa de enfermedad al final del seguimiento.

Situación 2.3 Presencia de tumor/recidiva local y metástasis a la extracción y ausencia completa de enfermedad al final del seguimiento.

Situación 3 Ausencia de enfermedad a la extracción y presencia de enfermedad al final del seguimiento: Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de recaída local o metástasis al final del seguimiento.

Situación 3.1 Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de recaída local al final del seguimiento.

Situación 3.2 Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de metástasis al final del seguimiento.

Situación 3.3 Ausencia de tumor/recidiva local y de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de recaída local y metástasis al final del seguimiento.

Situación 4 Presencia de enfermedad a la extracción y al final del seguimiento:

Presencia de tumor/recidiva local y/o metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local o metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.1 Presencia de tumor/recidiva local a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local al final del seguimiento.

Situación 4.2 Presencia de tumor/recidiva local a la extracción y presencia de enfermedad en forma de metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.3 Presencia de tumor/recidiva local a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local y metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.4 Presencia de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local al final del seguimiento.

Situación 4.5 Presencia de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.6 Presencia de metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local y metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.7 Presencia de tumor/recidiva local y metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local al final del seguimiento.

Situación 4.8 Presencia de tumor/recidiva local y metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de metástasis al final del seguimiento.

Situación 4.9 Presencia de tumor/recidiva local y metástasis a la extracción y presencia de enfermedad en forma de tumor/recaída local y metástasis al final del seguimiento.

Tras el reclutamiento y el fin del seguimiento los 30 pacientes incluidos en el

estudio se distribuyen en su totalidad en la situación 1 (9 pacientes), 3 (3 pacientes) y 4 (18 pacientes). Tras el fin del seguimiento ninguno de los pacientes se enmarcaba dentro de la situación 2 de presencia de enfermedad a la extracción y ausencia de enfermedad al fin del seguimiento. La distribución por subgrupos se muestra en la Figura 6.

		AUSENCIA DE ENFERMEDAD AL FIN DEL SEGUIMIENTO	PRESENCIA DE ENFERMEDAD AL FIN DEL SEGUIMIENTO		
			LOCAL	METÁSTASIS	LOCAL Y METÁSTASIS
PRESENCIA DE ENFERMEDAD A LA EXTRACCIÓN	LOCAL Y METÁSTASIS	GRUPO 2 GRUPO 2.3	GRUPO 4.7	GRUPO 4.8	GRUPO 4.9
	METÁSTASIS	GRUPO 2.2	GRUPO 4.4	GRUPO 4.5	GRUPO 4.6
	LOCAL	GRUPO 2.1	GRUPO 4.1	GRUPO 4.2	GRUPO 4.3
AUSENCIA DE ENFERMEDAD A LA EXTRACCIÓN		GRUPO 1.1 GRUPO 1	GRUPO 3.1	GRUPO 3.2 GRUPO 3	GRUPO 3.3

Figura 5: Situación de la enfermedad oncológica de la población de estudio.

Figura de elaboración propia. Los individuos reclutados se distribuyen en función de su carga de enfermedad tumoral a la extracción y al fin del seguimiento.

Total: N=30		AUSENCIA DE ENFERMEDAD AL FIN DEL SEGUIMIENTO	PRESENCIA DE ENFERMEDAD AL FIN DEL SEGUIMIENTO		
			LOCAL	METÁSTASIS	LOCAL Y METÁSTASIS
PRESENCIA DE ENFERMEDAD A LA EXTRACCIÓN	LOCAL Y METÁSTASIS	GRUPO 2 0	0	0	10
	METÁSTASIS	0	0	2	0
	LOCAL	0	5	0	1
AUSENCIA DE ENFERMEDAD A LA EXTRACCIÓN		9 GRUPO 1	0	1	2
			GRUPO 4 (N=18)		
			GRUPO 3 (N=3)		

Figura 6: Tamaño de grupos y subgrupos de la población de estudio.

Figura de elaboración propia. Tamaño total de la población de estudio: 30 pacientes. Se muestra en la figura la distribución de los mismos en los diferentes grupos y subgrupos.

5.2.3. Evolución clínica de población de estudio

En la Figura 7, se muestra la diversa evolución de los pacientes reclutados. Se indica el momento de la extracción y su ubicación temporal dentro del intervalo diagnóstico-tratamiento o de los sucesivos tratamientos. Asimismo, se muestra también el intervalo de enfermedad metastásica para cada paciente.

EVOLUCIÓN DE POBLACIÓN DE ESTUDIO

Cronología de tratamientos, extracción de muestra, progresiones y formación de metástasis

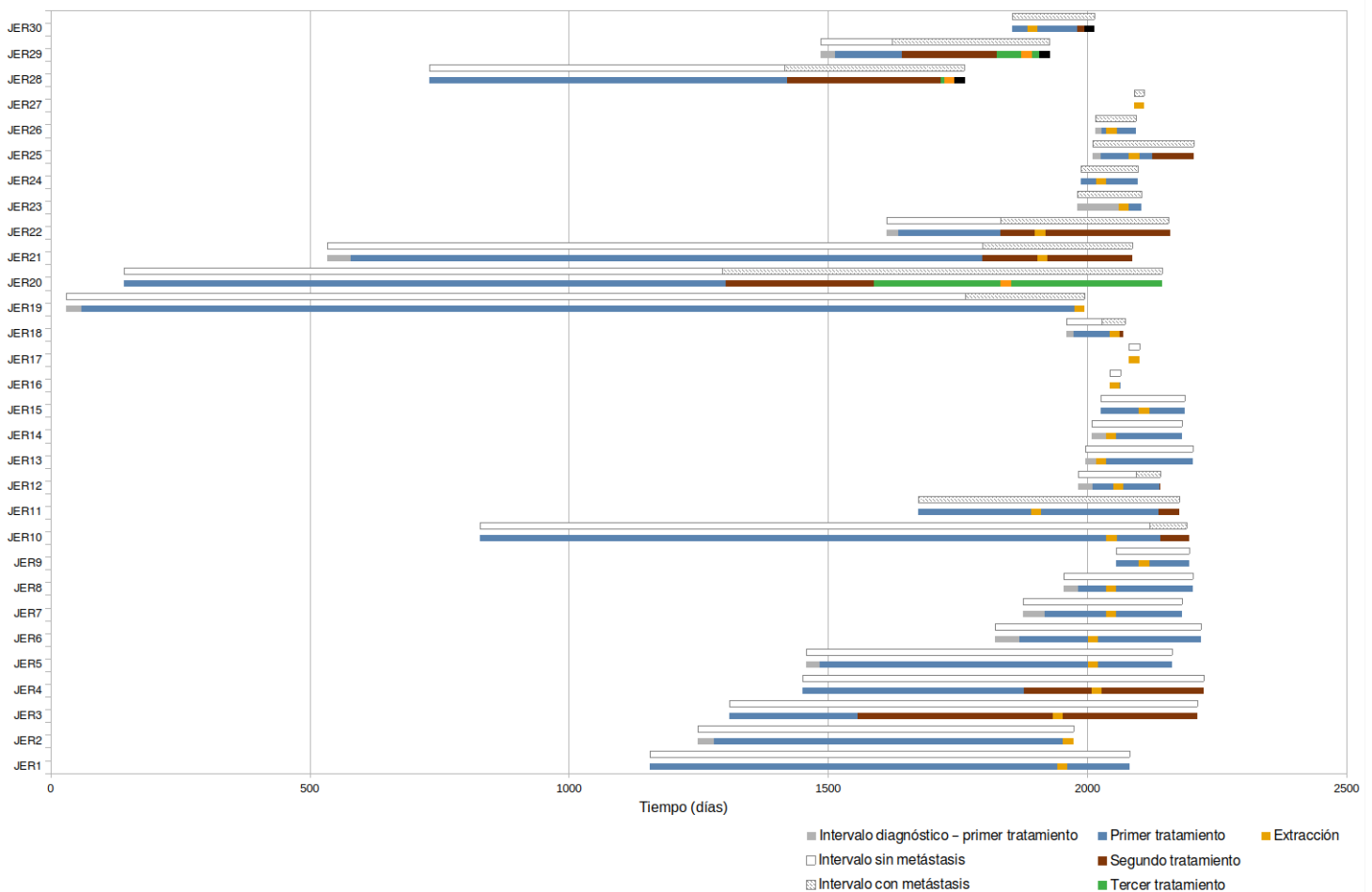


Figura 7: Evolución de población de estudio durante el seguimiento.

Figura de elaboración propia. Relación de pacientes identificados como «JER» y un código numérico con su evolución clínica, incluyendo intervalo de diagnóstico a primer tratamiento, tratamientos subsiguientes, extracción de muestra, éxitos si lo hubiera e intervalos premetastatización y postmetastatización.

5.3. ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS ANALÍTICOS Y BIOMARCADORES ONCO-METABÓLICOS

5.3.1. Descripción de valores obtenidos de biomarcadores y parámetros analíticos para la población de estudio

Los valores de los 11 biomarcadores onco-metabólicos y de los 20 parámetros analíticos globales mostraron perfiles distintos en los pacientes reclutados. Estos valores se muestran para los 30 pacientes en las Figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 previos al proceso de escalado min-max.

Asimismo los parámetros analíticos globales pueden discretizarse en función de los puntos de corte descritos en la literatura previa y recogidos en las Tablas 10 y 11. Con esta discretización puede visualizarse qué parámetros analíticos globales se encuentran en los rangos asociados a peor pronóstico según la literatura previa. En la Figura 16 se objetiva que a excepción de alb y pni, el resto de parámetros analíticos globales muestra al menos algún paciente con niveles en el rango superior asociados a peor pronóstico de la enfermedad oncológica para dicho parámetro.

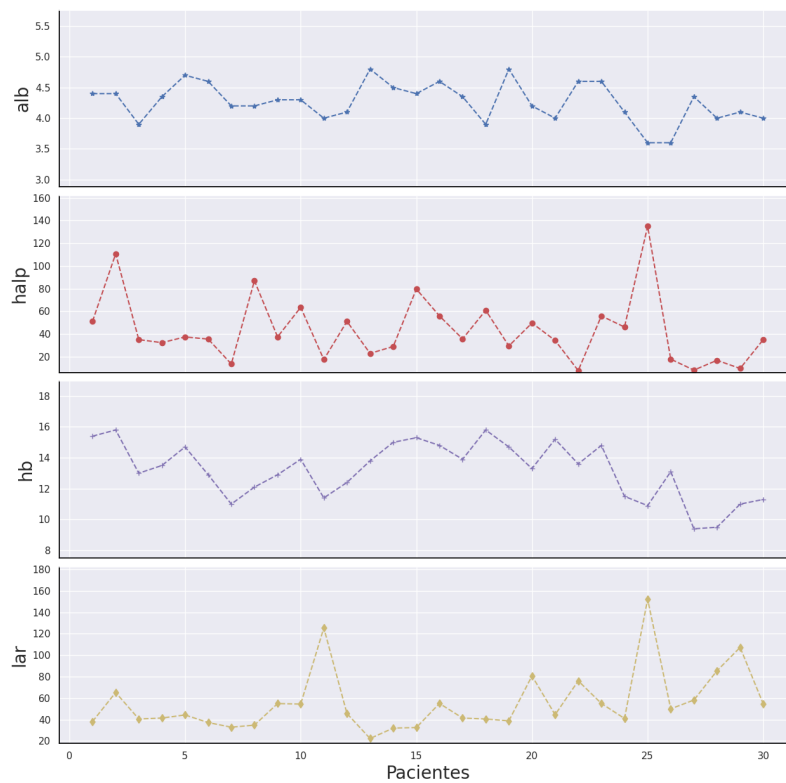


Figura 8: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

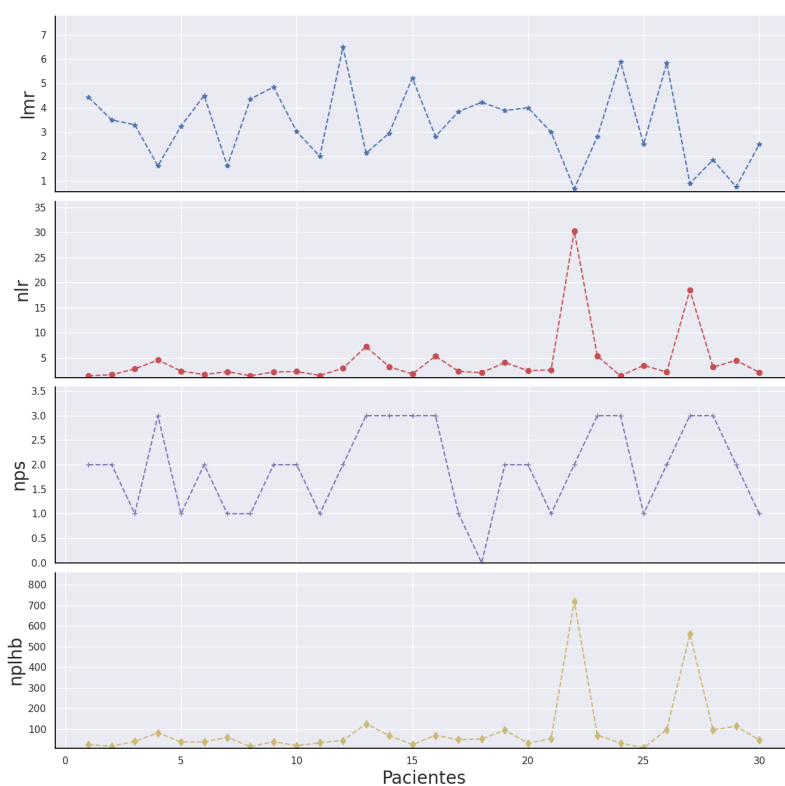


Figura 9: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

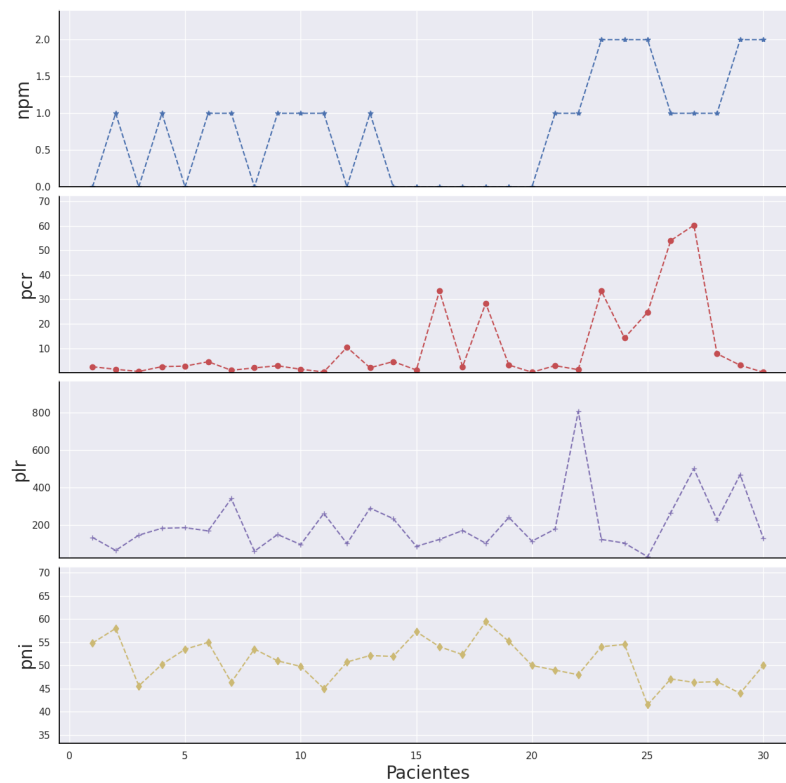


Figura 10: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

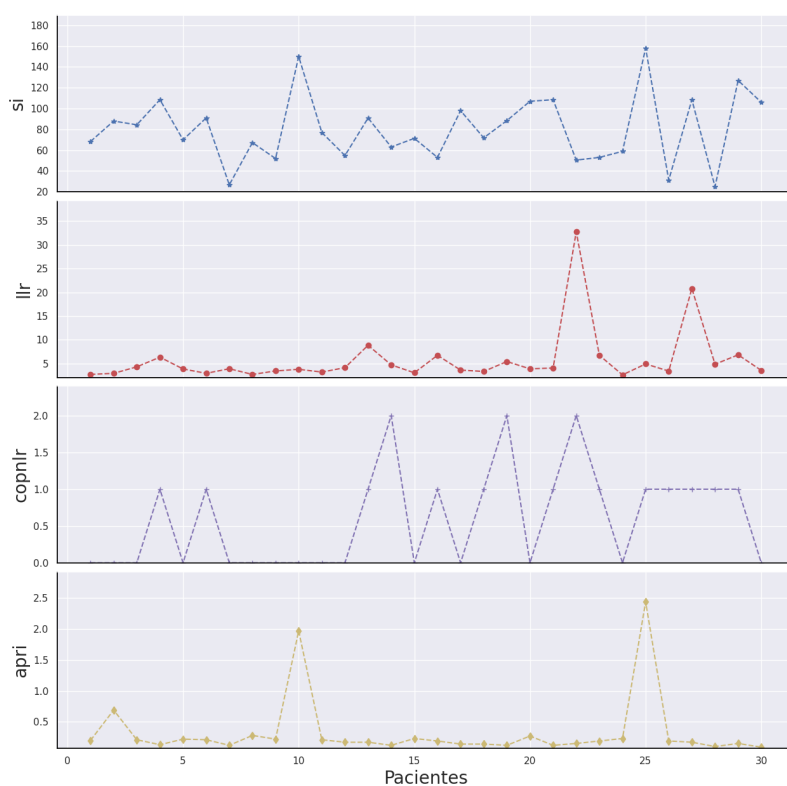


Figura 11: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

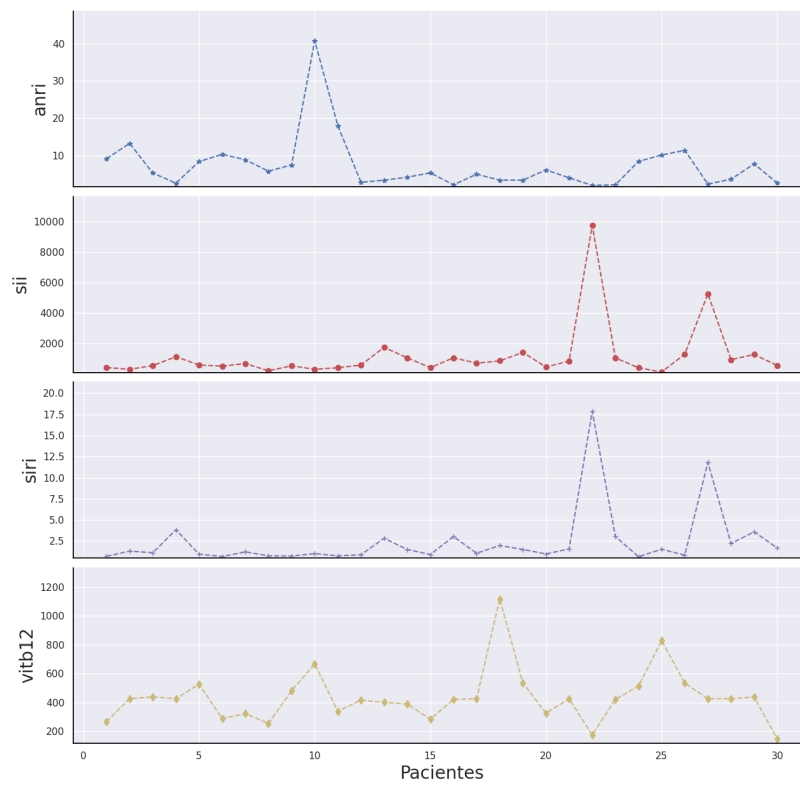


Figura 12: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

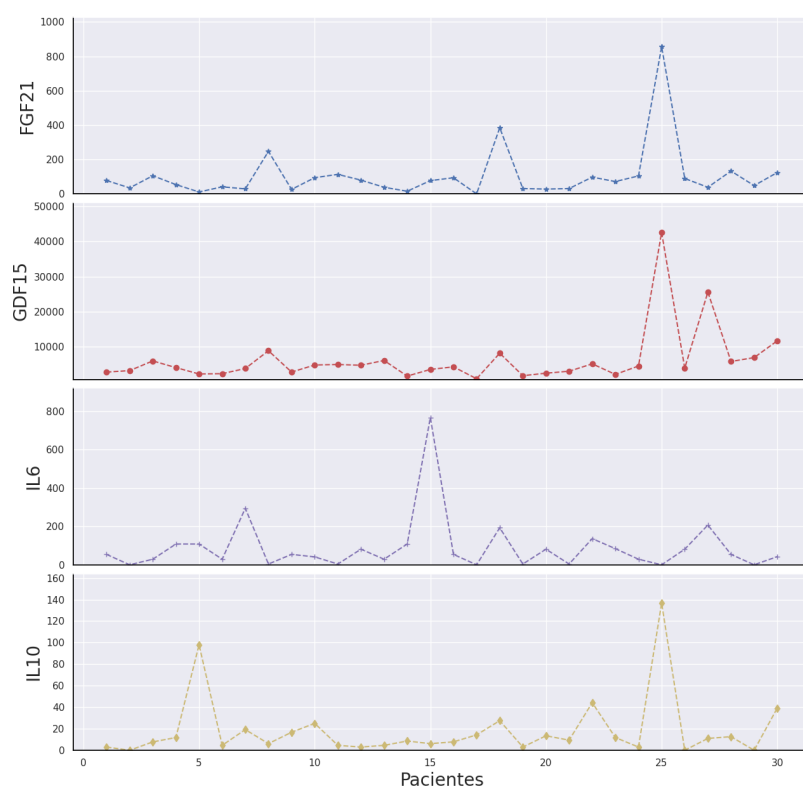


Figura 13: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

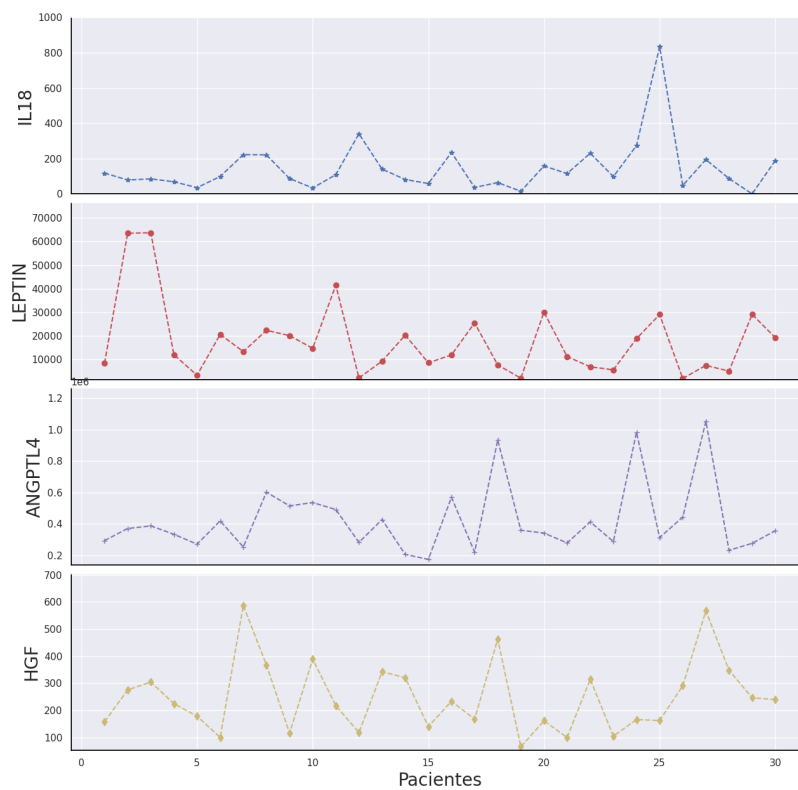


Figura 14: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

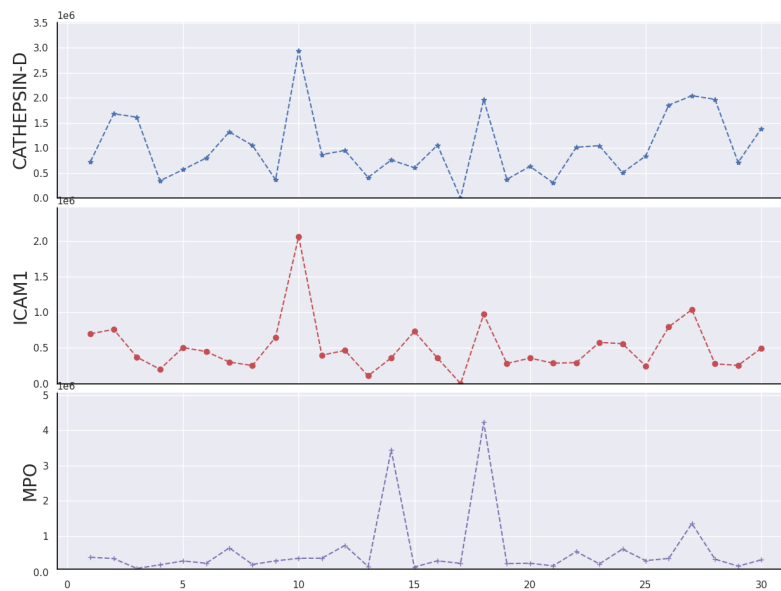


Figura 15: Perfil de valores de biomarcadores y parámetros analíticos globales.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los biomarcadores y de los parámetros analíticos globales. Posteriormente, para la construcción de las variables sintéticas de clúster dichos valores serán escalados para el rango mínimo - máximo registrado en la población de estudio. Por ello, los valores escalados resultantes estarán evaluados entre 0 y 1.

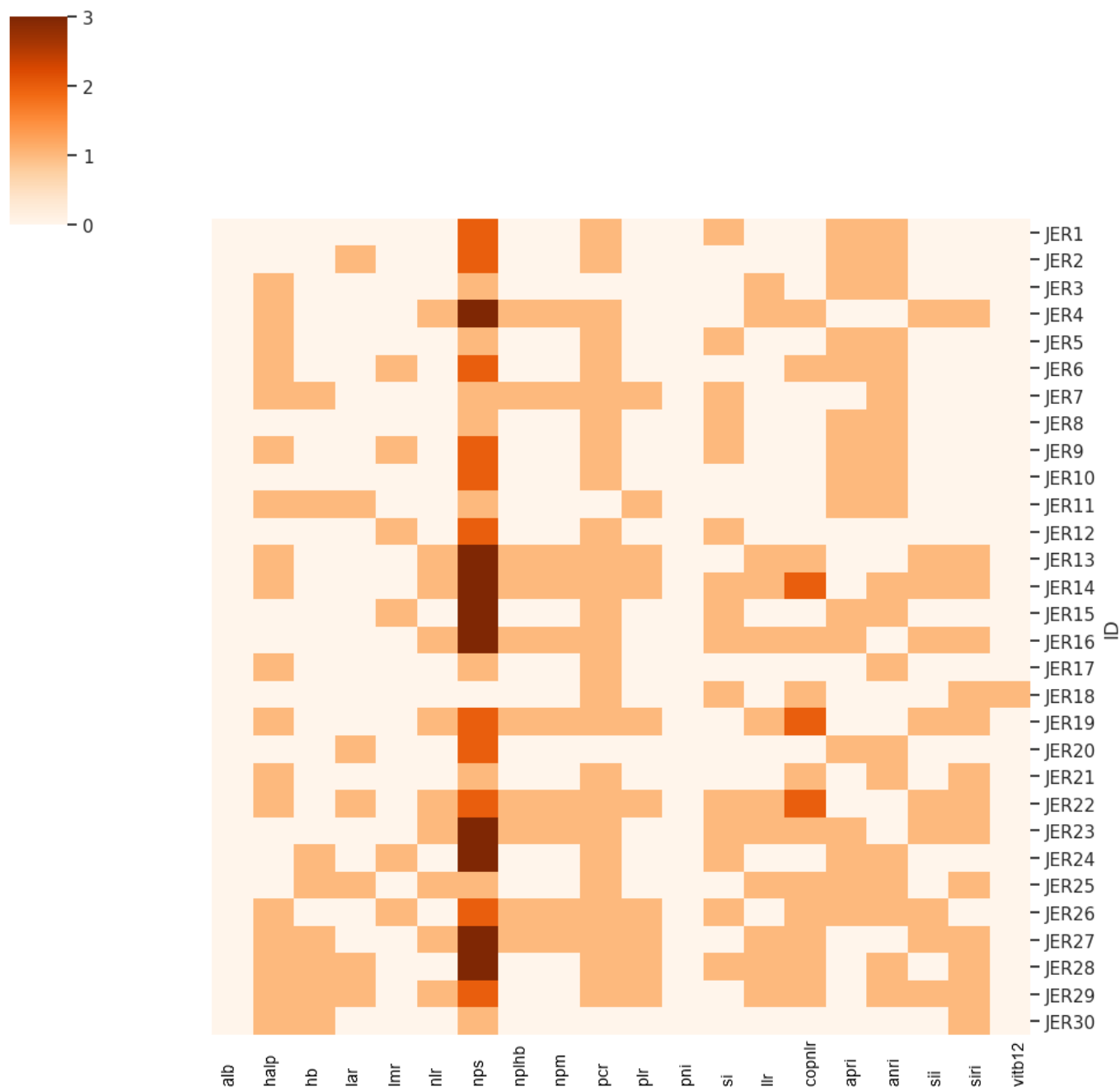


Figura 16: Perfil de parámetros analíticos globales discretizados.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de los parámetros analíticos globales discretizados en base a los niveles de referencia determinados por la literatura científica previa y descritos en las tablas 10 y 11 del capítulo "Material y Método". A excepción de los parámetros analíticos alb y pni, todos los demás mostraban al menos algún paciente con niveles en el rango superior asociado a peor pronóstico oncológico para dicho parámetro.

5.3.2. Test de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores

El análisis de normalidad de los parámetros analíticos y de los biomarcadores estudiados se ha llevado a cabo mediante el test de normalidad de Shapiro-Wilk dado el reducido tamaño muestral.

El test de Shapiro-Wilk parte de la hipótesis nula H_0 de que la muestra analizada proviene de una distribución normal. Por ello, si una vez calculado el estadístico W de Shapiro-Wilk se observa un nivel $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y no debería de ser considerada la muestra como normalmente distribuida. Esto implicaría en ese caso no poder hacer uso de test paramétricos o estandarización Z-score. Si se observa un nivel $p \geq 0.05$, la hipótesis no puede ser rechazada. Se representan en la Figura 17 los resultados obtenidos.

Del total de 20 parámetros analíticos y 11 biomarcadores, se obtuvo que 26 variables tenían un nivel de significancia $p < 0.05$ para el estadístico W . Esto implica que en un 81% de las variables analíticas y biomarcadores del estudio se descarta la hipótesis nula H_0 y no puede considerarse que dichas variables provengan de una distribución normal.

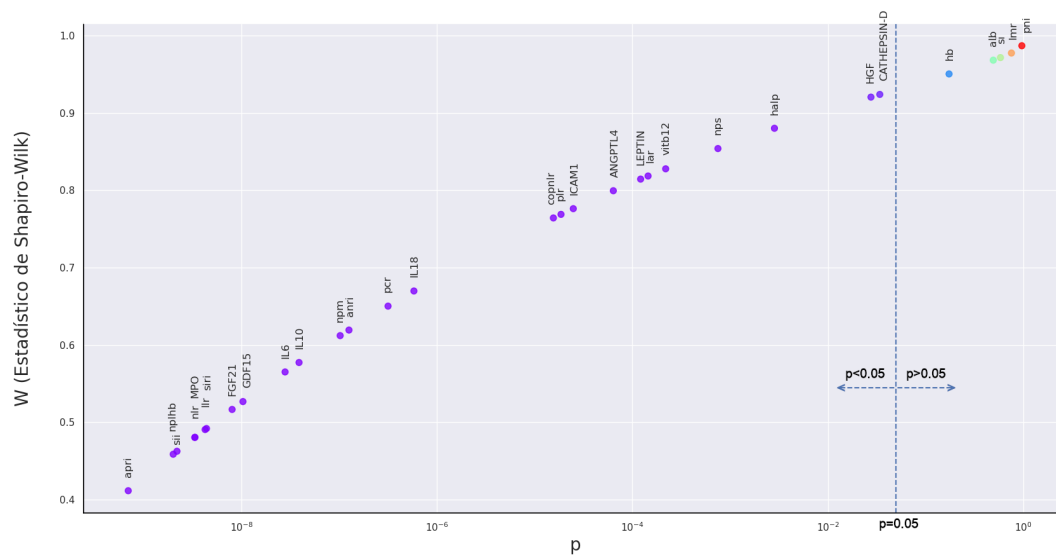


Figura 17: Análisis estadístico de normalidad de los parámetros analíticos y biomarcadores mediante test de Shapiro - Wilk.

Figura de elaboración propia. Se representa el valor del estadístico W frente a nivel de significación p . Podemos observar que 26 de las 31 variables (20 parámetros analíticos y 11 biomarcadores) se hallan en la región correspondiente a $p < 0.05$. Esto significa que no puede considerarse que esas 26 variables provengan de una distribución normal, constituyendo el 81% de las variables analíticas y biomarcadores totales del estudio.

5.3.3. Matriz de correlaciones de Spearman de biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales frente a superficie corporal, índice de masa corporal y edad

Se analizó la correlación de Spearman con los biomarcadores onco-metabólicos y los parámetros analíticos globales frente a la superficie corporal (*body surface*, BS), el índice de masa corporal (*body mass index*, BMI) y la edad (*age*).

Los parámetros analíticos globales exhibieron patrones de correlación similares frente tanto a la superficie corporal, como al índice de masa corporal. Se observaron correlaciones estadísticamente significativas en unas 12 variables del conjunto de parámetros analíticos globales, aunque no plenamente coincidentes. En la mayoría de las correlaciones estadísticamente significativas, se objetivó que los parámetros analíticos globales disminuían a mayor superficie corporal o índice de masa corporal. No se apreció correlación estadísticamente significativa de ningún parámetro analítico global con la edad.

Respecto a los biomarcadores onco-metabólicos se apreciaron correlaciones estadísticamente significativas para FGF21, GDF15 y ANGPTL4 con la edad, y de IL10 y LEPTIN con el índice de masa corporal.

Dichos resultados están reflejados en la Figura 18.

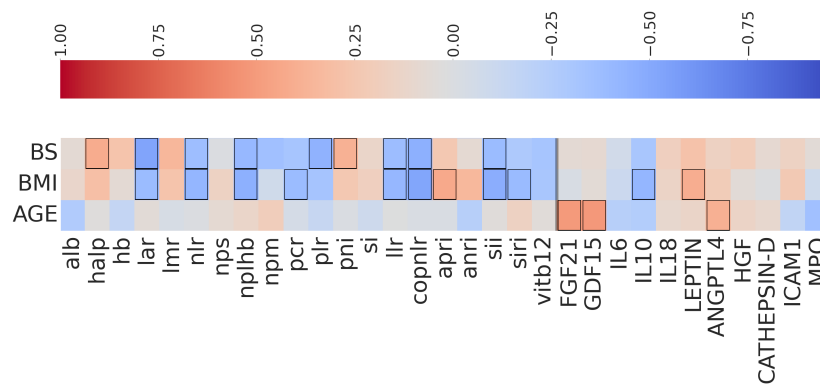


Figura 18: Mapa de calor de la matriz de correlaciones de Spearman de biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales frente a superficie corporal, índice de masa corporal y edad.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables frente a superficie corporal, índice de masa corporal y edad. Se muestran en la figura las correlaciones intervariables según coeficiente de correlación de Spearman agrupadas en base a biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales. Se remarcen con borde negro aquellas correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$) tras bootstrapping de 1000 remuestreos para cada par de combinaciones.

5.3.4. Matriz de correlaciones de Spearman para el conjunto completo de variables de estudio

El estudio de correlaciones de Spearman para el conjunto completo de variables de estudio mostró correlaciones entre parámetros analíticos globales, entre biomarcadores onco-metabólicos y entre parámetros analíticos globales con biomarcadores onco-metabólicos.

Dentro del grupo de parámetros analíticos globales, se observaron abundantes correlaciones estadísticamente significativas debido a que el cálculo de muchos de estos parámetros parte de variables comunes como el conteo de neutrófilos o plaquetas.

Respecto al grupo de biomarcadores onco-metabólicos, se apreciaron abundantes correlaciones positivas intragrupo, a excepción de LEPTIN con IL6 que mostraba correlación negativa y de la IL10 que no mostró correlaciones estadísticamente significativas con ninguna variable.

Las correlaciones entre parámetros analíticos globales y biomarcadores onco-metabólicos fueron escasas y dispersas, relacionándose sólo FGF21, GDF15, IL6, IL18, LEPTIN, HGF e ICAM1 de manera significativa con algunos parámetros analíticos globales.

Estos resultados se muestran en la Figura 19.

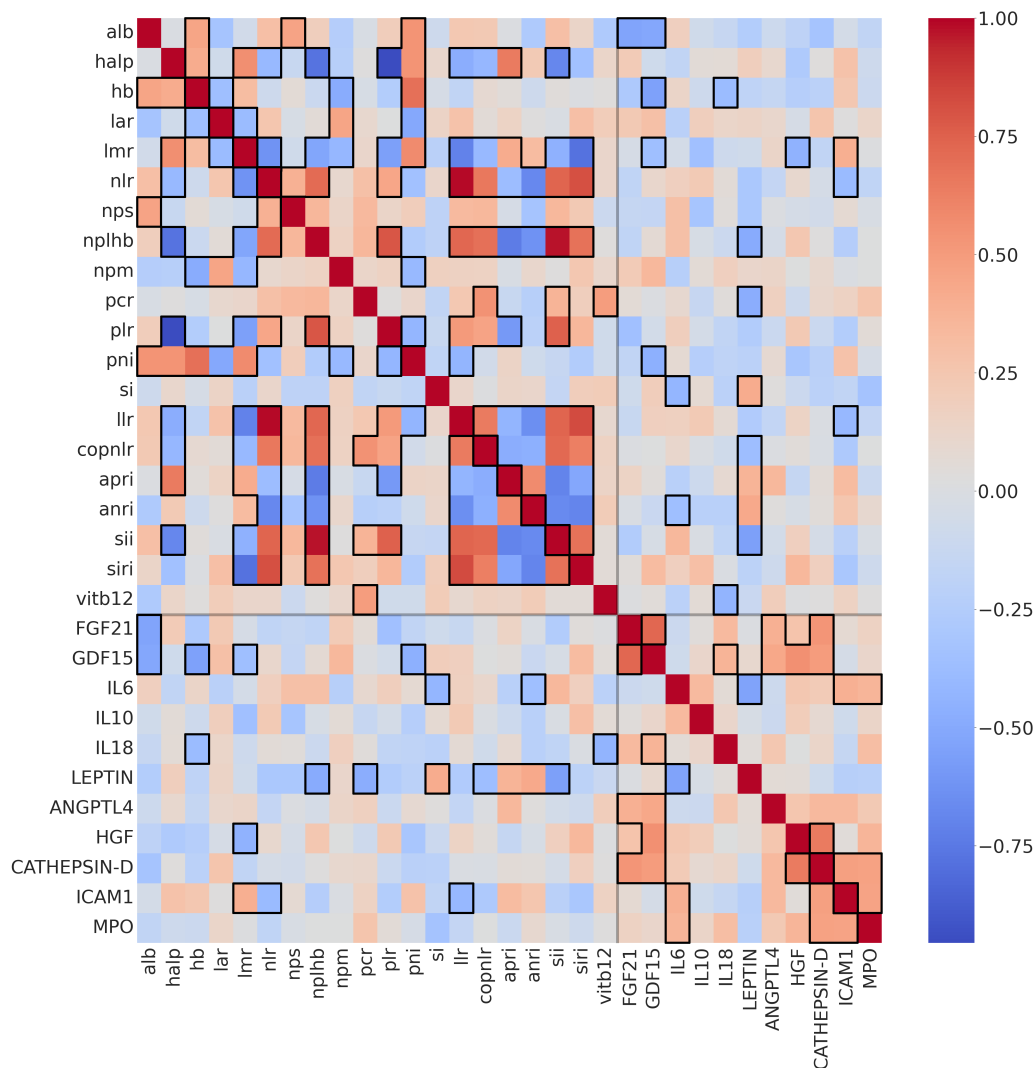


Figura 19: Mapa de calor de la matriz de correlaciones de Spearman para el conjunto completo de variables de estudio.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestran en la figura las correlaciones intervariables según coeficiente de correlación de Spearman agrupadas en cuatro cuadrantes en base a biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales. Se remarcaban con borde negro aquellas correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$) tras bootstrapping de 1000 remuestreos para cada par de combinaciones.

5.3.5. Clustering jerarquizado por agregación de variables para la población de estudio completa

El estudio de clústeres jerarquizado por agregación de variables para la población de estudio completa mostró el agrupamiento de las variables representado en el mapa de calor de la Figura 20.

Mediante la aplicación del método del codo (*elbow method*) se objetivó que el número óptimo de clústeres era dos, tal y como se muestra en la Figura 22. Paralelamente mediante el método del coeficiente de silueta (*silhouette score*) se obtuvo el mismo resultado tal y como se refleja en la Figura 23 y en el Anexo 1. Por todo ello, se definió el número óptimo de clústeres en dos.

Con dichos resultados se procedió a aplicar el punto de corte en el dendrograma quedando divididos dos clústeres bien identificados (Figura 21). Por una parte observamos un clúster inicial con cinco variables todas ellas parámetros analíticos globales. Por otra parte obtenemos un segundo clúster constituido por un subgrupo conformado por todos los biomarcadores onco-metabólicos y algunos parámetros analíticos globales y un subgrupo con los parámetros analíticos globales restantes.

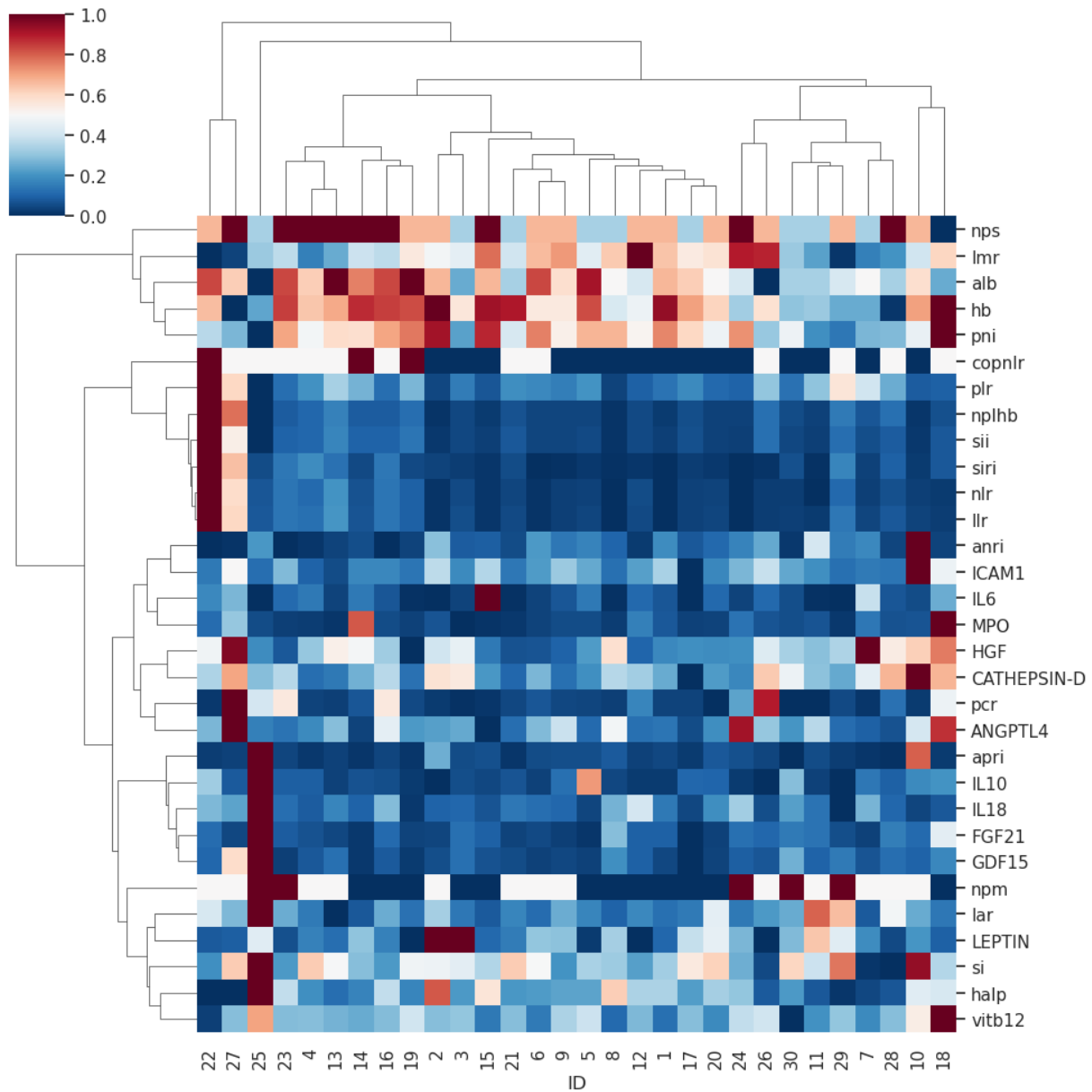


Figura 20: Mapa de calor de los clústeres jerarquizados por variables y pacientes para la población de estudio completa.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las variables de estudio y los pacientes agrupados por clústeres jerarquizados mediante algoritmo de agrupamiento con métrica euclidiana y método de Ward.

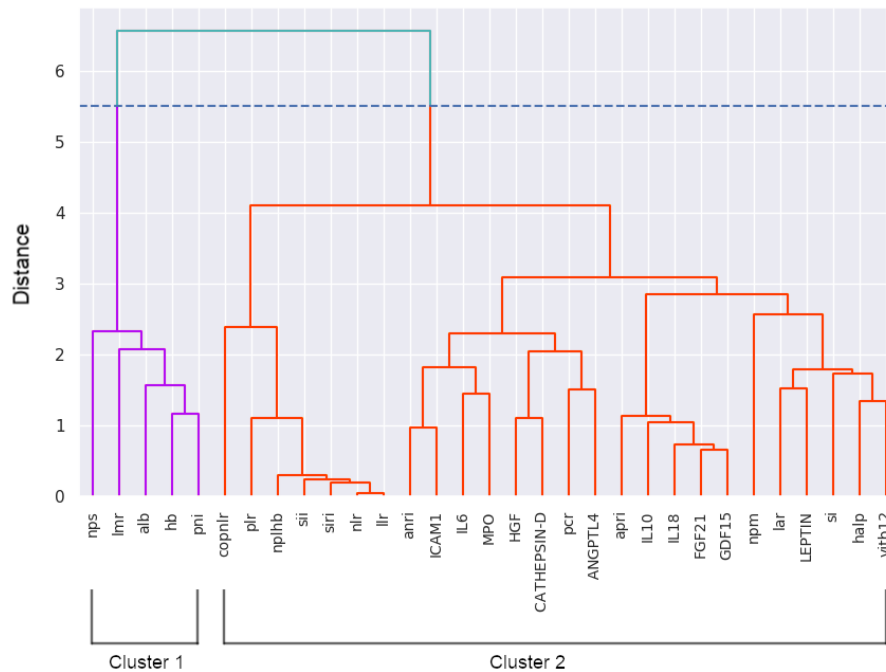


Figura 21: Dendrograma de los clústeres jerarquizados por variables para la población de estudio completa.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura el dendrograma de las variables de estudio resultante del análisis de clústeres jerarquizados mediante algoritmo de agrupamiento con métrica euclidiana y método de Ward. Se marca en línea discontinua azul la línea de corte del número óptimo de clústeres según análisis mediante método del codo (*elbow method*) y método de *silhouette score*.

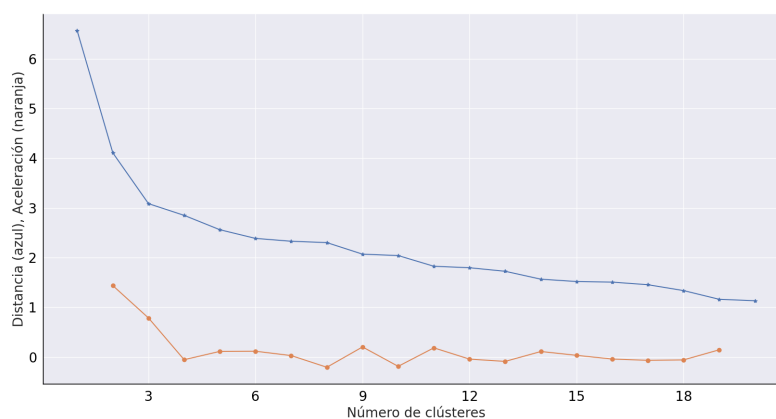


Figura 22: Diagrama de distancias, aceleración y número de clústeres según método del codo (*elbow method*) por variables para la población de estudio completa.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas de distancia y aceleración entre clústeres de variables mediante método del codo (*elbow method*) que permiten obtener el máximo de aceleración que definimos como número óptimo de clústeres y se reflejó en el dendrograma previo.

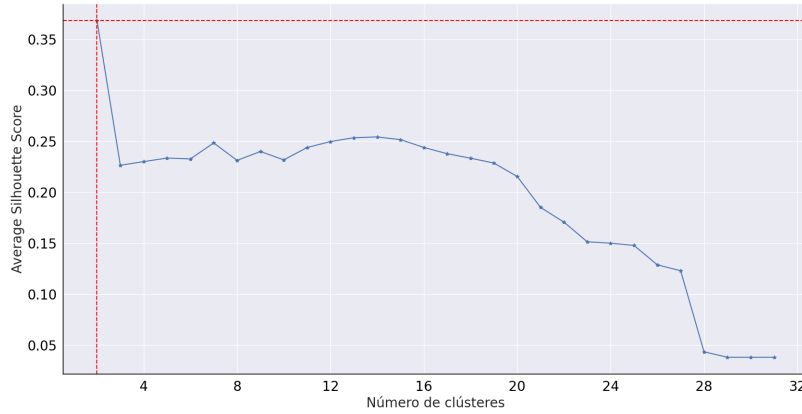


Figura 23: Diagrama de *Average Silhouette Score* y número de clústeres según método de *silhouette score* por variables para la población de estudio completa.

Figura de elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura la curvas de *Average Silhouette Score* frente a número de clústeres de variables mediante método de *Silhouette Score* que permiten obtener el máximo de *Average Silhouette Score* que definimos como número óptimo de clústeres y se reflejó en el dendrograma previo.

5.3.6. Creación de variables sintéticas de estudio por clúster

Por cada uno de los dos clústeres identificados, se procedió a la creación de la variable sintética de estudio cuyo valor resultante para cada paciente era equivalente a la suma del valor de las variables del clúster para dicho paciente. Así se obtuvo una variable de clúster denominada Stigma (ζ) procedente del primer clúster y una variable denominada (φ) procedente del segundo clúster:

$$\varphi = \varphi_G + \varphi_B \quad (3)$$

$$\zeta = \text{nps} + \text{lmr} + \text{alb} + \text{hb} + \text{pni} \quad (4)$$

$$\begin{aligned} \varphi_G = & \text{copnlr} + \text{plr} + \text{nplhb} + \text{sii} + \text{siri} + \text{nlr} + \text{llr} + \text{anri} + \text{pcr} + \text{apri} + \text{npm} + \text{lar} + \\ & + \text{si} + \text{halp} + \text{vitb12} \end{aligned} \quad (5)$$

$$Q_B = \text{ICAM1} + \text{IL6} + \text{MPO} + \text{HGF} + \text{CATHEPSIND} + \text{ANGPTL4} + \text{IL10} + \text{IL18} + \\ + \text{FGF21} + \text{GDF15} + \text{LEPTIN} \quad (6)$$

Dado que Stigma proviene de un clúster con 5 variables y que Qoppa proviene de un clúster con 26 variables, sus valores dentro de este estudio están acotados entre 0 y 5 para Stigma y entre 0 y 26 para Qoppa. Es importante mencionar que la extrapolación de los resultados de este análisis a otros posibles estudios posteriores no implica que tanto Stigma como Qoppa tengan que limitarse a dichos rangos, pudiendo tomar valores superiores en otra población. La distribución de dichas variables sintéticas para los pacientes reclutados se muestra en la Figura 24.

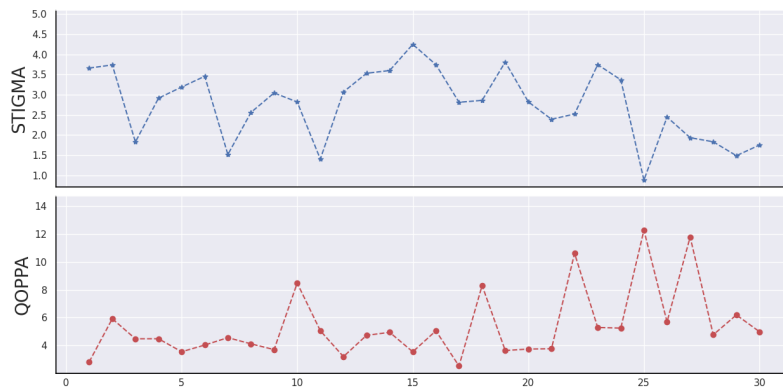


Figura 24: Perfil de valores de variables sintéticas de clústeres Stigma (ζ) y Qoppa (ϕ).

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de las variables sintéticas Stigma (ζ) y Qoppa (ϕ). Dado que Stigma proviene de un clúster con 5 variables y que Qoppa proviene de un clúster con 26 variables, sus valores dentro de este estudio están acotados entre 0 y 5 para Stigma y entre 0 y 26 para Qoppa. La extrapolación de los resultados de este análisis a posibles estudios posteriores no implica que tanto Stigma como Qoppa tengan que limitarse a dichos rangos, pudiendo tomar valores superiores en otra población.

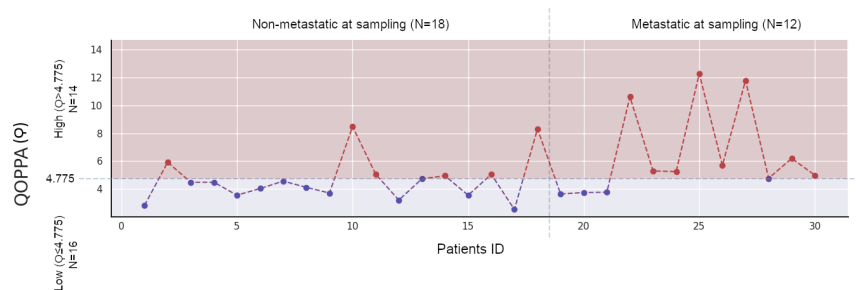


Figura 25: Perfil de valores Qoppa (Q) distribuido por status metastásico a la extracción.

Figura de elaboración propia. Se representan los valores de Qoppa (Q) distribuidos según la presencia o no de metástasis a la extracción.

5.4. ANÁLISIS MULTIVARIANTE CLÍNICO - ANALÍTICO

El estudio de las variables Stigma y Qoppa como clasificadoras del I) riesgo de éxitus, II) desarrollo de metástasis *de novo* en pacientes no metastásicos a la extracción y III) de la progresión metastásica en pacientes sí metastásicos a la extracción fue realizado mediante las curvas operador ROC. Para ello se realizaron las curvas ROC para las diferentes casuísticas (I-III), se calculó el área bajo la curva (AUC) para cada caso y se dedujeron los puntos óptimos de corte de Stigma y Qoppa.

Dichas curvas ROC están disponibles en las Figuras 26 - 45.

Tal y como se comentó en la sección de resultados (descripción de la población de estudio), en el grupo de pacientes sin metástasis a la extracción se incluyeron dos pacientes (*JER3* y *JER11*) que sí habían presentado metástasis al diagnóstico y habían tenido una respuesta completa con el tratamiento. Estos pacientes en el momento de la inclusión llevaban 6 y 12 meses libres de metástasis. En el seguimiento posterior ninguno de los dos pacientes recayó en las localizaciones metastásicas originales. Pese a ello, su inclusión en dicho grupo podría ser una fuente de sesgo. Por ello se ha repetido el análisis de curvas operador ROC sin incluir ambos pacientes obteniendo resultados análogos a los del estudio principal. Dicho subanálisis se encuentra recogido en los Anexos 2, 3 y 4.

5.4.1. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión

En el caso de Stigma (ζ), se observa en la Figura 26 un AUC de 0.35 y un intervalo de confianza que cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.35$). Por ello, deducimos que Stigma (ζ) no parece útil para predecir la aparición de metástasis *de novo* en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

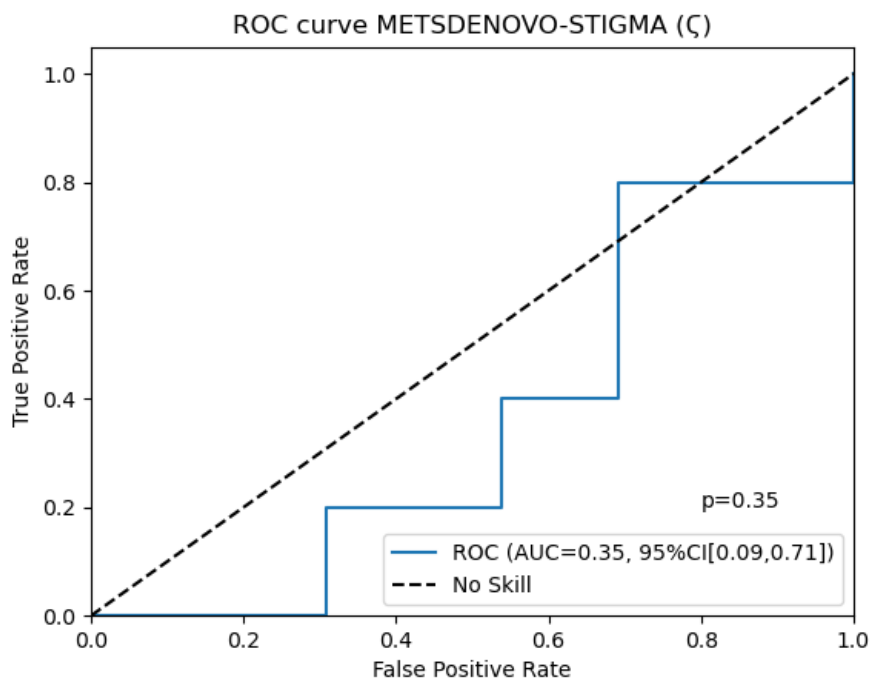


Figura 26: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.35.

En el caso de Qoppa ($\mathcal{Q}$), se observa en la Figura 27 un AUC de 0.78 y un intervalo de confianza que cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.07$). Por ello, deducimos que Qoppa ($\mathcal{Q}$) puede mostrar cierta capacidad discriminativa ($AUC=0.78$), pero no parece suficiente para predecir de forma sólida la aparición de metástasis *de novo* en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

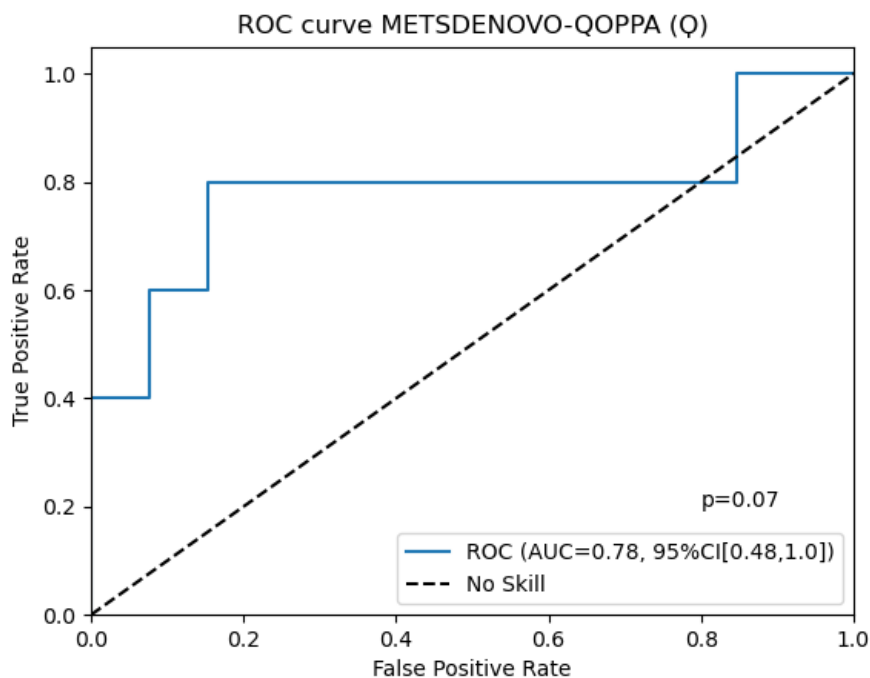


Figura 27: Curva ROC para Qoppa ($\mathcal{Q}$) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa ($\mathcal{Q}$) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.78.

Como se puede observar en la Figura 28, el intervalo de confianza cruza 0.5, lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.08$). Por ello, deducimos que Qoppa-Biomarcador puede mostrar cierta capacidad discriminativa ($AUC=0.77$) pero no parece suficiente para predecir de forma sólida la aparición de metástasis *de novo* en esta muestra; no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

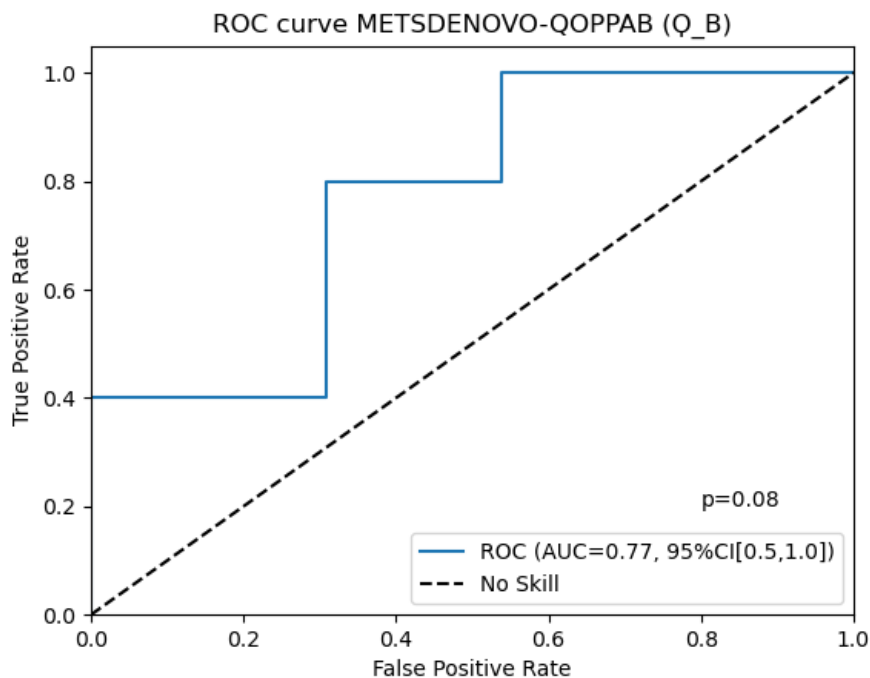


Figura 28: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.77.

Como se puede observar en la Figura 29, el intervalo de confianza cruza 0.5, lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.15$). Por ello, deducimos que Qoppa-analítico puede mostrar cierta capacidad discriminativa ($AUC=0.72$) pero no parece suficiente para predecir de forma sólida la aparición de metástasis *de novo* en esta muestra; no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

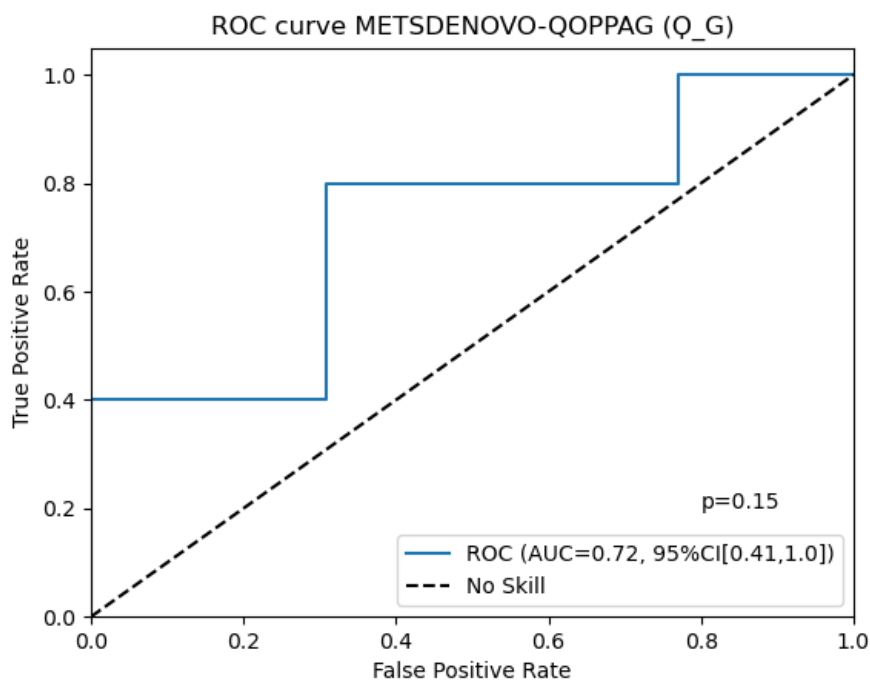


Figura 29: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.72.

Los resultados del subanálisis de curvas operador ROC para riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con la exclusión de los pacientes *JER3* y *JER11* se encuentran disponibles en el Anexo 2.

5.4.2. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión

En el caso de Stigma (ζ), se observa en la Figura 30 un AUC de 0.4 y un intervalo de confianza que cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.67$). Por ello, deducimos que Stigma (ζ) no parece útil para predecir la progresión metastásica en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

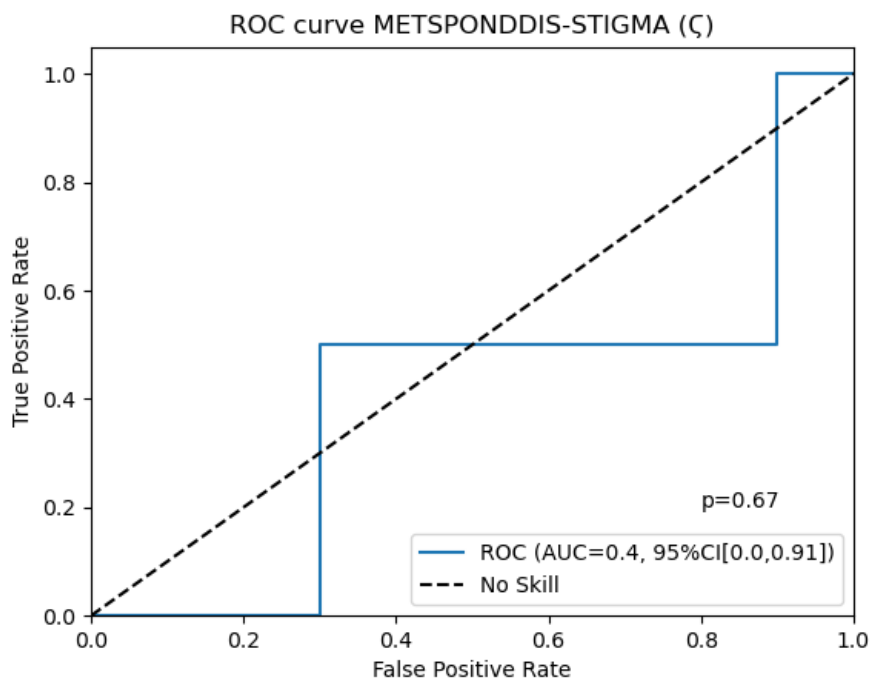


Figura 30: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.40.

En el caso de Qoppa ($\mathcal{Q}$), se observa en la Figura 31 un AUC de 0.4 y un intervalo de confianza que cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.67$). Por ello, deducimos que Qoppa ($\mathcal{Q}$) no parece útil para predecir la progresión metastásica en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

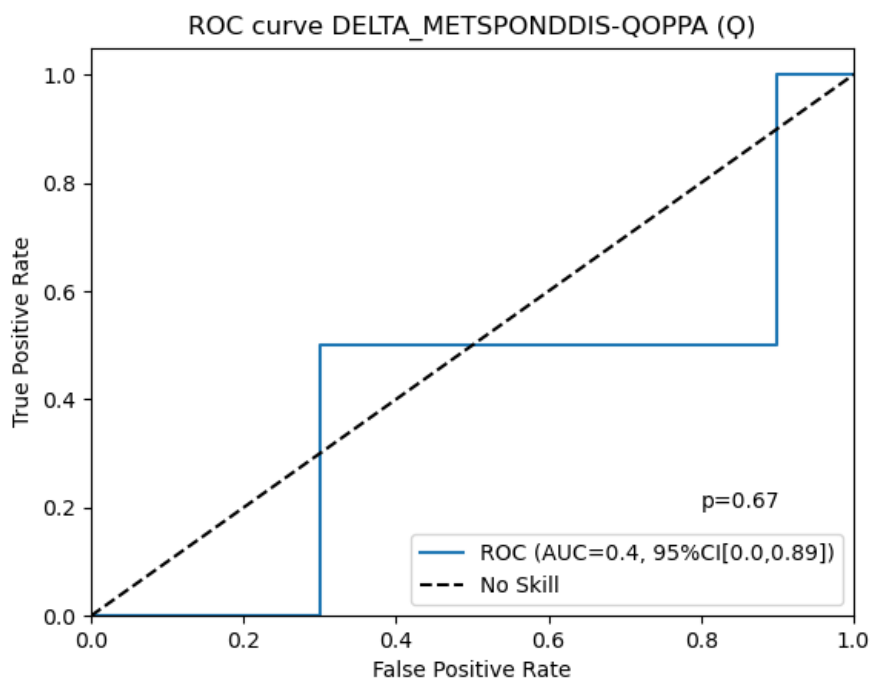


Figura 31: Curva ROC para Qoppa ($\mathcal{Q}$) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa ($\mathcal{Q}$) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.40.

Como se puede observar en la Figura 32, el intervalo de confianza cruza 0.5, lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.39$). Por ello, deducimos que Qoppa-biomarcador no parece útil para predecir la progresión metastásica en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

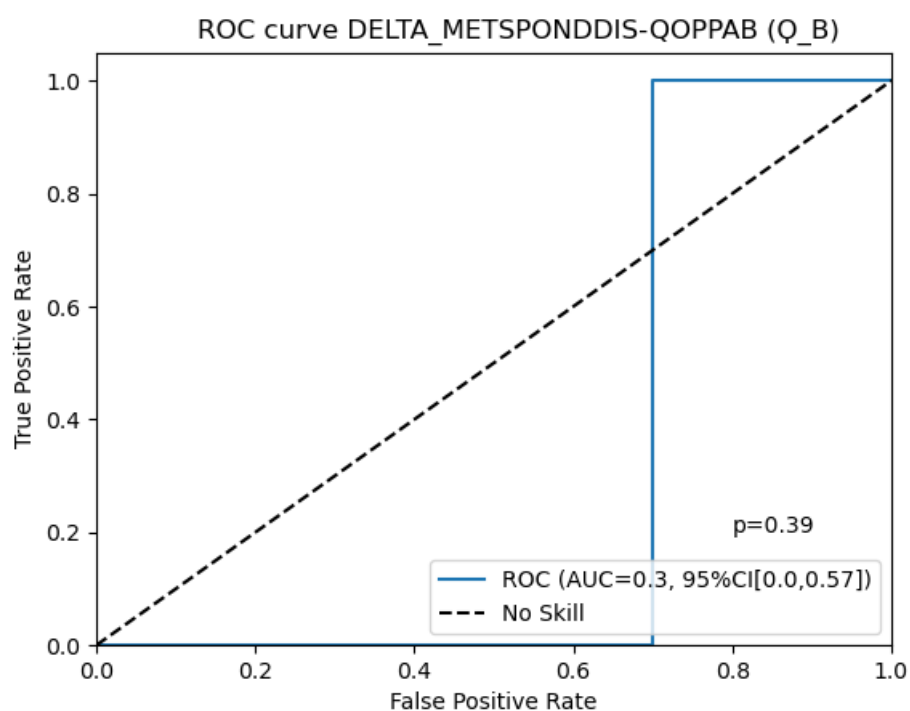


Figura 32: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.30.

Como se puede observar en la Figura 33, el intervalo de confianza cruza 0.5, lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.52$). Por ello, deducimos que Qoppa-analítico no parece útil para predecir la progresión metastásica en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos, probablemente debido al reducido número de casos.

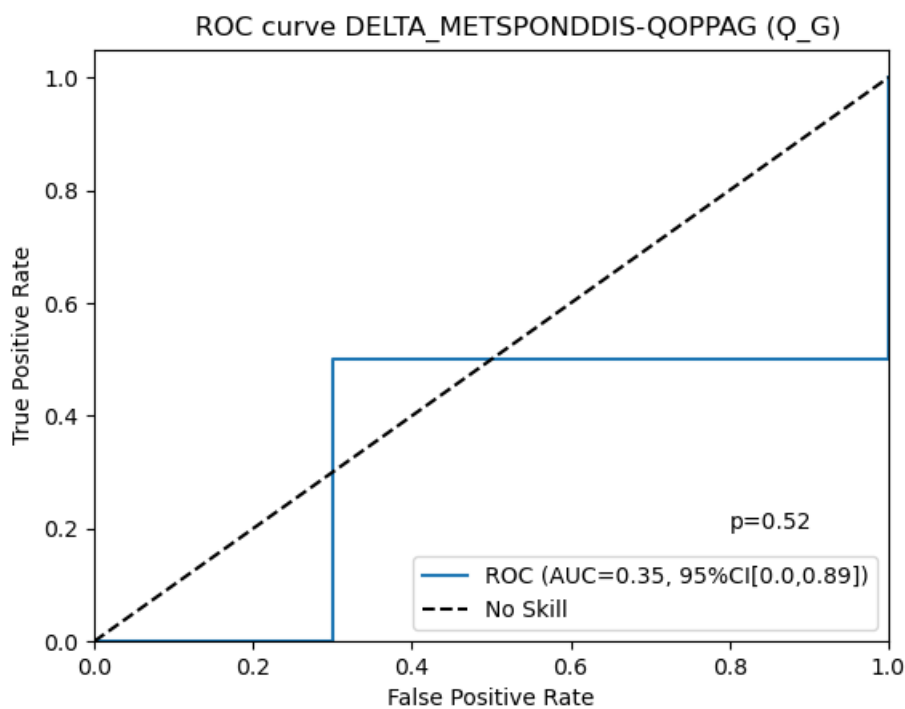


Figura 33: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de progresión metastásica en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.35.

5.4.3. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en toda la población

Como se puede observar en la Figura 34, el AUC es 0.25 (IC 95% [0.07, 0.48]) y el $p=0.05$. Por tanto, la variable Stigma (ζ) discrimina de manera invertida respecto al evento muerte (éxitus) con una significancia estadística límite. Aunque el $p=0.05$ sugiere una diferencia estadísticamente significativa límite frente a $AUC=0.5$, la amplitud del IC sugiere incertidumbre, posiblemente, debida al reducido número de casos.

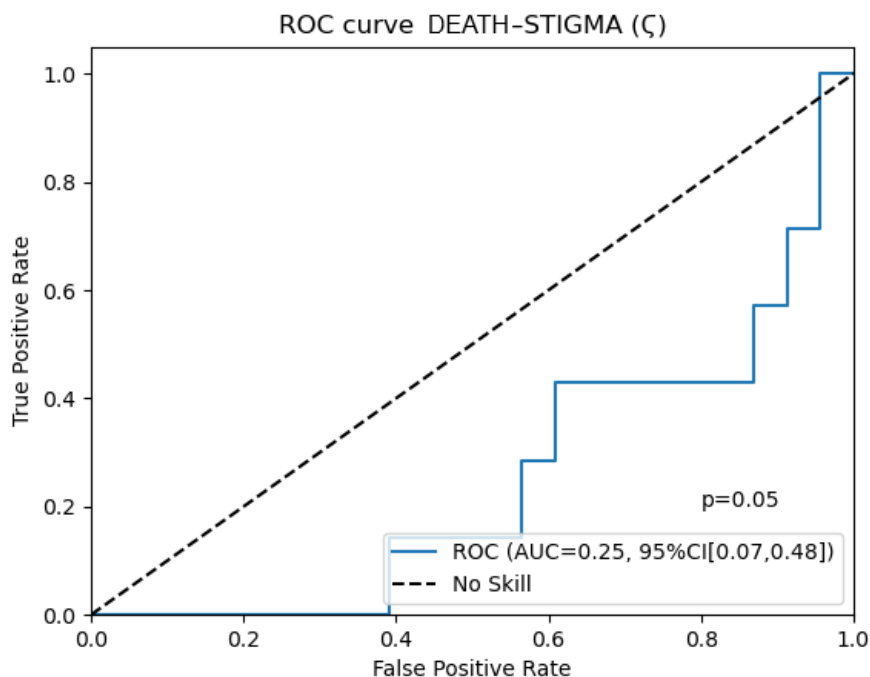


Figura 34: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población (30) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.25.

Como se puede observar en la Figura 35, el intervalo de confianza no cruza 0.5 (IC 95% [0.60, 0.92]) y la diferencia es estadísticamente significativa ($p=0.03$). Por ello, deducimos que Qoppa (Q) muestra una buena capacidad discriminativa para predecir el riesgo de éxitus en esta muestra ($AUC=0.78$).

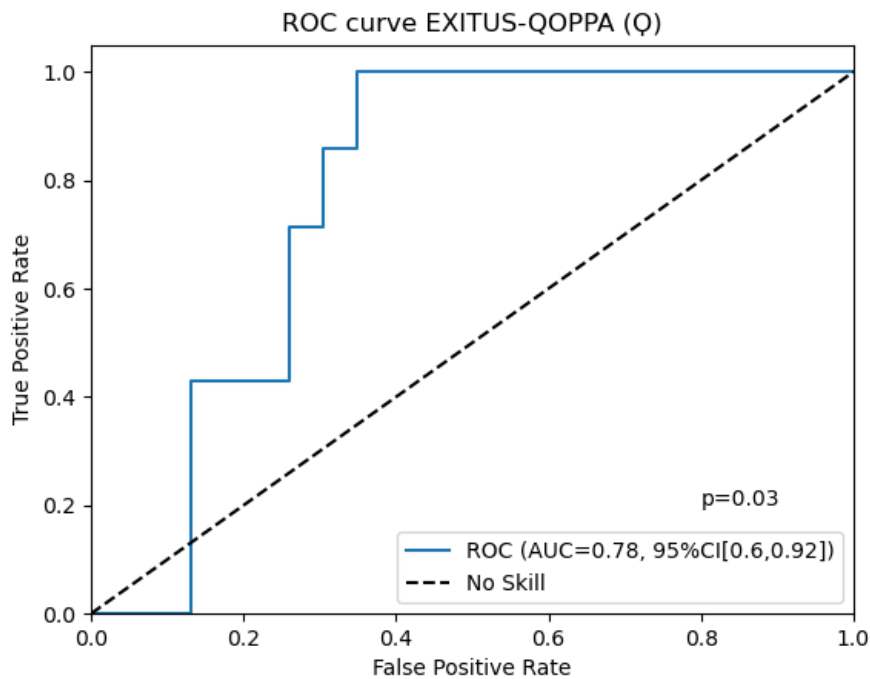


Figura 35: Curva ROC para Qoppa (Q) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa (Q) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población (30) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.78.

Para Qoppa-biomarcador observamos en la Figura 36 que el intervalo de confianza cruza 0.5 (IC 95% [0.46, 0.89]), lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.13$). Por ello, deducimos que Qoppa-biomarcador puede mostrar cierta tendencia discriminativa ($AUC=0.69$) pero no parece suficiente para predecir de forma fiable el riesgo de éxitus en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte sólido con estos datos.

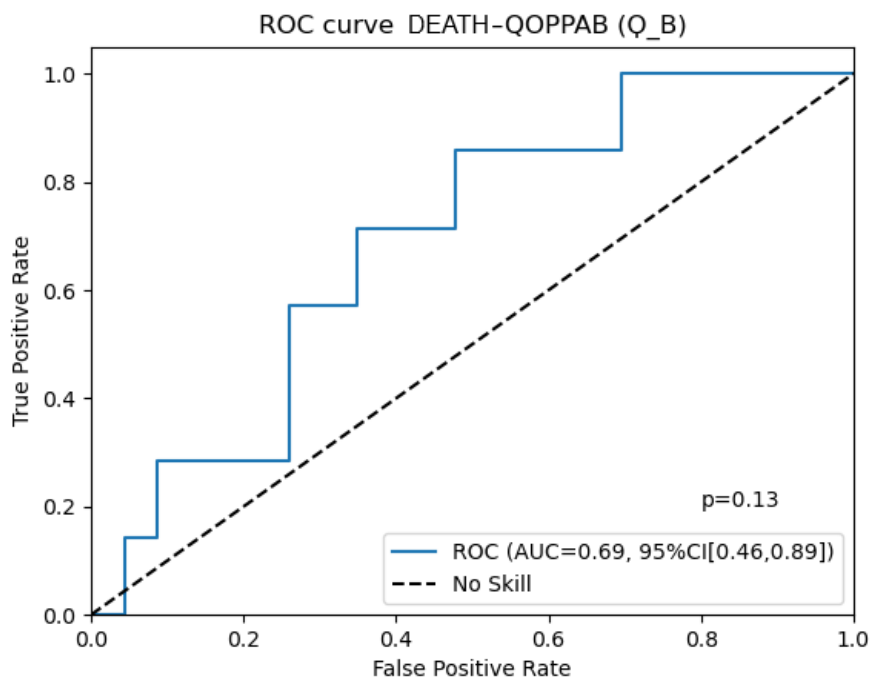


Figura 36: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población (30) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.69.

Como se puede observar en la Figura 37, el intervalo de confianza cruza 0.5 (IC 95 % [0.41, 0.85]), lo que refleja que la relación no es estadísticamente significativa ($p=0.25$). Por ello, deducimos que Qoppa-analítico puede mostrar una ligera tendencia discriminativa ($AUC=0.65$) pero no parece suficiente para predecir de forma fidedigna el riesgo de éxitus en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

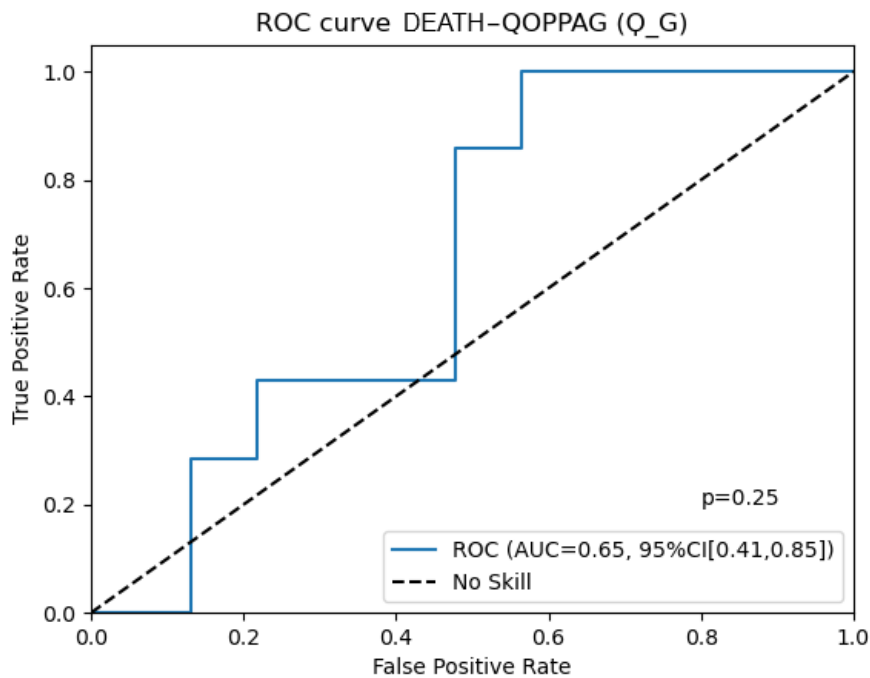


Figura 37: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población (30) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.65.

5.4.4. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión

En el caso de Stigma (ζ), se observa en la Figura 38 un AUC de 0.18 (IC 95% [0.00, 0.44]) y $p=0.09$. Esto refleja una relación no estadísticamente significativa. La amplitud del IC sugiere incertidumbre posiblemente debida al reducido número de casos. Por ello, deducimos que Stigma (ζ) no parece útil para predecir el riesgo de éxitus en la población no metastásica a la inclusión en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

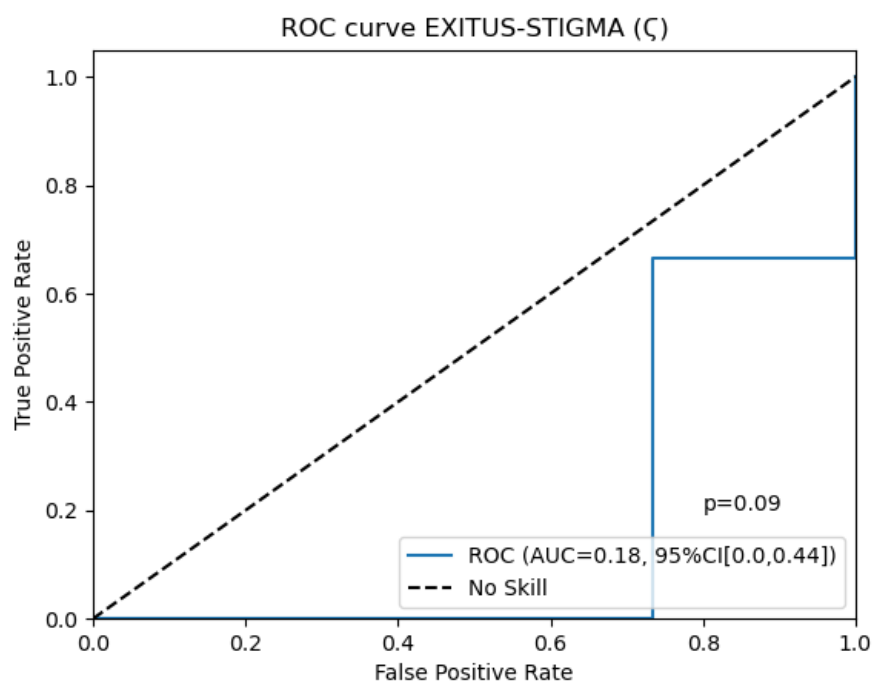


Figura 38: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.18.

En el caso de Qoppa (φ), se observa en la Figura 39 un AUC de 0.98 y un intervalo de confianza que no cruza 0.5, lo que refleja una relación estadísticamente significativa ($p=0.01$). Por ello, deducimos que Qoppa (φ) muestra capacidad discriminativa ($AUC=0.98$) para el riesgo de muerte en esta muestra.

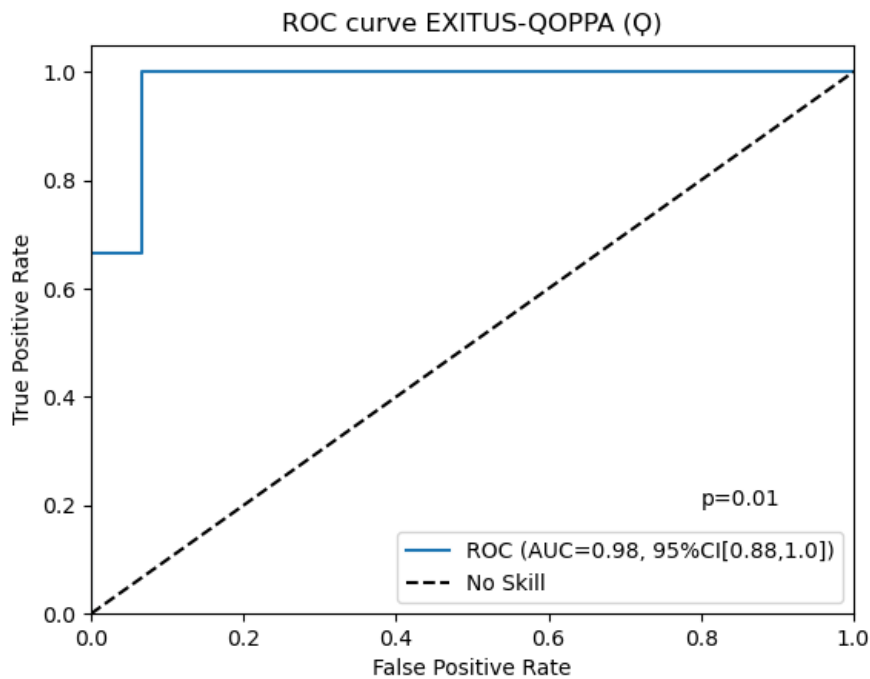


Figura 39: Curva ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxito en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxito en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.98.

Considerando Qoppa-biomarcador (Q_B), se observa en la Figura 40 un AUC de 0.89 y un intervalo de confianza que no cruza 0.5, lo que refleja una relación estadísticamente significativa ($p=0.04$). Deducimos, por tanto, que Qoppa-biomarcador (Q_B) muestra capacidad discriminativa (AUC=0.89) para el riesgo de muerte en esta muestra.

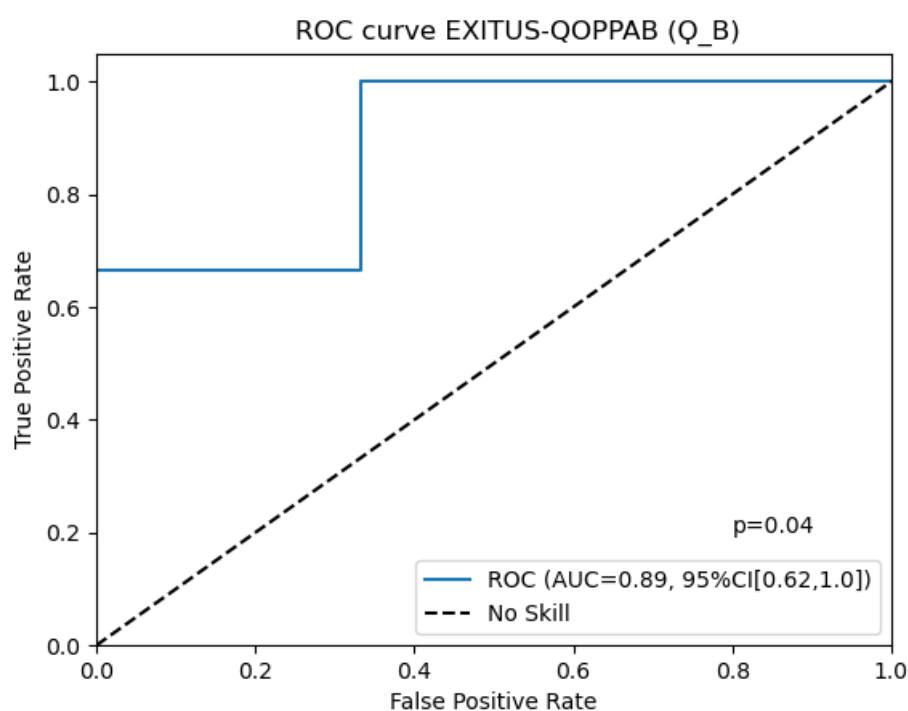


Figura 40: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.89.

Considerando ahora Qoppa-analítico (Q_G), se observa en la Figura 41 un AUC de 0.91 y un intervalo de confianza que no cruza 0.5, lo que refleja una relación estadísticamente significativa ($p=0.03$). Deducimos por tanto que Qoppa-analítico (Q_G) muestra capacidad discriminativa (AUC=0.91) para el riesgo de muerte en esta muestra.

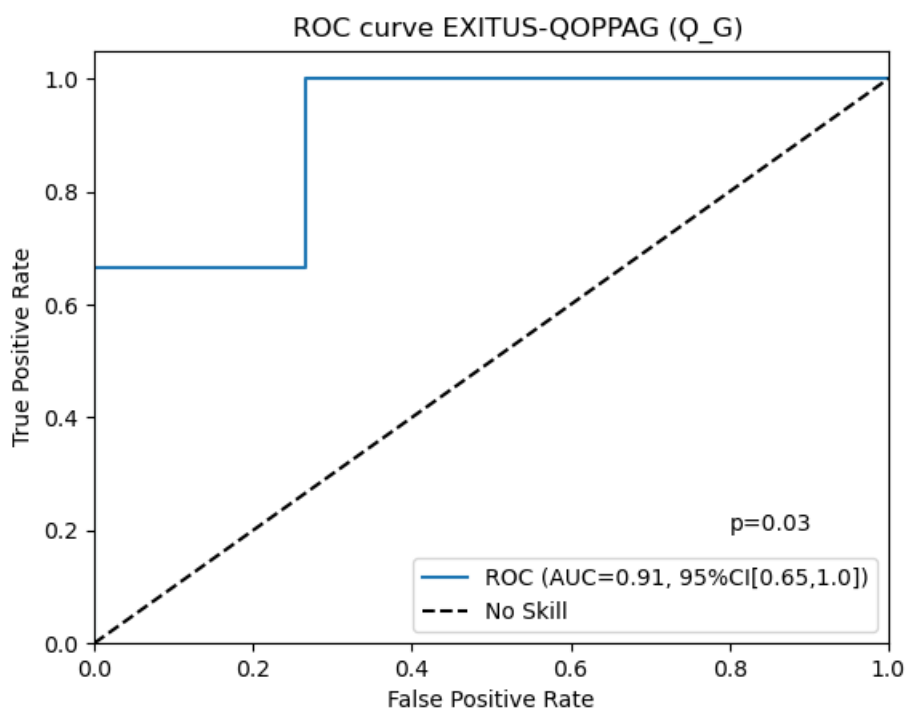


Figura 41: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión (18) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.91.

5.4.5. Estudio de curvas operador ROC para riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión

Para Stigma (ζ), se observa en la Figura 42 un AUC de 0.28 (IC 95 % [0.00, 0.70]) y $p=0.23$. Esto refleja una relación no estadísticamente significativa. La amplitud del IC sugiere incertidumbre posiblemente debida al reducido número de casos. Por ello, deducimos que Stigma (ζ) no parece útil para predecir el riesgo de éxitus en la población metastásica a la inclusión en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

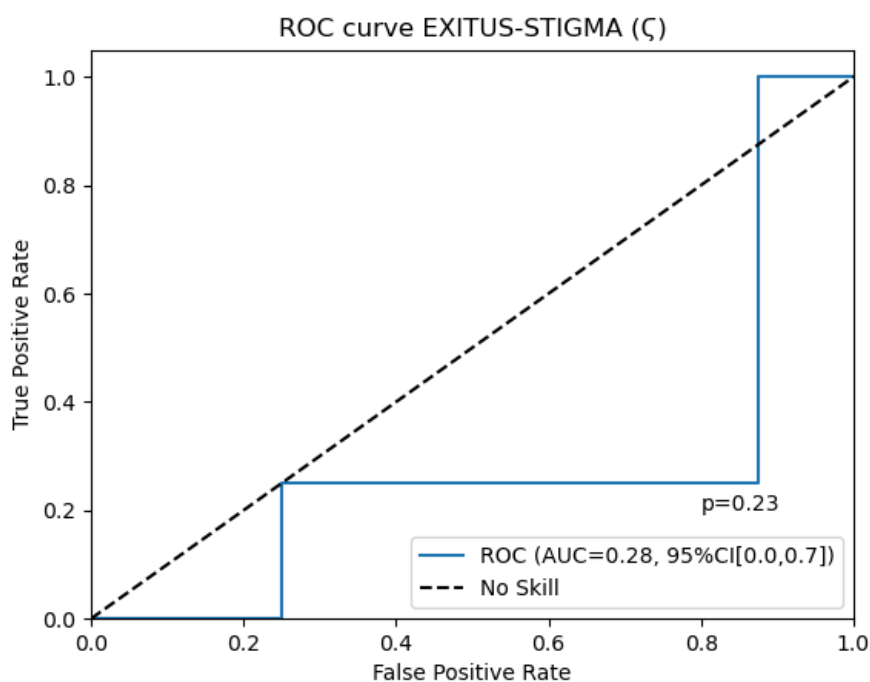


Figura 42: Curva ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.28.

En el caso de Qoppa (φ), se observa en la Figura 43 un AUC de 0.44 (IC 95% [0.10, 0.78]) y $p=0.73$. Esto refleja una relación no estadísticamente significativa. La amplitud del IC sugiere incertidumbre posiblemente debida al reducido número de casos. Por ello, deducimos que Qoppa (φ) no parece útil para predecir el riesgo de éxitus en la población metastásica a la inclusión en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

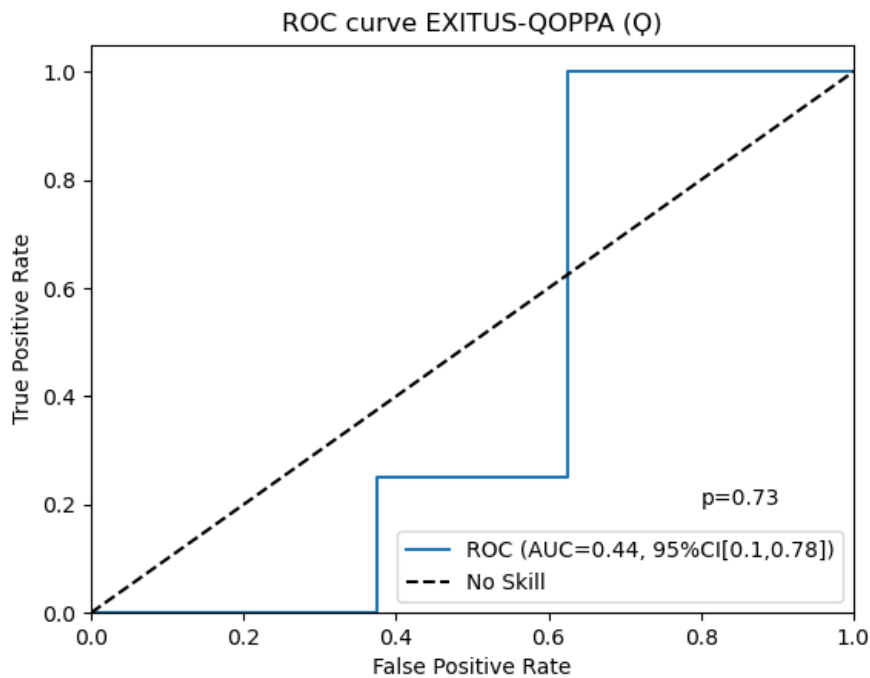


Figura 43: Curva ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.44.

Considerando Qoppa-biomarcador (Q_B), se observa en la Figura 44 un AUC de 0.59 y un intervalo de confianza que cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.61$). Deducimos por tanto que Qoppa-biomarcador (Q_B) no parece útil para predecir el riesgo de éxitus en la población metastásica a la inclusión en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

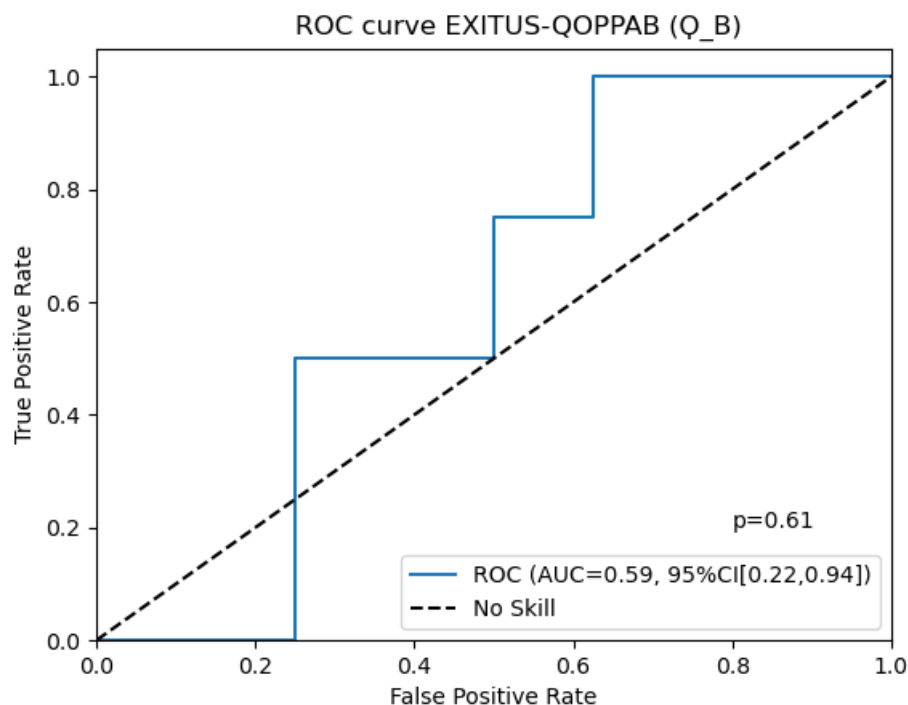


Figura 44: Curva ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.59.

Considerando Qoppa-analítico (Q_G), se observa en la Figura 45 un AUC de 0.25 y un intervalo de confianza que no cruza 0.5, lo que refleja una relación no estadísticamente significativa ($p=0.17$). Deducimos por tanto que Qoppa-analítico (Q_G) no parece útil para predecir el riesgo de éxitus en la población metastásica a la inclusión en esta muestra; ya que no se puede establecer un punto de corte fiable con estos datos.

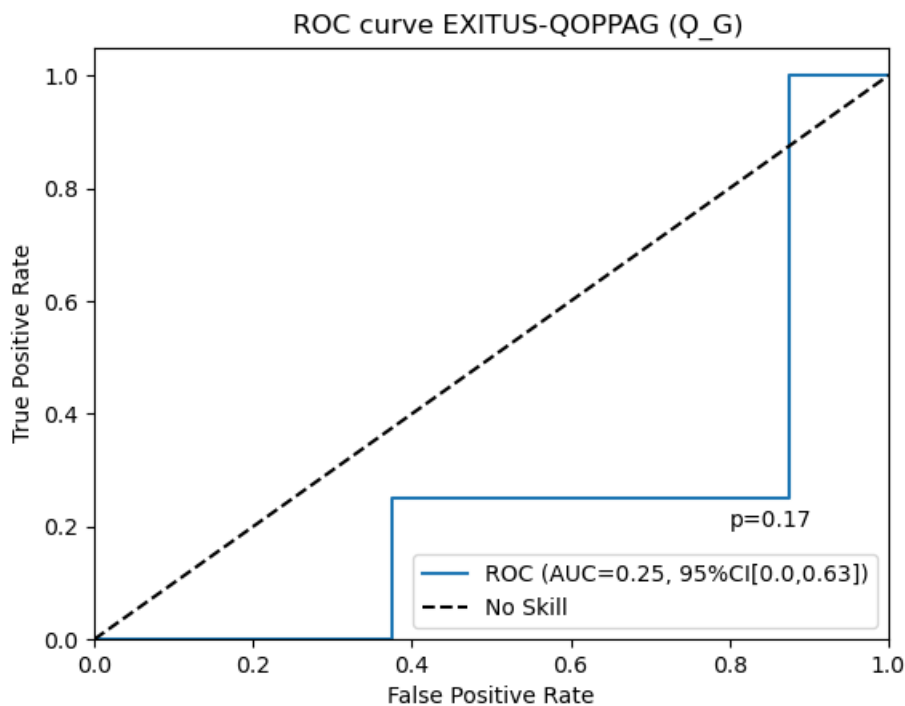


Figura 45: Curva ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión.

Figura de elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para Qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes metastásicos a la inclusión (12) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.25.

5.4.6. Estudio de diferencias de parámetros analíticos y biomarcadores onco-metabólicos entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney

El punto óptimo de corte de Qoppa para el riesgo de éxito fue de igual o superior a 4.775 (sensibilidad de 1 y especificidad de 0.65) y de igual o superior a 4.949 (sensibilidad de 0.8 y especificidad de 0.84) para el riesgo de desarrollo de metástasis *de novo*. El estudio de desarrollo de metástasis *de novo* en población no metastásica a la extracción implica una subpoblación menor que la población total. Es por ello que al aplicar como punto de corte de 4.775 al estudio de metástasis *de novo* no obtenemos cambios en la sensibilidad o especificidad respecto al punto de corte óptimo calculado de 4.949.

En base a dichos resultados y considerando un enfoque conservador, dado el pequeño tamaño muestral, se define un punto de corte para ambos eventos en Qoppa estrictamente superior a 4.775. Con ello, podemos dividir a la población en Qoppa bajo ($Q \leq 4.775$) resultando en 14 pacientes y Qoppa alto ($Q > 4.775$) resultando en los 16 pacientes restantes. Las diferencias analíticas y clínicas entre la población con Qoppa alto y bajo fueron analizadas mediante el test U de Mann-Whitney si las variables no verificaban normalidad o mediante T-Student para las que sí lo verificaban.

Se observaron diferencias analíticas estadísticamente significativas en la distribución de los valores de ANGPTL4, CATHEPSIN-D, FGF21, ICAM1, lar, MPO y npm (Figuras 46, 47 y 48). Todos ellos tenían una distribución no asumible a la normalidad y para todos estos valores la mediana fue superior en el caso del grupo con Qoppa alto respecto al grupo con Qoppa bajo.

5.4.7. Estudio de diferencias clínicas entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney

Desde el punto de vista de variables clínicas se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre la población con Qoppa alto y bajo para el estadio, la carga tumoral y la carga metastásica tanto al diagnóstico como a la extracción y postextracción para todas ellas. En estos casos se objetivó una mediana superior en el grupo de Qoppa alto a la del grupo Qoppa bajo, a excepción de la carga metastásica ponderada al diagnóstico, para ambos grupos la mediana fue de cero, aunque mostraban rangos diferentes (entre 0 y 5 para el grupo Qoppa bajo y entre 0 y 12 para el grupo Qoppa alto). Dichos resultados se muestran en las Figuras 49, 50 y 51.

Analizando la subpoblación no metastásica a la extracción se objetivaron diferencias entre los pacientes con Qoppa alto y bajo para el estadio, la carga tumoral y la carga metastásica postextracción, así como para el desarrollo de metástasis *de novo* (Figuras 52 y 53). En la subpoblación metastásica a la extracción se objetivaron únicamente diferencias en el estadio y la carga metastásica al diagnóstico (Figura 54). Ninguna de estas variables clínicas presentaba una distribución asumible como normal.

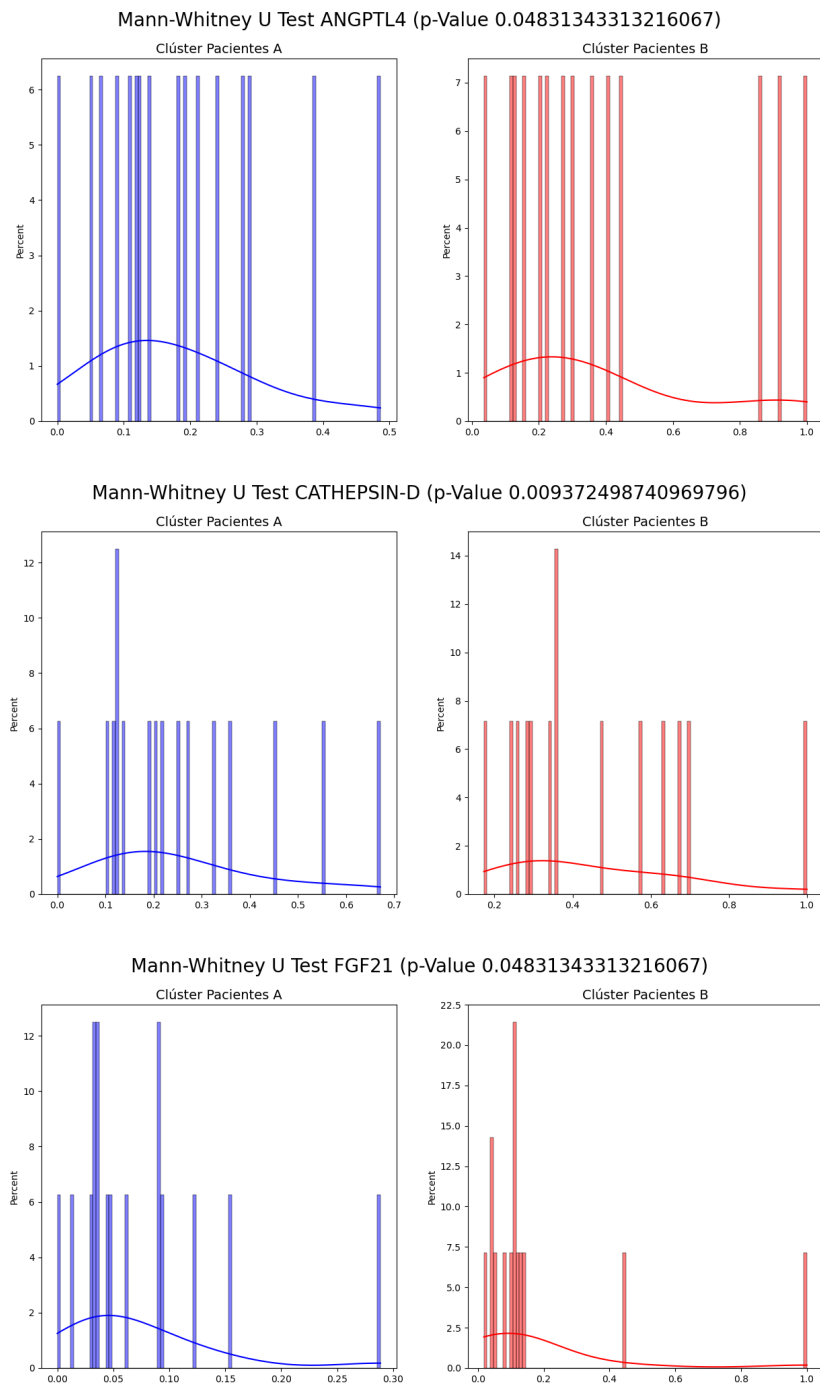


Figura 46: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para ANGPTL4, CATD y FGF21.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para ANGPTL4, CATD y FGF21 obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

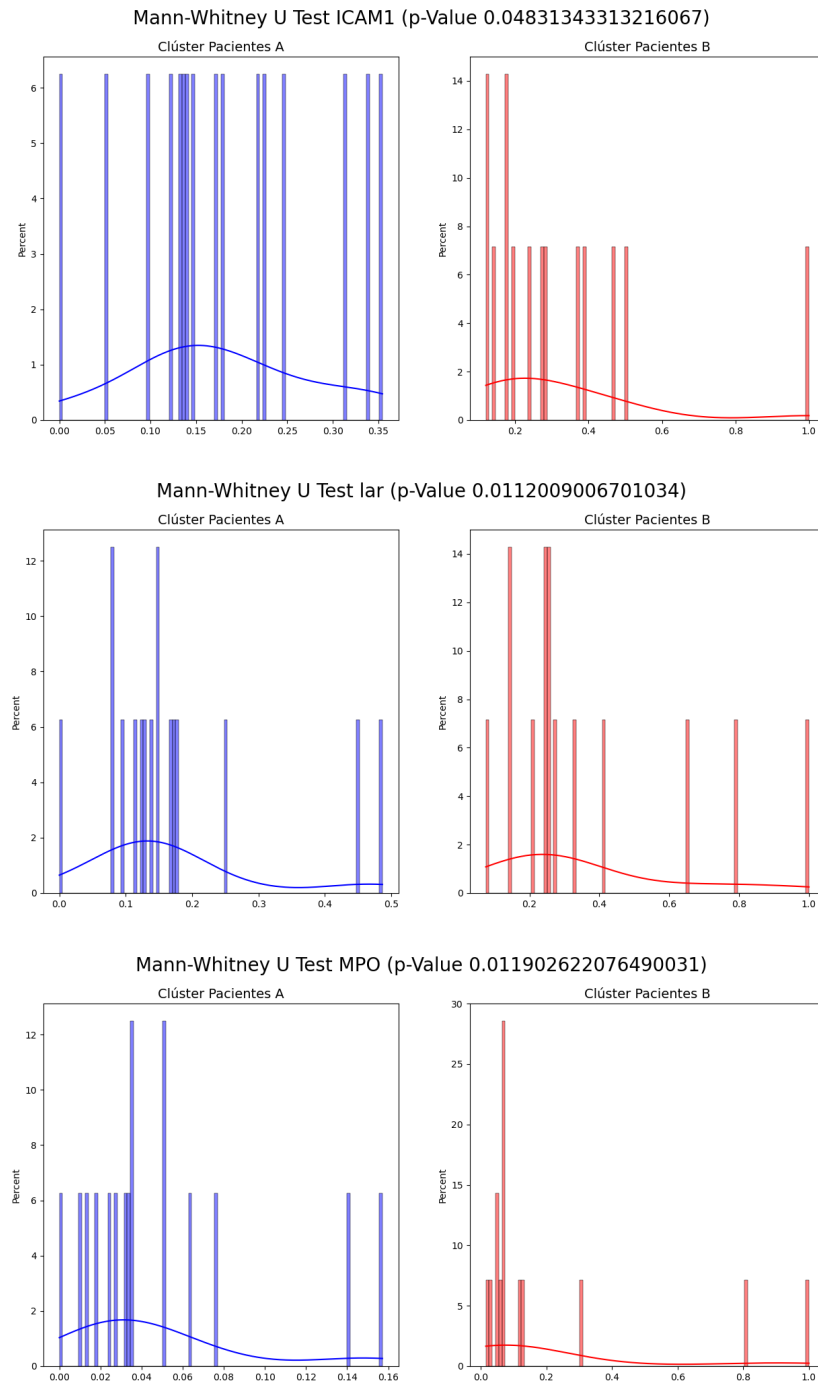


Figura 47: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para ICAM1, lar y MPO.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para ICAM1, lar y MPO obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

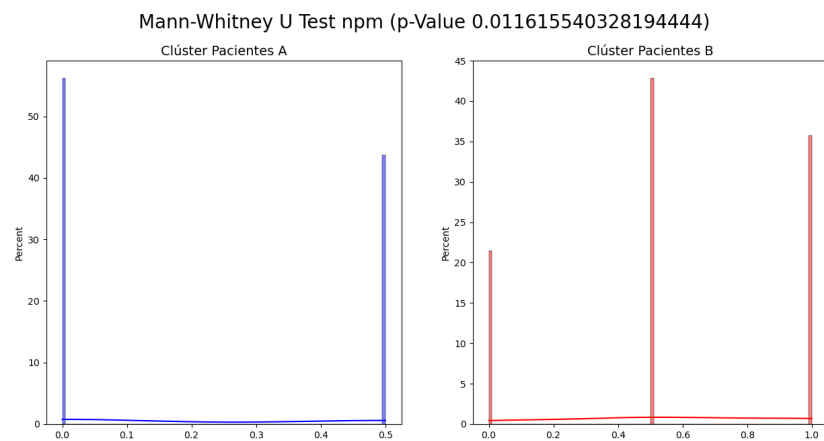


Figura 48: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para npm.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para npm obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

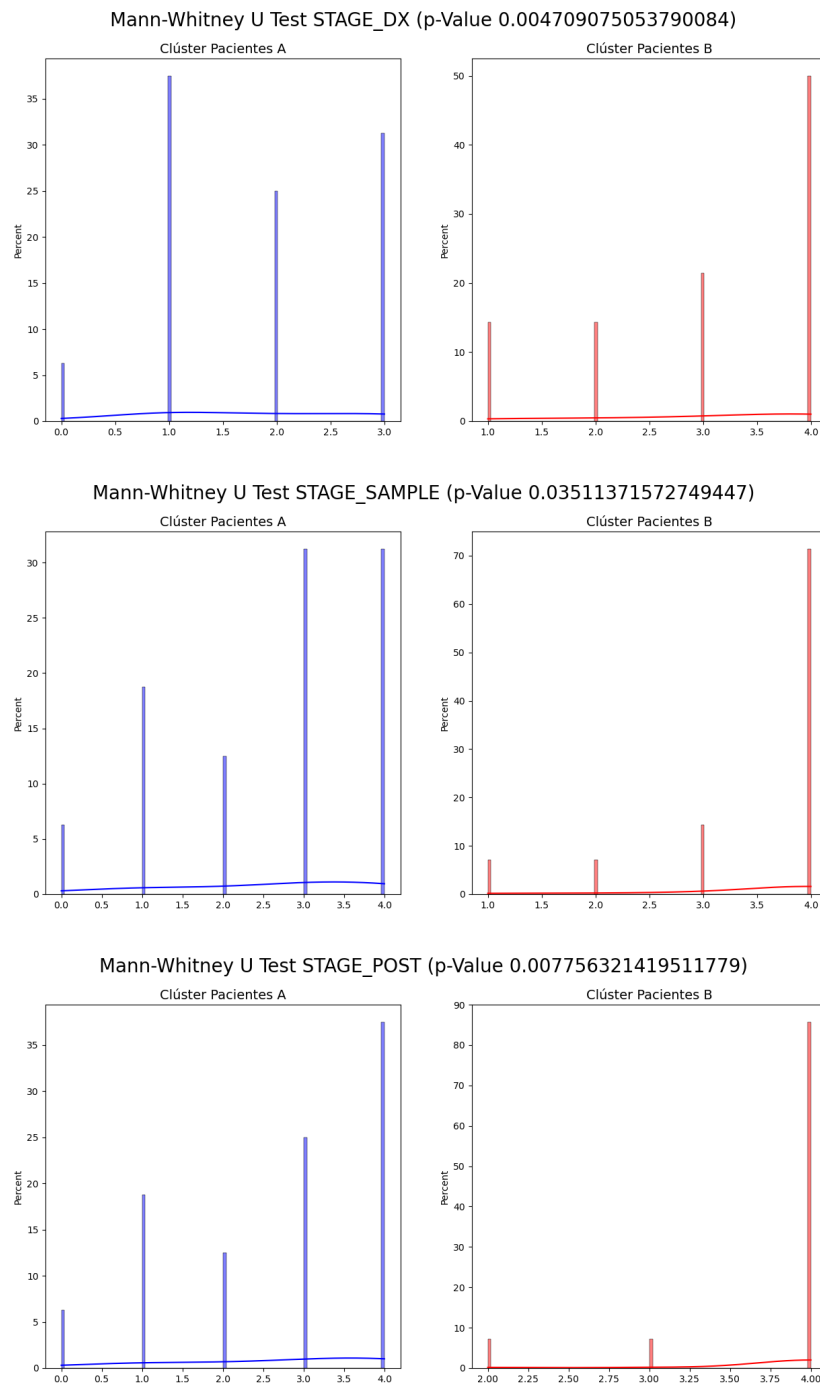


Figura 49: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio al diagnóstico, extracción y postextracción.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para estadio al diagnóstico, extracción y postextracción obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

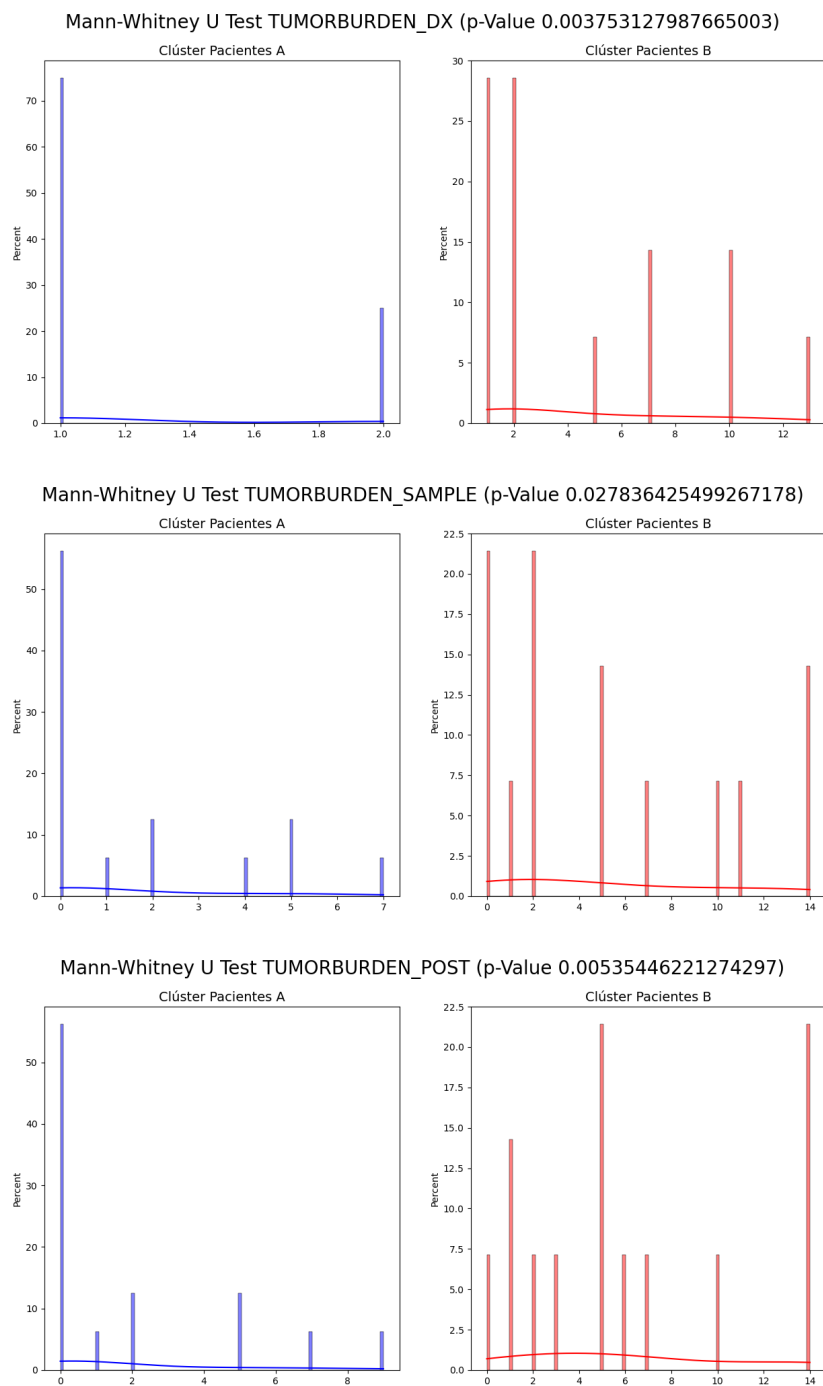


Figura 50: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para carga tumoral al diagnóstico, extracción y postextracción.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para carga tumoral al diagnóstico, extracción y postextracción obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

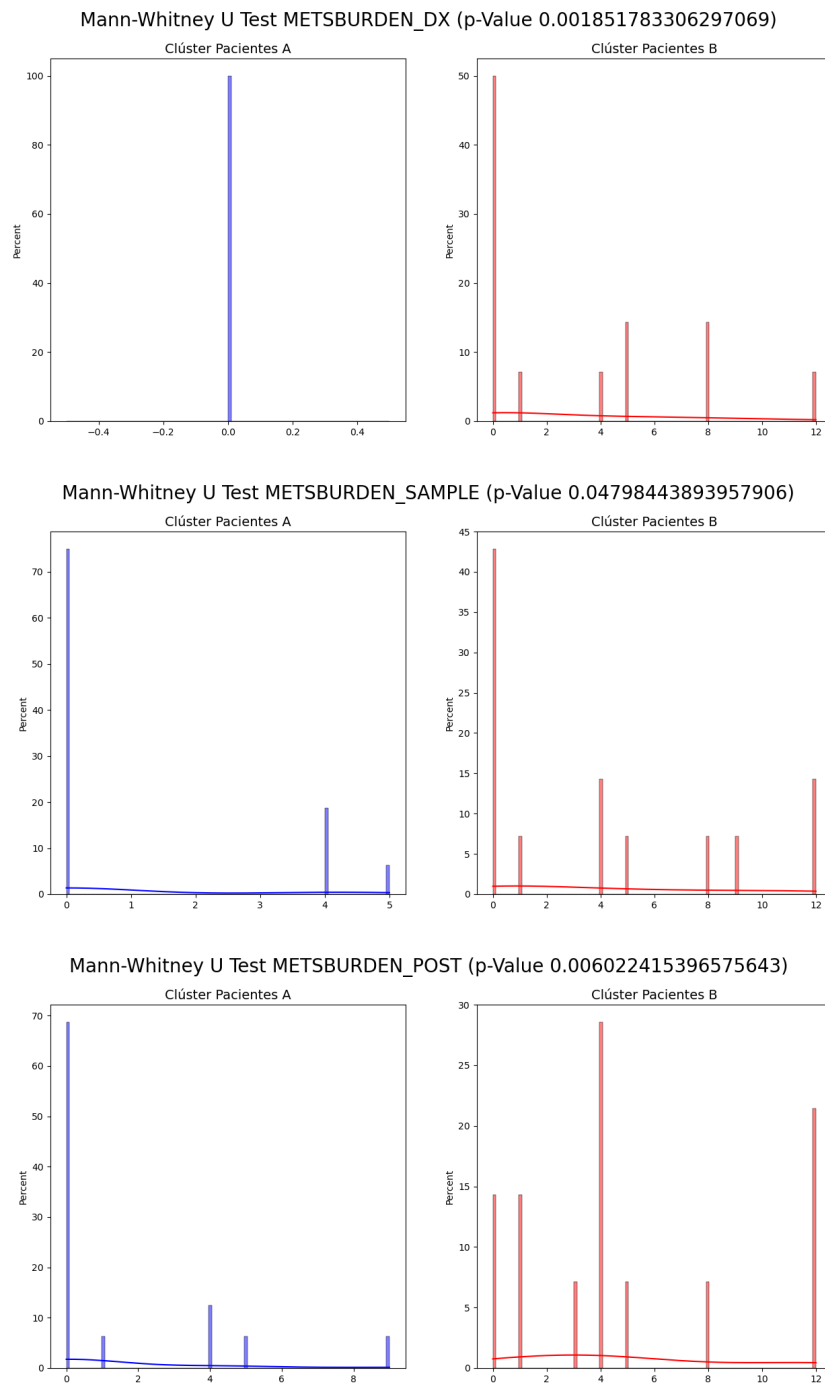


Figura 51: Análisis de diferencias entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para carga metastásica ponderada al diagnóstico, extracción y postextracción.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para carga metastásica ponderada al diagnóstico, extracción y postextracción obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre las poblaciones con niveles altos y bajos de Qoppa.

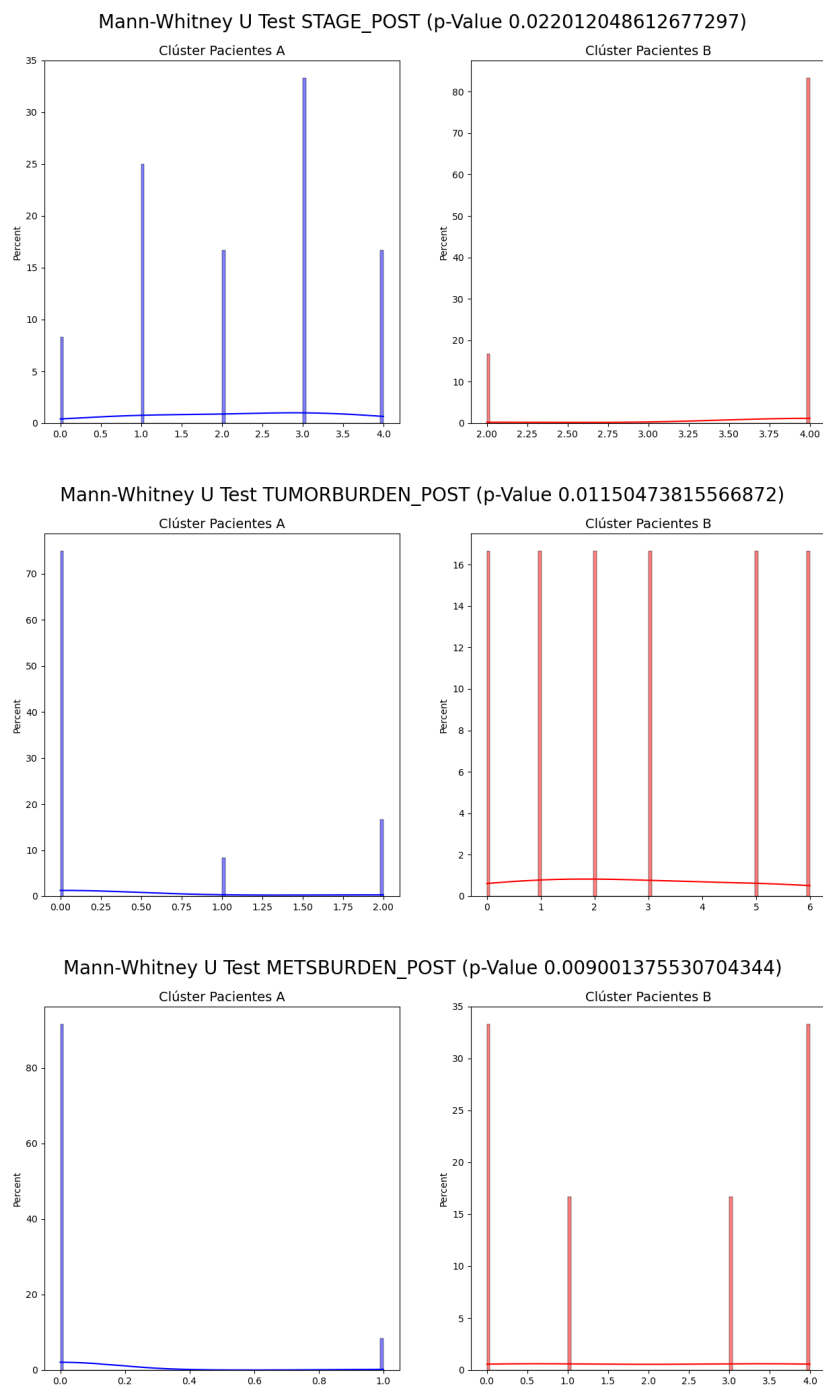


Figura 52: Análisis de diferencias entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio, carga tumoral y carga metastásica ponderada postextracción.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para estadio, carga tumoral y carga metastásica ponderada postextracción obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

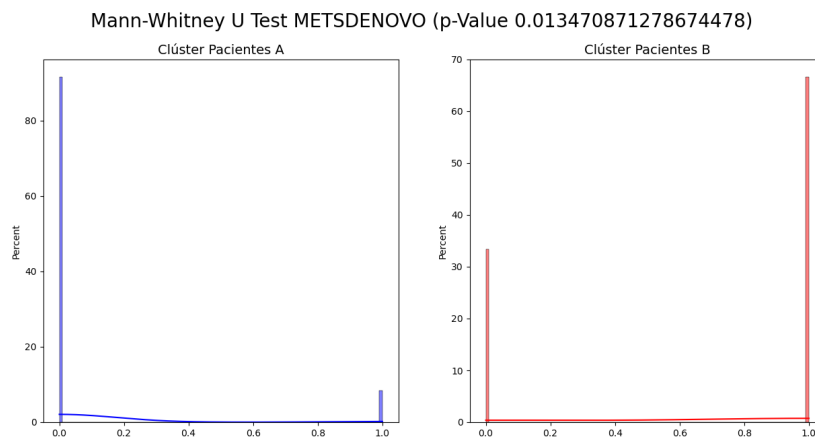


Figura 53: Análisis de diferencias entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para metástasis de novo postextracción.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para metástasis de novo postextracción obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

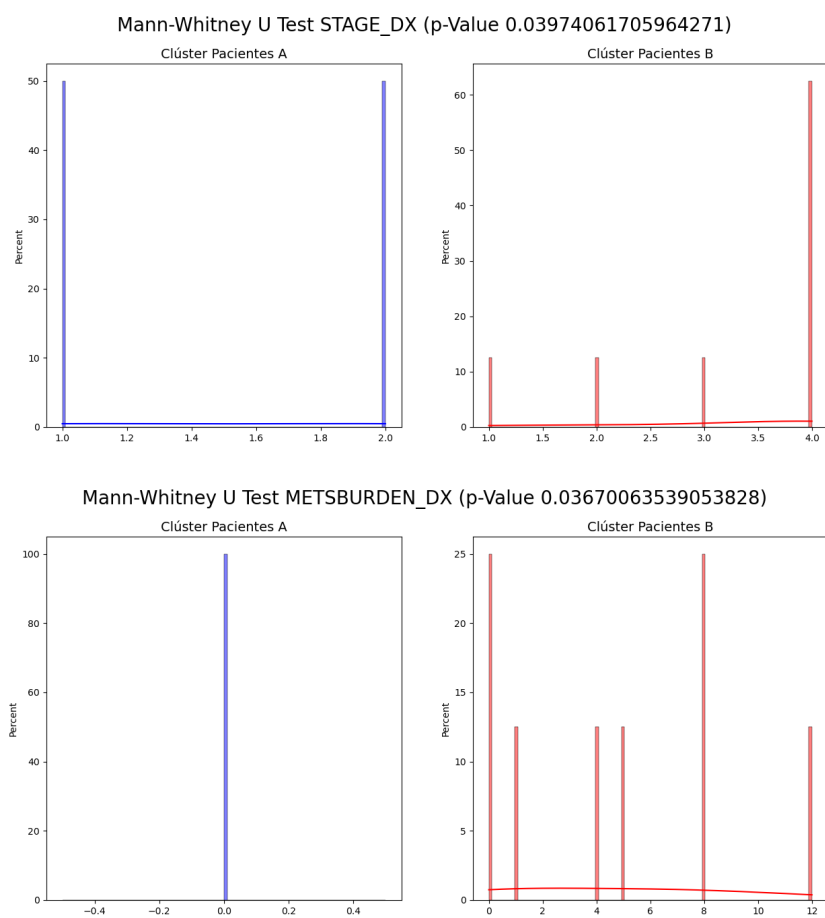


Figura 54: Análisis de diferencias entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa mediante Mann – Whitney para estadio y carga metastásica ponderada al diagnóstico.

Figura de elaboración propia. Se muestran las diferencias estadísticamente significativas para estadio y carga metastásica ponderada al diagnóstico obtenidas de la comparación mediante Mann - Whitney entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

5.4.8. Análisis de Kaplan - Meier y modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa

El análisis de supervivencia total de Kaplan-Meier en la población total estratificado por valor de Qoppa alto ($Q > 4.775$) y bajo ($Q \leq 4.775$) arrojó diferencias estadísticamente significativas. La mediana de supervivencia global fue de 234 días en el grupo Qoppa alto vs. no alcanzada en grupo Qoppa bajo ($p=0.042$, Figura 55). Sin embargo, en el análisis de riesgos proporcionales de Cox no se alcanzó significancia estadística ($HR=6.9$; IC 95%: 0.8 - 0.59; $p=0.079$), tal y como se muestra en Figura 58.

Estudiando en detalle las subpoblaciones no metastásicas a la extracción y las sí metastásicas, objetivamos que las diferencias estadísticamente significativas para el riesgo de éxitus desaparecen en el análisis de Kaplan-Meier para la población metastásica a la extracción (Figuras 57 y 59). Por otra parte, se confirman dichas diferencias en la población no metastásica a la extracción obteniéndose una diferencia de mediana de supervivencia global de 391 días para población con Qoppa alto vs. no alcanzada en grupo Qoppa bajo ($p=0.034$) con una separación completa en el análisis de riesgos proporcionales de Cox, tal y como se muestra en Figura 56.

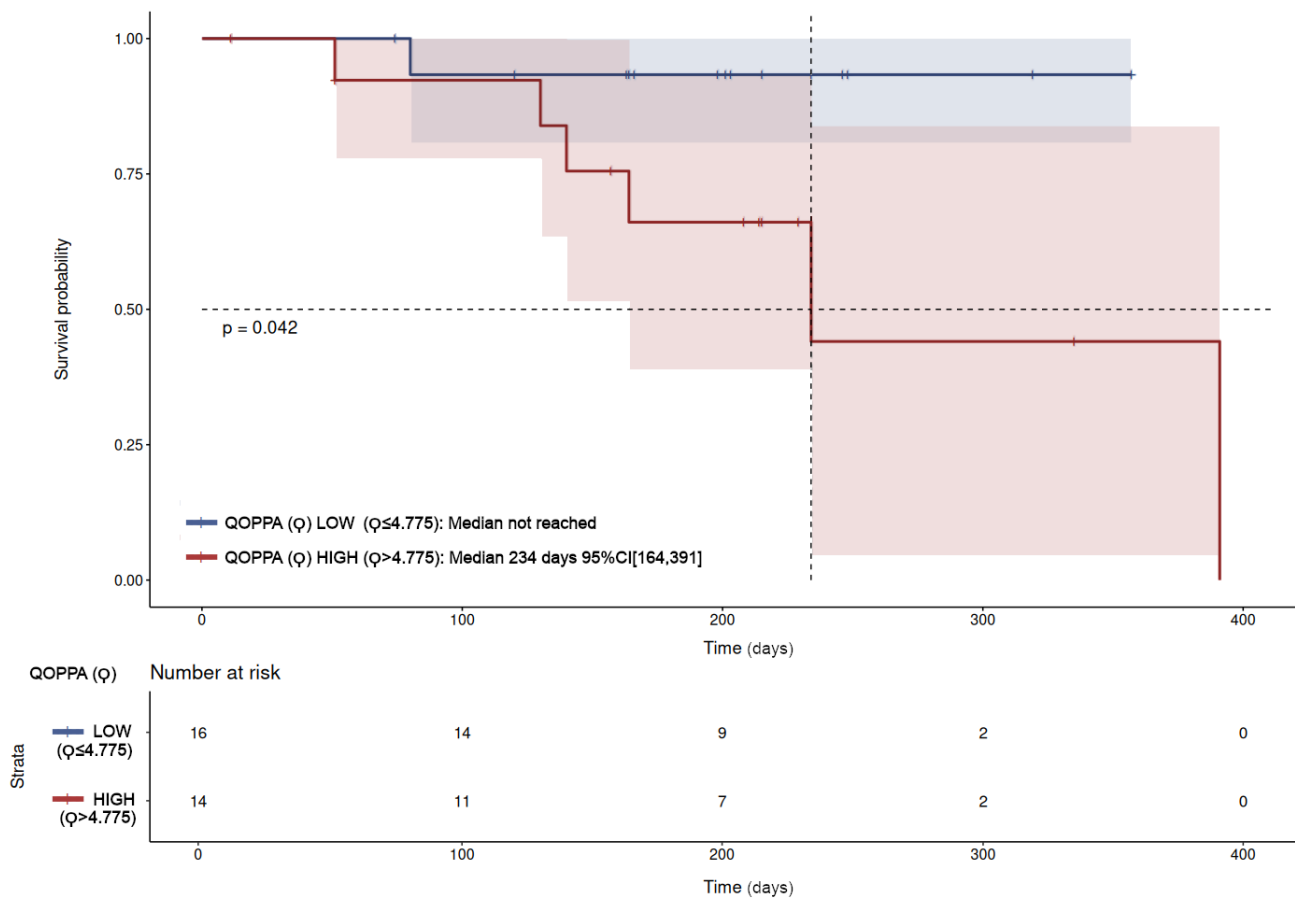


Figura 55: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la diferencia estadísticamente significativa en probabilidad de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa.

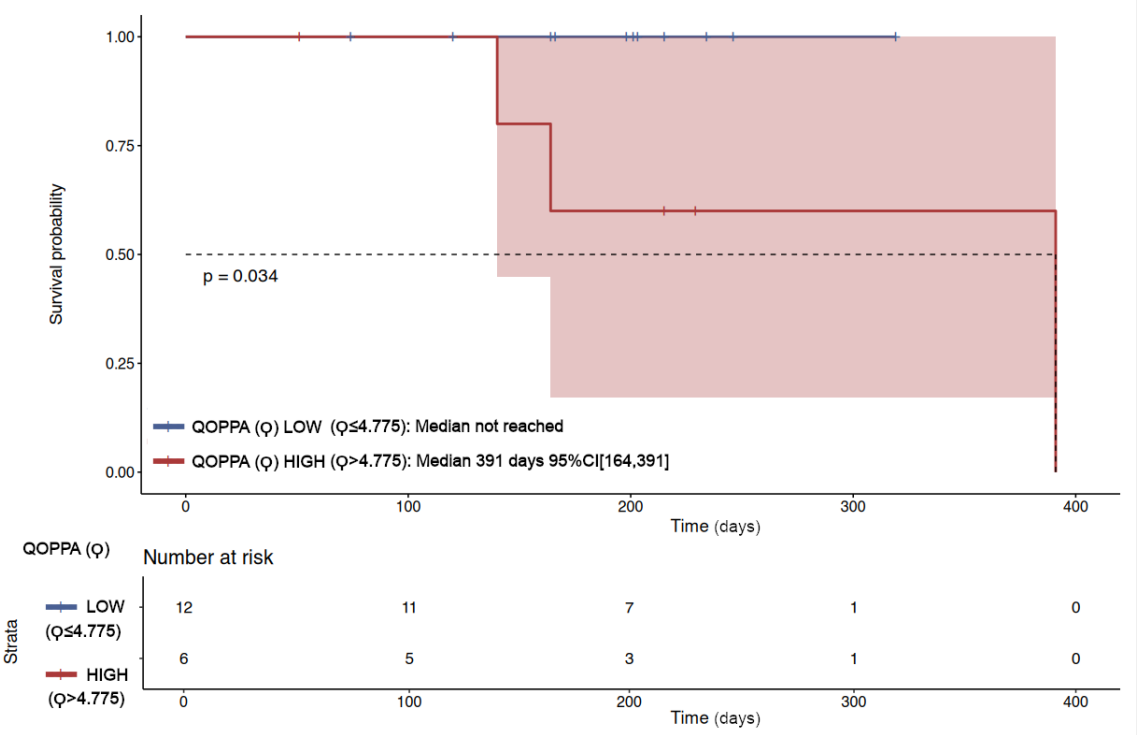


Figura 56: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la diferencia estadísticamente significativa en probabilidad de supervivencia entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

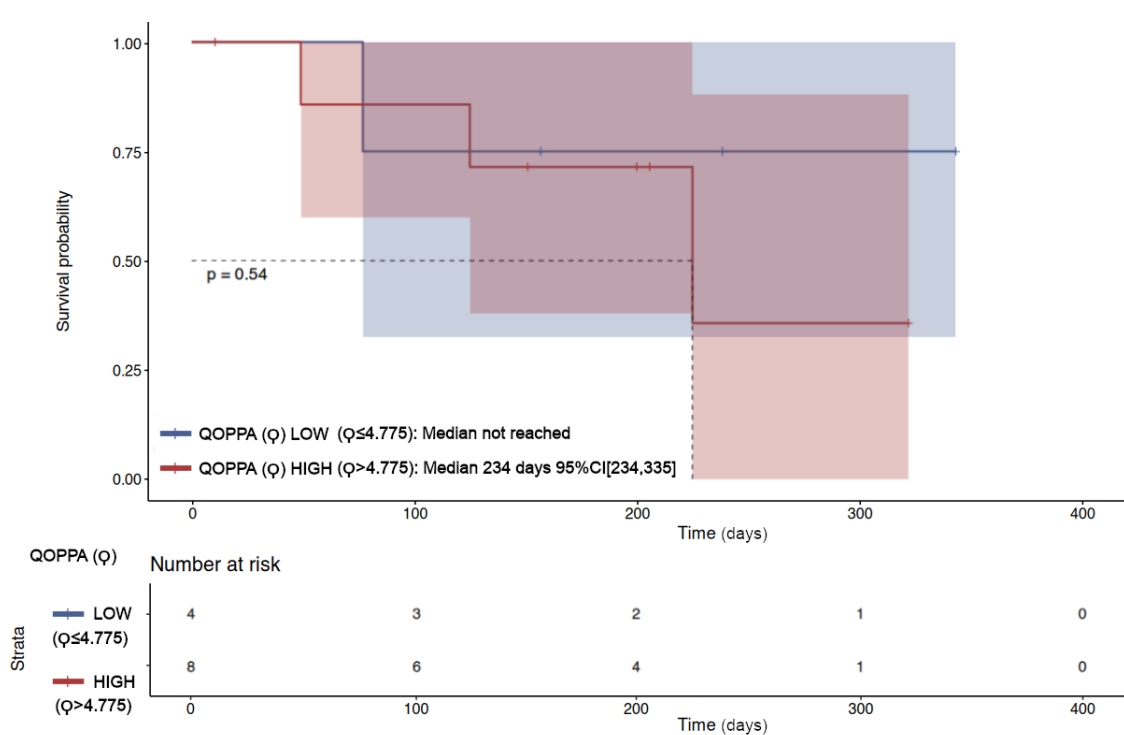


Figura 57: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la diferencia no estadísticamente significativa en probabilidad de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

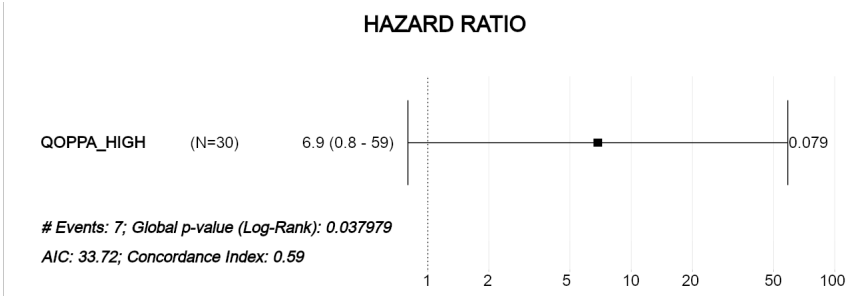


Figura 58: Análisis de modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la hazard ratio de supervivencia entre la población con niveles altos y bajos de Qoppa sin alcanzar significancia estadística.

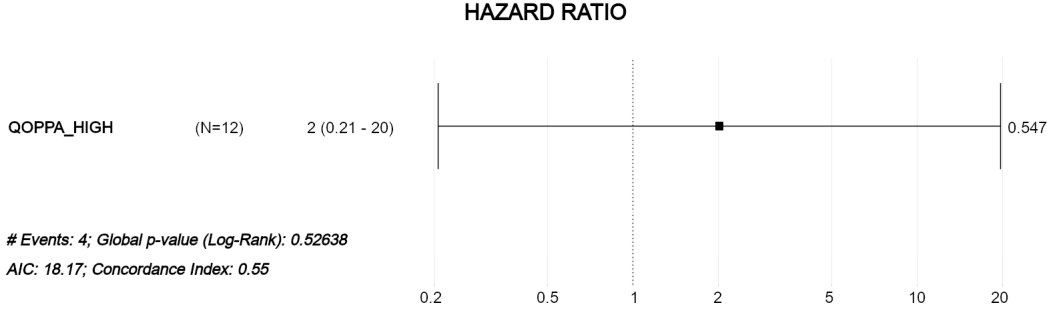


Figura 59: Análisis de modelo de regresión de Cox de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la hazard ratio de supervivencia entre la población metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa sin alcanzar significancia estadística.

5.4.9. Análisis de Kaplan - Meier y modelo de regresión de Cox de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa

El estudio de supervivencia libre de progresión metastásica (SLPM) mediante Kaplan-Meier en la subpoblación sin metástasis al momento de extracción (N=18), estratificado por nivel de Qoppa (alto n=6, bajo n=12) mostró diferencias estadísticamente significativas. La mediana de SLPM fue de 215 días en grupo Qoppa alto vs. no alcanzada (>300 días) en grupo Qoppa bajo ($p=0.024$, figura 60).

Sin embargo, el análisis de riesgos proporcionales de Cox no alcanzó significancia estadística, mostrando un HR=8.4 (IC 95 %: 0.93-76) con un valor $p=0.058$, tal y como se muestra en Figura 61.

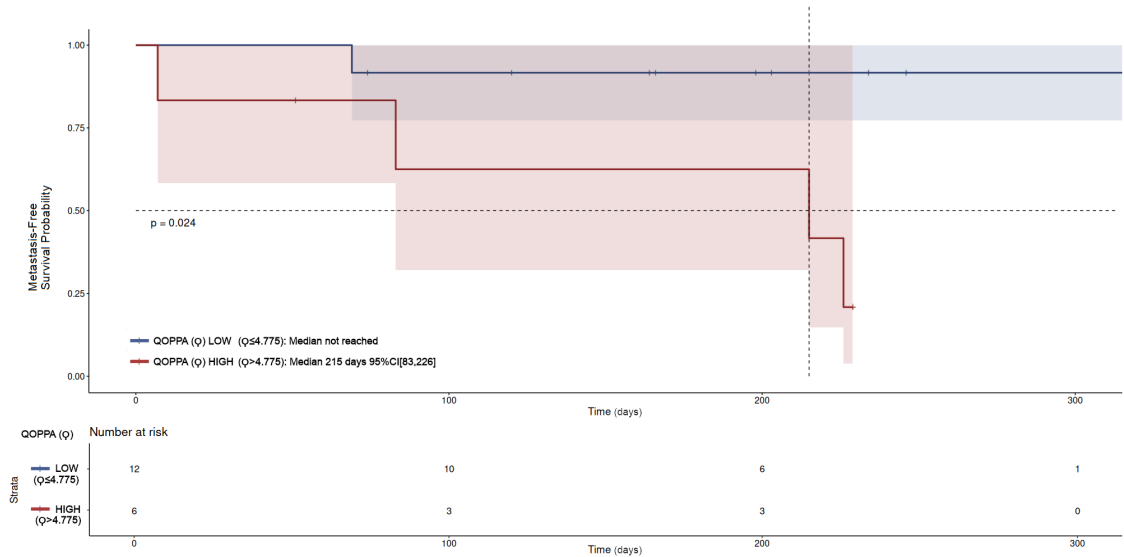


Figura 60: Análisis de Kaplan - Meier de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la diferencia estadísticamente significativa en probabilidad de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

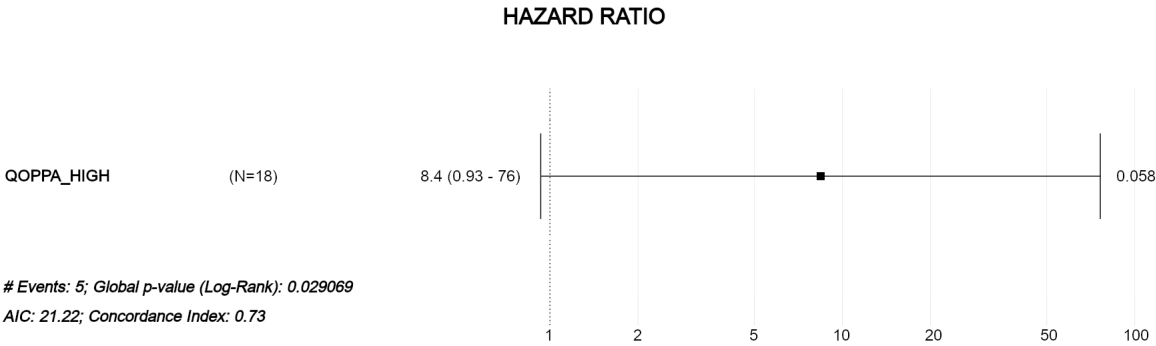


Figura 61: Análisis de modelo de regresión de Cox de libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa.

Figura de elaboración propia. Se muestra la hazard ratio de supervivencia libre de progresión metastásica entre la población no metastásica a la extracción con niveles altos y bajos de Qoppa sin alcanzar significancia estadística.

VI – DISCUSIÓN

VI – DISCUSIÓN

6.1. TEST DE NORMALIDAD DE LOS PARÁMETROS ANALÍTICOS Y BIOMARCADORES

El hecho de que no pudiera comprobarse la normalidad de las muestras de los parámetros analíticos y biomarcadores es de gran importancia ya que obligó a utilizar test no paramétricos y medidas de escalado como Min-Máx en lugar de normalización Z-score. Dicha obligación es extensible a todas las variables, incluidas aquellas con nivel de significación $p > 0.05$, ya que el cálculo de las correlaciones y de los clústers está fuertemente influido por las medidas de escalado y estandarización aplicadas. Aplicar una estrategia a unas variables y otra estrategia diferente a otras hubiera generado ruido y amplificado diferencias inexistentes.

Es importante mencionar que la no normalidad de variables en estudios clínicos es esperable y está ampliamente reflejada en la literatura. Los analitos plasmáticos suelen tener amplias dispersiones debido a las comorbilidades y las características intrínsecas de la población a estudio. Además, también es relevante que las técnicas de multiplex suelen presentar regiones de medida no lineales en sus curvas de calibración, reforzando, por tanto, que estos parámetros se alejen de la normalidad. Una reciente revisión publicada en la revista *Signal Transduction and Targeted Therapy* (2024) menciona los retos de la biopsia líquida para su uso en este tipo de estudios [62].

6.2. PAPEL DISCRIMINADOR DEL RIESGO DE METÁSTASIS *DE NOVO* Y ÉXITOS DE QOPPA

Este estudio piloto prospectivo sugiere que Qoppa, un parámetro sintético que integra 11 biomarcadores onco-metabólicos con 16 parámetros de laboratorio globales, presenta un rendimiento discriminatorio satisfactorio (AUC=0.78) para

estratificar el riesgo de metástasis *de novo* y de mortalidad en una cohorte de pacientes con tumores sólidos. Esto queda respaldado por diferencias estadísticamente significativas observadas mediante el análisis de Kaplan-Meier. Sin duda, el mensaje más importante es que este nuevo enfoque práctico unifica señales del propio tumor y del paciente. Esto puede indicar la presencia temprana de nicho premetastático, incluso en el contexto clínico de este trabajo, claramente heterogéneo. La mayoría de los enfoques disponibles multi-cáncer basados en índices inflamatorios, proteómica plasmática, firmas de RNA exosomal y paneles de metilación de cfDNA han demostrado una estratificación clínicamente relevante, avalando la justificación de estos modelos integrativos, como se ilustra en trabajos recientes en otros contextos tumorales [69, 70, 74, 93, 118, 134-136].

La tendencia más actual en oncología de precisión es la optimización de paneles multianalíticos y el desarrollo de modelos estadísticos integrativos que combinen datos clínicos y analíticos. Un estudio publicado en 2020 con biopsia líquida demostró que el análisis de metilación en DNA circulante permite detectar más de 50 tipos distintos de cáncer en todos sus estadios [136]. Desde aquel trabajo, otros estudios prospectivos han intentado evaluar la eficacia de realizar tests no invasivos como un simple análisis de sangre. Así, el estudio PATHFINDER, publicado en la revista Lancet en 2023, confirmó la capacidad de detectar de manera temprana la enfermedad [135]. Otro estudio, SYMPLIFY, utilizó también la metilación del DNA para la detección de cáncer con mayor sensibilidad en estadios más avanzados [137]. En paralelo con el DNA circulante, han emergido otras estrategias de detección basadas en ómicas (transcriptómica, proteómica o incluso metabolómica). Un estudio recientemente publicado en la revista Nature (2025), evidencia que la espectrometría de masas permite oportunidades diagnósticas importantes [138], si bien es cierto que las técnicas no están ampliamente implementadas y son muy costosas para su implementación clínica. Todo el conjunto de investigaciones recientes evidencia un objetivo común: la necesidad de detectar y monitorizar el avance de la enfermedad tumoral.

Colectivamente, el nuevo índice Qoppa se basa en medir una biopsia líquida

funcional en la que empleamos parámetros bioquímicos disponibles y un panel de biomarcadores onco-metabólicos. En este trabajo de investigación, hemos aplicado un panel multiplex factible de implementar e incluso de externalizar por hospitales, lo hace más interesante, si cabe, para los servicios sanitarios. La diseminación metastática requiere de componentes celulares, pero también moleculares y se necesitan estudios que implementen el uso de biopsias líquidas para el diagnóstico clínico, el pronóstico y el tratamiento [134]. Mientras que otros estudios evaluaron inmunodetección multiplexada con inmunofluorescencia, este estudio es el primero en integrar sistemáticamente biomarcadores onco-metabólicos con parámetros de laboratorio global para la estratificación del riesgo metastático en múltiples tipos de tumores.

El panel de biomarcadores plasmáticos integrado en Qoppa describe mecanismos muy amplios del proceso metastático. Esta selección cubre deliberadamente dimensiones complementarias del nicho premetastático e interacciones sistémicas tumor-huésped. Como parte del diseño del panel, se tuvieron en cuenta proteínas relacionadas con la activación endotelial, la permeabilidad y adhesión vascular (ANGPTL4, HGF e ICAM1). Estos mecanismos son esenciales en la extravasación e invasión metastática. Más concretamente, la ANGPTL4 presenta una función bien definida en el proceso tumoral, incluyendo angiogénesis y metástasis [23]. CATHEPSIN-D y MPO capturan remodelación proteolítica e inflamación impulsada por neutrófilos, ambas asociadas con invasividad aumentada y siembra metastática [139]. La MPO denota un estado prooxidativo en los neutrófilos, estos granulocitos participan activamente en la metástasis. Estas rutas están particularmente alteradas en los procesos metastáticos, ya que las células tumorales secretan citoquinas con funciones duales protumorales e inmunomoduladoras, y pueden ser más fácilmente detectables en sangre. Los biomarcadores FGF21, GDF15 y leptina integran estrés metabólico inducido por tumor y señalización adiposa-hepática, procesos que afectan la competencia inmunológica y el estado metabólico de órganos objetivo. Este enfoque es importante porque entiende que el cáncer es una enfermedad no sólo genética sino también sistémica con alteraciones metabólicas e inmunes

cuantificables en sangre [62]. Además, IL6, IL10 e IL18 fueron seleccionadas como citoquinas con funciones duales pro-tumor e inmunomoduladoras, evaluando colectivamente inflamación sistémica crónica y escape inmunológico. Más allá de su significancia mecanicista y opuesta (proinflamación vs. inmunosupresión), estos biomarcadores fueron seleccionados basados en evidencia previa de variación dinámica con carga tumoral, enriquecimiento parcial en tejidos hepáticos, adiposos o endoteliales que habilitan inferencia relacionada con órganos, y su viabilidad para cuantificación multiplexada robusta en laboratorios clínicos. Las correlaciones de los biomarcadores onco-metabólicos con la edad, superficie corporal o índice de masa corporal fueron escasas y de poca amplitud. En la bibliografía, hemos encontrado estudios con pacientes con cáncer que muestran también correlaciones entre LEPTIN–BMI; o GDF15–edad ($p=0.025$) [140, 141]. Aunque existen estudios respecto al potencial impacto de estas variables clínicas en ciertos parámetros analíticos globales como nlr o sii, dicho impacto no está bien establecido y ha mostrado tendencias contradictorias [142, 143]. Somos conscientes de que las relaciones observadas en este estudio entre la superficie corporal o el índice de masa corporal y los parámetros analíticos globales deberían observarse con cautela debido a la complejidad de esas interrelaciones y a la heterogeneidad de la población.

El parámetro Qoppa fue clínicamente relevante, mostrando variación significativa de acuerdo con el riesgo pronóstico para el desarrollo de metástasis *de novo* y éxitos en población no metastásica. Además, las diferencias entre valores de Qoppa alto y bajo reflejaron divergencia marcada en ciertos biomarcadores onco-metabólicos. Adicionalmente, las diferencias entre Qoppa alto y bajo se correlacionaron con diferencias clínicas en estadio de enfermedad, carga tumoral y carga metastásica al diagnóstico, muestreo y post-muestreo. Estos hallazgos refuerzan el concepto de que las variables que comprenden el parámetro sintético Qoppa capturan un estado biológico sistémico que expresa la trayectoria de la enfermedad y el proceso oncológico, permitiendo monitoreo no invasivo repetido de pacientes de alto riesgo. Dentro de este enfoque, Qoppa no pretende nunca sustituir criterios clínicos, sino

ofrecer una herramienta cuantitativa complementaria para identificar y estratificar pacientes de alto riesgo que requieren de una vigilancia más estrecha, apoyar tratamientos coadyuvantes cuando exista la posibilidad y repetir su monitorización a lo largo de la enfermedad. Este punto de vista es particularmente interesante dentro de la oncología de precisión, ya que podría suponer una herramienta más en la asistencia clínica habitual de los pacientes y se alinea con las tendencias más innovadoras y actuales en oncología, en la cual la enfermedad tumoral se identifica antes de su visibilidad en estudios de imagen.

Por otro lado, los resultados presentados aquí deben considerarse generadores de hipótesis para estudios posteriores respecto a la utilidad clínica de Qoppa más grandes. Somos conscientes de que la adopción de Qoppa en la práctica clínica real requeriría, primero, una validación clínica en cohortes mayores, un estudio de costes, así como la estandarización de los procedimientos analíticos (manejo de muestras, calibración, control de calidad). Por su parte, la heterogeneidad de tipos tumorales incluidos en este estudio también puede considerarse una limitación, pero se planteó así desde el inicio dado que este nuevo índice aspira a ser un pan-cáncer y se busca explorar su comportamiento transversal en distintas neoplasias. Se entiende que distintos tipos de tumores presentan diversa naturaleza, biología, tropismo, escape inmune y perfil inflamatorio, lo cual también puede estar afectando al modelo. Por ello, la selección de parámetros analíticos globales y biomarcadores onco-metabólicos diversos, se realizó para intentar capturar la mayor información posible y desde los distintos puntos de referencia. En general, los estudios pan-cáncer actuales emplean cohortes muy grandes con capacidad de estratificar por tipo de tumor y estadio [136, 138] y debería ser uno de los pasos en una hoja de ruta futura.

Qoppa exhibió capacidad discriminatoria limitada en pacientes con enfermedad metastásica en el momento del análisis. Esta limitación puede atribuirse a la presencia de una dinámica molecular más compleja con varias rutas de progresión tumoral adquiridas que se desarrollan en el mismo espacio y tiempo, tal y como comentábamos en la introducción de este trabajo. Esto genera un ruido biológico

y reduce la sensibilidad del índice. Esto sugiere que mientras la conjunción de parámetros analíticos globales con biomarcadores onco-metabólicos puede detectar inicio de metástasis, es inadecuado para identificar variaciones en carga metastásica una vez que el proceso metastásico se ha establecido. En el grupo de pacientes no metastásicos a la inclusión se incluyeron dos pacientes que habían presentado metástasis al diagnóstico y que tras tratamiento se encontraban más de seis meses libres de metástasis. Conocida la posible fuente de sesgo, se realizó el subanálisis de curvas operador ROC sin incluir estos pacientes, lo cual arrojó los mismos resultados. Esto refuerza los resultados del análisis principal, el planteamiento del estudio y el potencial papel clínico de Qoppa.

Serían necesarios nuevos trabajos con aproximaciones complementarias de Qoppa junto con DNA circulante u otras técnicas ómicas. No obstante, dado el impacto pronóstico sustancial del inicio de metástasis, Qoppa permanece con un considerable interés y utilidad clínica para la detección de la población en alto riesgo de desarrollo de metástasis *de novo*.

VII – CONCLUSIONES

VII – CONCLUSIONES

Este estudio piloto prospectivo sugiere que la medición clínica de biomarcadores onco-metabólicos es viable en sangre periférica de pacientes oncológicos. La integración de estos biomarcadores plasmáticos relacionados con la activación endotelial, inflamación y metabolismo con parámetros de laboratorio globales en la variable sintética Qoppa se asoció consistentemente con riesgo de éxitus y metástasis *de novo* en esta pequeña cohorte generadora de hipótesis, respaldando la viabilidad metodológica de este enfoque. Por ello, siguiendo los objetivos propuestos inicialmente, las conclusiones de esta tesis doctoral son las siguientes:

1. En esta cohorte de pacientes oncológicos del sur de España se seleccionó, y se analizó un panel de biomarcadores onco-metabólicos circulantes, evidenciando un perfil sistémico compatible con activación inflamatoria, disfunción inmunometabólica y alteraciones endoteliales propias del contexto tumoral. El análisis conjunto mostró asociaciones relevantes entre varios biomarcadores del panel y parámetros analíticos globales de uso clínico (hemograma e índices derivados, marcadores inflamatorios, y parámetros de función hepática y renal), apoyando que estos mediadores reflejan el estado biológico global del paciente.
2. La integración de los biomarcadores onco-metabólicos con parámetros analíticos globales permitió desarrollar un nuevo índice pronóstico compuesto (Qoppa), que demostró capacidad discriminatoria global para estratificar el riesgo de metástasis *de novo* y mortalidad. En conjunto, los resultados respaldan la utilidad potencial de este enfoque integrativo como herramienta de medicina de precisión para identificar pacientes de alto riesgo mediante una biopsia líquida funcional basada en extracción sanguínea y analítica accesible.
3. Las correlaciones de los biomarcadores onco-metabólicos con la edad,

superficie corporal o índice de masa corporal fueron escasas. Se requiere de más estudios para definir el impacto de la superficie corporal e índice de masa corporal en los parámetros analíticos globales.

4. El proceso de toma de muestras, procesamiento y obtención de datos fue factible en la práctica clínica habitual.

Aunque los datos presentes son insuficientes para justificar implementación clínica inmediata, proporcionan una prueba de concepto de que tales paneles plasmáticos integrativos pueden capturar información clínicamente relevante en contextos clinicopatológicos estándar. Este tipo de estudios piloto aportan una validación prospectiva y sirven de base a un refinamiento en cohortes más grandes, estratificadas por tipo de tumor y multicéntricas.

VIII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VIII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

8.1. LIMITACIONES

Este estudio piloto tiene varias limitaciones, relacionadas principalmente con la potencia estadística limitada.

Primero, el tamaño de la cohorte fue modesto ($n=30$) y fue altamente heterogéneo en términos de tipo de tumor primario, estadio, tratamientos previos y carga metastásica. Aunque esta heterogeneidad se alinea conceptualmente con la naturaleza pan-tumoral y centrada en el huésped de Qoppa, probablemente aumentó el ruido y diluyó asociaciones potenciales dentro de subgrupos específicos. Cabe destacar que tal heterogeneidad también limita la definición de un punto de corte universal único, ya que los umbrales clínicos pueden variar entre tipos de tumores y condiciones clínicas.

Segundo, dado el tamaño pequeño de muestra comparado con el número de variables integradoras, existe riesgo de sobreajuste de modelo ($AUC=0.78$). Esto fue parcialmente mitigado por validación interna usando remuestreo *bootstrap*. Sin embargo, esto no puede sustituir una validación externa. Consistente con esto, la significancia de la regresión de Cox fue borderline ($p=0.058$), lo que probablemente refleja una potencia insuficiente en lugar de ausencia de asociación. Como consecuencia, las estimaciones de efecto, puntos de corte propuestos y la aparente separación pronóstica entre estratos de Qoppa deben interpretarse con cautela y considerarse exploratorios.

Tercero, no especificamos estratificación por estirpe tumoral o tratamiento, por lo que la aplicabilidad clínica pan-cáncer de Qoppa debe ser confirmada. Antes del uso rutinario, su rendimiento pronóstico, reproducibilidad y valor añadido deben confirmarse en cohortes más grandes multicéntricas estratificadas por tipo

de tumor y escenario clínico. Los estudios futuros también deberían explorar si versiones simplificadas y específicas del contexto del panel de biomarcadores pueden retener la mayoría de la información predictiva mientras mejoran la viabilidad y rentabilidad antes de su implementación clínica.

8.2. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Una vez que se completen los pasos ya descritos en las limitaciones superiores, los cuales son necesarios para desarrollar el enfoque de Qoppa y su orientación no centrada sólo en el tumor sino también en la respuesta del huésped, consideramos interesante destacar las posibles futuras líneas de investigación:

- **Nuevos biomarcadores órgano específicos:** La detección de un alto riesgo de desarrollo de metástasis *de novo* de Qoppa se basa en obtener una imagen de la situación biológica desde distintos puntos de vista aportados por biomarcadores onco-metabólicos y parámetros analíticos globales. Dicho enfoque puede enriquecerse incluyendo biomarcadores órgano-específicos que hablen de la potencial actividad tumoral en dicho órgano. Esto permitiría conocer no sólo la presencia de riesgo sino la posible localización del mismo. Asimismo, generaría una nueva línea de investigación sobre qué hacer y cómo tratar la presencia de enfermedad exclusivamente bioquímica. Este paradigma ya se ha dado en neoplasias como el adenocarcinoma de próstata y a día de hoy tenemos tratamientos disponibles para la recaída exclusivamente bioquímica sin metástasis radiológicamente observables.
- **Análisis evolutivo temporal:** Actualmente, las capacidades analizadas de Qoppa son estáticas, consistiendo en una instantánea fija en un momento temporal de la enfermedad. Aportaría gran cantidad de información y valor clínico estudiar un enfoque análogo de parámetros analíticos globales y biomarcadores onco-metabólicos que varíen a lo largo del tiempo y analizar las implicaciones de dichas variaciones en el riesgo de desarrollo de

metástasis. Esta aproximación evolutiva podría aportar una captura dinámica de la enfermedad.

- **Complementar con RNA, DNA circulante u otras ómicas para pacientes metastásicos:** Qoppa no ha mostrado valor en la población metastásica a la extracción. La adición de análisis de microRNA, DNA tumoral circulante, proteómica plasmática u otro algún análisis adicional podría complementar el enfoque y aportar valor a la detección de progresión de los pacientes metastásicos.
- **Integración en una plataforma única evolutiva:** Sería de interés estandarizar, externalizar y profesionalizar la detección dentro de un proceso normalizado de trabajo que permitiese a cualquier centro remitir las muestras y enviar datos mediante una plataforma informática. De esta manera, el servicio podría prestarse en cualquier área geográfica y facilitaría que pudiera accederse a él de manera evolutiva en distintos momentos temporales de la enfermedad.

IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mukherjee S. El emperador de todos los males. 1st. Penguin Random House, 2014
2. Chmielowski B y Territo M, eds. Manual of Clinical Oncology. 8th. Wolters Kluwer, 2017
3. Abraham J, Allegra CJ y Gulley JL, eds. Bethesda Handbook of Clinical Oncology. 2nd. Lippincott Williams Wilkins, 2005
4. Institute CCINC. Diccionario de Cáncer del NCI. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer> 2025 Mar
5. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel R, Soerjomataram I y Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2024; 74
6. Dagenais GR, Leong DP, Rangarajan S, Lanas F, Lopez-Jaramillo P, Gupta R, Diaz R, Avezum A, Oliveira GB, Wielgosz A, Parambath SR, Mony P, Alhabib KF, Temizhan A, Ismail N, Chifamba J, Yeates K, Khatib R, Rahman O, Zatonska K, Kazmi K, Wei L, Zhu J, Rosengren A, Vijayakumar K, Kaur M, Mohan V, Yusufali AH, Kelishadi R, Teo KK, Joseph P y Yusuf S. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. The Lancet 2020; 395
7. Koo CY, Chong B, Jayabaskaran J, Nagarajan S, Jauhari SM, Chen Y, Tan LL, Mehta A, Khan MS, Muthiah M, Hausenloy D, Richards AM, Ko DT, Mallen CD, Secemsky EA, Chan MY, Thavendiranathan P, Chew NW y Mamas MA. Global Trends and Forecast of Cardiovascular Diseases, Cancer, and Shared

- Risk Factors: Insights From the GBD 2021. *Journal of the American Heart Association* 2025; 14
8. Bray F, Laversanne M, Cao B, Varghese C, Mikkelsen B, Weiderpass E y Soerjomataram I. Comparing cancer and cardiovascular disease trends in 20 middle- or high-income countries 2000–19: A pointer to national trajectories towards achieving Sustainable Development goal target 3.4. *Cancer Treatment Reviews* 2021; 100
 9. Yusuf S, Joseph P, Rangarajan S, Islam S, Mente A, Hystad P, Brauer M, Kuttu VR, Gupta R, Wielgosz A, AlHabib KF, Dans A, Lopez-Jaramillo P, Avezum A, Lanas F, Oguz A, Kruger IM, Diaz R, Yusoff K, Mony P, Chifamba J, Yeates K, Kelishadi R, Yusufali A, Khatib R, Rahman O, Zatonska K, Iqbal R, Wei L, Bo H, Rosengren A, Kaur M, Mohan V, Lear SA, Teo KK, Leong D, O'Donnell M, McKee M y Dagenais G. Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet* 2020; 395
 10. Ledford H. Why are so many young people getting cancer? What the data say. *Nature* 2024; 627
 11. Economic Co-operation O for y Development. Health at a Glance 2025: OECD Indicators. OECD Publishin 2025. DOI: <https://doi.org/10.1787/8f9e3f98-en>
 12. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2022. 2022. Available from: https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf
 13. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2023. 2023. Available from: https://seom.org/images/Las_cifras_del_Cancer_en_Espana_2023.pdf
 14. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2024. 2024. Available from: <https://seom.org/images/>

- publicaciones/informes-seom-de-evaluacion-de-farmacos/LAS_CIFRAS_2024.pdf
15. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2025. 2025. Available from: https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DMC2025.pdf
 16. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2026. 2026. Available from: https://seom.org/images/Las_Cifras_del_Cancer_en_Espanya_2026.pdf
 17. Instituto Nacional de Estadística (INE). Defunciones según la Causa de Muerte. Datos provisionales 2024. 2025. Available from: <https://www.ine.es/dyngs/Prensa/pEDCM2024.htm>
 18. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery* 2022 Jan; 12(1):31-46
 19. Hanahan D y Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer Review evolve progressively from normalcy via a series of pre. *Cell* 2000; 100:57-70
 20. Hanahan D y Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011 Mar; 144(5):646-74
 21. Kumar V, Abbas AK, Aster JC y Perkins JA, eds. Robbins Cotran. Pathologic Basis of Disease. 10th. Elsevier, 2018
 22. Seo SU, Woo SM, Im SS, Jang Y, Han E, Kim SH, Lee H, Lee HS, Nam JO, Min EG andKyoung-jin y Kwon TK. Cathepsin D as a potential therapeutic target to enhance anticancer drug-induced apoptosis via RNF183-mediated destabilization of Bcl-xL in cancer cells. *Cell Death Dis* 2022; 115(13)
 23. Ramos P, Shi Q, Kleberg J, Maharjan CK, Zhang W y Kolb R. ANGPTL4: A Comprehensive Review of 25 Years of Research. *Cancers* 2025; 14(17)
 24. Lim EJ, Kang JH, Kim YJ, Kim S y Lee SJ. ICAM-1 promotes cancer progression by regulating SRC activity as an adapter protein in colorectal cancer. *Cell Death Disease* 2022; 13

25. Yang C, Ni B, Li LS and Zhenlong, Zhou L, Wu H, Zhang Y, Liu L, Liu J, Tian L, Yan L y Jin X. Systematic pan-cancer analysis insights into ICAM1 as an immunological and prognostic biomarker. *FASEB journal* 2024; 13(38)
26. Tysoe O. FGF21 suppresses CD8+ T cell antitumour activity. *Nature Reviews Endocrinology* 2024; 20
27. Carleton N, Rosen ABI, Das J y Lotze MT. Immuno-oncology recapitulates ontogeny: Modern cell and gene therapy for cancer. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 2025 Mar
28. Liu TW, Gammon ST, Yang P, Ma W, Wang J y Piwnica-Worms D. Inhibition of myeloperoxidase enhances immune checkpoint therapy for melanoma. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 2023; 11(2)
29. Zhang H, Liu S, Fu S, Zhao Q, Wang Y, Yuan Y y Zhang C. Novel insight into the Warburg effect: Sweet temptation. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2025; 214
30. Fu J, Su X, Li Z, Deng L, Liu X, Feng X y Peng J. HGF/c-MET pathway in cancer: from molecular characterization to clinical evidence. *Oncogene* 2021; 40
31. Matsumoto K, Umitsu M, Silva DMD, Roy A y Bottaro DP. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Science* 2017; 108(3)
32. Blanquer-Rosselló M, Oliver J, Sastre-Serra J, Valle A y Roca P. Leptin regulates energy metabolism in MCF-7 breast cancer cells. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology* 2016; 72
33. Yum C, Andolino C, Layosa MA, Coleman M, Hursting S y Teegarden D. Differential effects of leptin on energy metabolism in murine cell models of metastatic triple negative breast cancer. *Diabetology Metabolic Syndrome* 2024; 16

34. Khan W, Zeb A, Malik MFA, Wahid M, Mandal R, Babegi AS, Mathkor DM, Haque S y Haq F. FGF21 affects the glycolysis process via mTOR-HIF1 α axis in hepatocellular carcinoma. *Cellular Signalling* 2025; 126
35. Xue W, Li Y, Ma Y y Zhang F. GDF15-mediated enhancement of the Warburg effect sustains multiple myeloma growth via TGF β signaling pathway. *Cancer Metabolism* 2025; 13
36. Sonar S, Nyahatkar S, Kalele K y Adhikari MD. Role of DNA methylation in cancer development and its clinical applications. *Clinical and Translational Discovery* 2024 Feb; 4
37. Paltridge JL, Belle L y Khew-Goodall Y. The secretome in cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics* 2013; 1834(11)
38. Baulenas-Farres M, Paco S, Marino F, Mohr J, Panisello C, Balaguer-Lluna L, Aschero R, Cuadrado-Vilanova M, Resa-Pares C, Rodriguez E, Marquez J, Menéndez P, Jou C, Benitez R, Benitez-Ribas D, Lavarino C, Mora J y Carcaboso AM. Proteins of the cancer cell secretome induce the protumoral microenvironment of diffuse intrinsic pontine glioma. *Neuro-Oncology Advances* 2025 Jan; 7(1)
39. Ritchie S, Reed DA, Pereira BA y Timpson P. The cancer cell secretome drives cooperative manipulation of the tumour microenvironment to accelerate tumourigenesis. *Faculty Reviews* 2021 Jan; 10
40. Valastyan S y Weinberg RA. Tumor metastasis: Molecular insights and evolving paradigms. *Cell* 2011; 147(2)
41. Lusby R, Dunne P y Tiwari VK. Tumour invasion and dissemination. *Biochemical Society Transactions* 2022; 50(3)
42. Li Y, Liu F, Cai Q, Deng L, Ouyang Q, Zhang XH y Zheng J. Invasion and metastasis in cancer: molecular insights and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2025 Dec; 10(1)

43. Wang Y, Jia J, Wang F, Fang Y, Yang Y, Zhou Q, Yuan W, Gu X, Hu J y Yang S. Pre-metastatic niche: formation, characteristics and therapeutic implication. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2024; 9(1)
44. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *The Lancet* 1889; 133:571-3
45. Zhan Q, Liu B, Situ X, Luo Y, Fu T, Wang Y, Xie Z, Ren L, Zhu Y, He W y Ke Z. New insights into the correlations between circulating tumor cells and target organ metastasis. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2023 Dec; 8
46. Gao Y, Bado I, Wang H, Zhang W, Rosen JM y Zhang XH. Metastasis Organotropism: Redefining the Congenial Soil. *Developmental Cell* 2019 May; 49
47. Fan X, Li B, Zhang F, Liu M, Kwan HY, Liu Z y Su T. FGF19-Activated Hepatic Stellate Cells Release ANGPTL4 that Promotes Colorectal Cancer Liver Metastasis. *Advanced Science* 2025; 12(7)
48. Sui Y y Chen J. Hepatic FGF21: Its Emerging Role in Inter-Organ Crosstalk and Cancers. *International Journal of Biological Sciences* 2022; 18
49. Jiang K, Parker M, Materi J, Azad TD, Kamson DO, Kleinberg L, Ye X, Rincon-Torroella J y Bettegowda C. Epidemiology and survival outcomes of synchronous and metachronous brain metastases: a retrospective population-based study. *Neurosurgical Focus* 2023 Aug; 55
50. Horn SR, Stoltzfus KC, Lehrer EJ, Dawson LA, Tchelebi L, Gusani NJ, Sharma NK, Chen H, Trifiletti DM y Zaorsky NG. Epidemiology of liver metastases. *Cancer Epidemiology* 2020 Aug; 67
51. Chen H, Stoltzfus KC, Lehrer EJ, Horn SR, Siva S, Trifiletti DM, Meng MB, Verma V, Louie AV y Zaorsky NG. The Epidemiology of Lung Metastases. *Frontiers in Medicine* 2021 Sep; 8
52. Ryan C, Stoltzfus KC, Horn S, Chen H, Louie AV, Lehrer EJ, Trifiletti DM, Fox EJ, Abraham JA y Zaorsky NG. Epidemiology of bone metastases. *Bone* 2022 May; 158

53. Pape M, Vissers PAJ, Bertwistle D, McDonald L, Slingerland M, Mohammad NH, Beerepoot LV, Ruurda JP, Nieuwenhuijzen GAP, Jeene PM, Laarhoven HWM van y Verhoeven RHA. A population-based study in synchronous versus metachronous metastatic esophagogastric adenocarcinoma. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2022 Jan; 14
54. Ettaieb MH, Duker JC, Feelders RA, Corssmit EP, Houven van Oordt CWMv der, Timmers HJ, Kerstens MN, Wilmink JW, Zelissen PM, Havekes B y Haak HR. Synchronous vs. Metachronous Metastases in Adrenocortical Carcinoma: an Analysis of the Dutch Adrenal Network. *Hormones and Cancer* 2016 Dec; 7(5-6)
55. Gofrit ON, Gofrit B, Roditi Y, Popovtzer A, Frank S, Sosna J, Orevi M y Goldberg SN. The different clonal origins of metachronous and synchronous metastases. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2023 Oct; 149(13)
56. Reboux N, Jooste V, Goungounga J, Robaszkiewicz M, Nousbaum JB y Bouvier AM. Incidence and Survival in Synchronous and Metachronous Liver Metastases from Colorectal Cancer. *JAMA Network Open* 2022 Oct; 5(10)
57. Siriwardena AK et al. Multisocietal European consensus on the terminology, diagnosis, and management of patients with synchronous colorectal cancer and liver metastases: an E-AHPBA consensus in partnership with ESSO, ESCP, ESGAR, and CIRSE. *British Journal of Surgery* 2023 Sep; 110(9)
58. Retz M, Bedke J, Herrmann E, Grimm MO, Zimmermann U, Müller L, Leiber C, Teber D, Wirth M, Bolenz C, Alphen R van, Santis MD, Beeker A, Frank M y Gschwend J. Phase III randomized, sequential, open-label study to evaluate the efficacy and safety of sorafenib-pazopanib versus pazopanib-sorafenib in the treatment of metastatic renal cell carcinoma (SWITCH-II). *Annals of Oncology* 2017 Sep; 28
59. Lamba N, Wen PY y Aizer AA. Epidemiology of brain metastases and leptomeningeal disease. *Neuro-Oncology* 2021 Sep; 23(9)

60. Mao X, Mei R, Yu S, Shou L, Zhang W, Li K, Qiu Z, Xie T y Sui X. Emerging Technologies for the Detection of Cancer Micrometastasis. *Technology in Cancer Research and Treatment* 2022; 21
61. Bartolomucci A, Nobrega M, Ferrier T, Dickinson K, Kaorey N, Nadeau A, Castillo A y Burnier JV. Circulating tumor DNA to monitor treatment response in solid tumors and advance precision oncology. *npj Precision Oncology* 2025; 9(1)
62. Ma L, Guo H, Zhao Y, Liu Z, Wang C, Bu J, Sun T y Wei J. Liquid biopsy in cancer current: status, challenges and future prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2024 Dec; 9(1)
63. Sato Y. Liquid biopsy for minimal residual disease and monitoring in early-stage non-small cell lung cancer: current clinical utility and implementation challenges. *Exploration of Medicine* 2025; 6
64. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines: Testicular Cancer. Version actual (accedido 2026-01-30). 2026. Available from: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1468> [Accessed on: 2026 Jan 30]
65. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines: Ovarian Cancer. Version actual (accedido 2026-01-30). 2026. Available from: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1453> [Accessed on: 2026 Jan 30]
66. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines: Non-Small Cell Lung Cancer. Version actual (accedido 2026-01-30). 2026. Available from: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1450> [Accessed on: 2026 Jan 30]
67. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines: Colon Cancer. Version actual (accedido 2026-01-30). 2026. Available from: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1428> [Accessed on: 2026 Jan 30]

68. Peng Y, Mei W, Ma K y Zeng C. Circulating Tumor DNA and Minimal Residual Disease (MRD) in Solid Tumors: Current Horizons and Future Perspectives. *Frontiers in Oncology* 2021; 11
69. Zheng J, Qin C, Wang Q, Tian D y Chen Z. Circulating tumour DNA-Based molecular residual disease detection in resectable cancers: a systematic review and meta-analysis. *eBioMedicine* 2024; 103
70. Shaw JA, Page K, Wren E, Bruin EC de, Kalashnikova E, Hastings R, McEwen R, Zhang E, Wadsley M, Acheampong E, Renner D, Gleason KL, Ambasager B, Stetson D, Fernandez-Garcia D, Guttery D, Allsopp RC, Rodriguez A, Zimmermann B, Sethi H, Aleshin A, Liu MC, Richards C, Stebbing J, Ali S, Rehman F, Cleator S, Kenny L, Ahmed S, Armstrong AC y Coombes RC. Serial Postoperative Circulating Tumor DNA Assessment Has Strong Prognostic Value During Long-Term Follow-Up in Patients With Breast Cancer. *JCO Precision Oncology* 2024
71. Gulturk I, Yilmaz M, Tacar SY, Bakkaloglu OK, Sonmezoz GB, Erdal GS, Ozmen A y Tural D. Naples prognostic score may predict overall survival in metastatic pancreatic cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2024; 20(1)
72. Wang K, Li K, Zhang Z, Zeng X, Sulayman S, Ababaike S, Wu Z, Pan Y, Chu J, Guan J, Chen Y y Zhao Z. Prognostic value of combined NP and LHb index with absolute monocyte count in colorectal cancer patients. *Scientific Reports* 2025 Dec; 15(1)
73. Ferioli M, Benini A, Malizia C, Forlani L, Medici F, Laghi V, Ma J, Galuppi andrea, Cilla S, Buwenge M, Macchia G, Zamagni C, Tagliaferri L, Perrone AM, Iaco PD, Strigari L, Morganti AG y Arcelli A. Classical Prognostic Factors Predict Prognosis Better than Inflammatory Indices in Locally Advanced Cervical Cancer: Results of a Comprehensive Observational Study including Tumor-, Patient-, and Treatment-Related Data (ESTHER Study). *Journal of Personalized Medicine* 2023 Aug; 13(8)

74. Medici F, Ferioli M, Forlani L, Laghi V, Ma J, Cilla S, Buwenge M, Macchia G, Deodato F, Vadalà M, Malizia C, Tagliaferri L, Perrone AM, Iaco PD, Strigari L, Arcelli A y Morganti AG. Decoding the Complexity of Systemic Inflammation Predictors in Locally Advanced Cervical Cancer, with Hemoglobin as the Hidden Key (the ESTHER Study). *Cancers* 2023 Oct; 15(20)
75. Urbanski G, Hamel JF, Prouveur B, Annweiler C, Ghali A, Cassereau J, Lozac'h P, Lavigne C y Lacombe V. Strength of the association of elevated vitamin b12 and solid cancers: An adjusted case-control study. *Journal of Clinical Medicine* 2020 Feb; 9(2)
76. Wang X, Xu J, Zhang H y Qu P. The effect of albumin and hemoglobin levels on the prognosis of early-stage cervical cancer: a prospective, single-center-based cohort study. *BMC Women's Health* 2023 Dec; 23(1)
77. Mao Y, Liu J, Li J, Qiu Y, Wang Z, Li B, Liu S, Tian L y Chen J. Elevation of preoperative serum hs-CRP is an independent risk factor for malnutrition in patients with gastric cancer. *Frontiers in Oncology* 2023; 13
78. León AM, Hall WB, Lino LS, Salcedo RA, García JS, Miranda G, Hernández R, Herrera A y Zepeda C. Identification of prognostic factors for survival in patients with metastatic gastric adenocarcinoma in a Mexican population. *Revista de Gastroenterología de México* 2024; 89
79. Ji F, Fu S, Guo Z, Pang H, Chen D, Wang X, Ju W, Wang D, He X, Hua Y y Peng B. Prognostic significance of preoperative aspartate aminotransferase to neutrophil ratio index in patients with hepatocellular carcinoma after hepatic resection. *Oncotarget* 2016; 7(44)
80. Liu L, Wang W, Zhang Y, Long J, Zhang Z, Li Q, Chen B, Li S, Hua Y, Shen S y Peng B. Declined preoperative aspartate aminotransferase to neutrophil ratio index predicts poor prognosis in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma after hepatectomy. *Cancer Research and Treatment* 2018 Apr; 50(2)

81. Ekici O, Akgun U, Buyukdemirci E, Avci S, Caglayan V, Erdogan A, Onen E, Ozcan R y Oner S. Association of hemoglobin, albumin, lymphocyte and platelet (HALP) score with testicular tumor aggressiveness and prognosis. *Urologia Journal* 2024 May
82. Zhang D, Zeng H, Pan Y, Zhao Y, Wang X, Chen J, Wang J, Zhang Y, Zhou Z, Xu L, Chen M y Hu D. Liver Tumor Markers, HALP Score, and NLR: Simple, Cost-Effective, Easily Accessible Indexes for Predicting Prognosis in ICC Patients after Surgery. *Journal of Personalized Medicine* 2022 Dec; 12(12)
83. Koyun E, Dindas F, Sahin A, Cerik IB y Dogdus M. Screening Tests Predicting Cancer Metastasis in the Etiology of Pericardial Effusion: HALP Score and PNI. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2024; 121(1)
84. Wu ZJ, Lan B, Luo J, Ameti A, Wang H y Hu QY. Impact of preoperative inflammatory and nutritional markers on the prognosis of patients with peritoneal metastasis of colorectal cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 2024; 16(9)
85. Liu WC, Li MP, Hong WY, Zhong YX, Sun BL, Huang SH, Liu ZL y Liu JM. A practical dynamic nomogram model for predicting bone metastasis in patients with thyroid cancer. *Frontiers in Endocrinology* 2023; 14
86. Menekse S, Kut E y Almuradova E. Elevated serum lactate dehydrogenase to albumin ratio is a useful poor prognostic predictor of nivolumab in patients with non-small cell lung cancer. 2023; 5 Suppl(27)
87. Kurashina R, ando K, Inoue M, Maruyama R, Mitani K, Takenobu H, Haruta M, Onuki R, Matsuoka Y, Kamijo T y Kageyama Y. Pretreatment Hemoglobin Levels and Platelet-to-Lymphocyte Ratio Predict Survival Benefit from Pembrolizumab in Advanced Urothelial Carcinoma. *Cancer Diagnosis Prognosis* 2023 Mar; 3(2)
88. Lee DS, Kim CW, Kim HY, Ku YM, Won YD, Lee SL y Sun DS. Association between Posttreatment Serum Platelet-to-Lymphocyte Ratio and Distant Metastases in Patients with Hepatocellular Carcinoma Receiving Curative Radiation Therapy. *Cancers* 2023 Apr; 15(7)

89. Wang X, Gao Y, Wang J, Chen L, Zhang X, Chen M, Lan N, Li W, Wu F y Ren J. Predictive Role of Elevated Neutrophil-Lymphocyte Ratio for Bone Metastasis in Esophageal Cancer. *Technology in Cancer Research and Treatment* 2024 Jan; 23
90. Zhao Z, Yan M, Pang H, Chen L, Tang X, Chen Z, Chen X y Sun H. Significance of Nutritional-Inflammatory Index as Predictors for Total Neoadjuvant Therapy-Induced Tumor Regression in Locally Advanced Rectal Cancer Patients. *Journal of Inflammation Research* 2024; 17:3865-78
91. Wang Z, Zhao S, Zhang X, Mao X, Yang G, Yuan M y Zhou X. Effect of prognostic nutritional index on laboratory parameters and survival in metastatic colorectal cancer patients treated with fruquintinib: a retrospective study. *PeerJ* 2024; 12(11)
92. Mei J, Xiao X, Liang N, Dong L, Wei S, Mo L, Zhao W y Cai Y. Clinical Significance of Serum Iron Metabolism-Related Markers in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *ORL* 2023 Aug; 85(4):223-30
93. Rezazadeh M, Kamyabi A, Pisheh RG, Noroozie S, Amiri BS, Negahi A y Radkhah H. Diagnostic value of peripheral blood inflammatory indices for clinicopathological profile of colorectal cancer: a retrospective observational study. *BMC Gastroenterology* 2025 Dec; 25(1)
94. Diaz-Santos J, Montoro-Garcia S y Vidal-Vanaclocha F. Análisis de biomarcadores órgano-específicos de respuesta a factores solubles tumorales en pacientes oncológicos del sur de España (Estudio RESOLT). In *Proceedings of X Jornadas de Investigación y Doctorado "Bienestar psicológico en los Estudios de Doctorado: Repercusión en la calidad de los programas"*. Universidad Católica San Antonio de Murcia. 2024
95. Diaz-Santos J, Montoro-Garcia S, Medina-Rodriguez L, Rodriguez-Valle A, Ruiz-Checa L, Urquizar-Rodriguez O y Vidal-Vanaclocha F. Qoppa as a new synthetic analytical marker to detect the oncological population at high risk of metastasis during follow-up and optimize the imaging test schedule. In

Proceedings of the 3rd International Online Conference on Clinical Medicine. MDPI: Basel, Switzerland. 2025

96. Diaz-Santos J, Rodriguez-Valle A, Berrocal-Gavilan B, Urquizar-Rodriguez O y Montoro-Garcia S. Qoppa as a New Pan-Tumor Synthetic Parameter Derived from Tumor-Associated Biomarkers for Identifying Oncology Patients at High Risk of Metastasis: A Prospective Pilot Study. *Journal of Clinical Medicine* 2026; 15
97. Hübers C, Pari AAA, Grieshofer D, Petkov M, Schmidt A, Messmer T, Heyer CM, Schölch S, Kapel SS, Gengenbacher N, Singhal M, Schieb B, Fricke C, Will R, Remans K, Utikal JS, Reissfelder C, Schlesner M, Hodivala-Dilke KM, Kersten S, Goerdts S, Augustin HG y Felcht M. Primary tumor-derived systemic nANGPTL4 inhibits metastasis. *Journal of Experimental Medicine* 2023; 220
98. Tan MJ, Teo Z, Sng MK, Zhu P y Tan NS. Emerging roles of angiopoietin-like 4 in human cancer. *Molecular Cancer Research* 2012 Jun; 10
99. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine JHUSoM. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). <https://omim.org/> 2025 Apr
100. Huang RL, Teo Z, Chong HC, Zhu P, Tan MJ, Tan CK, Lam CRI, Sng MK, Leong DTW, Tan SM, Kersten S, Ding JL, Li HY y Tan NS. ANGPTL4 modulates vascular junction integrity by integrin signaling and disruption of intercellular VE-cadherin and claudin-5 clusters. *Blood* 2011 Oct; 118(14)
101. Fernández-Hernando C y Suárez Y. ANGPTL4: A multifunctional protein involved in metabolism and vascular homeostasis. *Current Opinion in Hematology* 2020 May; 27(3)
102. Park MS, Kim SE, Lee P, Lee JH, Jung KH y Hong SS. Potential role of ANGPTL4 in cancer progression, metastasis, and metabolism: a brief review. *BMB Reports* 2024; 57

103. Kobayashi T, Honke K, Gasa S, Fujii T, Maguchi S, Miyazaki T y Makita A. Proteolytic processing sites producing the mature form of human cathepsin D. *International Journal of Biochemistry* 1992 Sep; 24(9)
104. Benes P, Vetvicka V y Fusek M. Cathepsin D-Many functions of one aspartic protease. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2008 Oct; 68(1)
105. Tan GJ, Peng ZK, Lu JP y Tang FQ. Cathepsins mediate tumor metastasis. *World Journal of Biological Chemistry* 2013; 4(4)
106. BonDurant LD y Potthoff MJ. Fibroblast growth factor 21: A versatile regulator of metabolic homeostasis. *Annual Review of Nutrition* 2018 Aug; 38
107. Fisher FM y Maratos-Flier E. Understanding the Physiology of FGF21. *Annual Review of Physiology* 2016 Feb; 78
108. Dalangood S, Hu C, Yuan C, Li X, Qiao W, Li H, Zhang R, Li L, Li P, Yu X, Yin W, Lu J y Gui J. Cancer-associated adipocytes mediate CD8+T cell dysfunction via FGF21-driven lipolysis. *Cell Reports* 2025; 44(11)
109. Hu C, Qiao W, Li X, Ning Z kun, Liu J, Dalangood S, Li H, Yu X, Zong Z, Wen Z y Gui J. Tumor-secreted FGF21 acts as an immune suppressor by rewiring cholesterol metabolism of CD8+T cells. *Cell Metabolism* 2024; 36(3)
110. Wischhusen J, Melero I y Fridman WH. Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From Biomarker to Novel Targetable Immune Checkpoint. *Frontiers in Immunology* 2020; 11
111. Ling T, Zhang J, Ding F y Ma L. Role of growth differentiation factor 15 in cancer cachexia (Review). *Oncology Letters* 2023; 26(5)
112. You WK y McDonald DM. The hepatocyte growth factor/c-Met signaling pathway as a therapeutic target to inhibit angiogenesis. *BMB Reports* 2008; 41
113. Fu J, Su X, Li Z, Deng L, Liu X, Feng X y Peng J. HGF/c-MET pathway in cancer: from molecular characterization to clinical evidence. *Oncogene* 2021; 40

114. Yi X, Li X, Zhou Y, Ren S, Wan W, Feng G y Jiang X. Hepatocyte growth factor regulates the TGF- β 1-induced proliferation, differentiation and secretory function of cardiac fibroblasts. *International Journal of Molecular Medicine* 2014; 34(2)
115. Crestani B, Marchand-Adam S, Quesnel C, Plantier L, Borensztajn K, Marchal J, Mailleux A, Soler P y Dehoux M. Hepatocyte growth factor and lung fibrosis. *Proceedings of the American Thoracic Society*. Vol. 9. 2012 :158-63
116. Taftaf R, Liu X, Singh S, Jia Y, Dashzeveg NK, Hoffmann AD, El-Shennawy L, Ramos EK, Adorno-Cruz V, Schuster EJ, Scholten D, Patel D, Zhang Y, Davis AA, Reduzzi C, Cao Y, D'Amico P, Shen Y, Cristofanilli M, Muller WA, Varadan V y Liu H. ICAM1 initiates CTC cluster formation and trans-endothelial migration in lung metastasis of breast cancer. *Nature Communications* 2021; 12(1)
117. Bui TM, Wiesolek HL y Sumagin R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *Journal of Leukocyte Biology* 2020; 108(3)
118. Yang C, Ni B, Shen L, Li Z, Zhou L, Wu H, Zhang Y, Liu L, Liu J, Tian L, Yan L y Jin X. Systematic pan-cancer analysis insights into ICAM1 as an immunological and prognostic biomarker. *The FASEB Journal* 2024; 38
119. Ebadi M y Mazurak VC. Potential Biomarkers of Fat Loss as a Feature of Cancer Cachexia. *Mediators of Inflammation* 2015; 2015
120. Li R, Wen A y Lin J. Pro-inflammatory cytokines in the formation of the pre-metastatic niche. *Cancers* 2020; 12(12)
121. Zeng C, Niu F, Li H, Huang Z, Ke Y, Yu L y Chen M. Progress of IL-10 and liver metastasis. *Cytokine* 2025; 190
122. Ma T y Kong M. Interleukin-18 and -10 may be associated with lymph node metastasis in breast cancer. *Oncology Letters* 2021; 21(4)
123. Yuan Q, Jia L, Yang J y Li W. The role of macrophages in liver metastasis: mechanisms and therapeutic prospects. *Frontiers in Immunology* 2025; 16

124. Shiri AM, Zhang T, Bedke T, Zazara DE, Zhao L, Lücke J, Sabihi M, Fazio A, Zhang S, Tauriello DV, Batlle E, Steglich B, Kempinski J, Agaloti T, Nawrocki M, Xu Y, Riecken K, Liebold I, Brockmann L, Konczalla L, Bosurgi L, Mercanoglu B, Seeger P, Küsters N, Lykoudis PM, Heumann A, Arck PC, Fehse B, Busch P, Grotelüschen R, Mann O, Izbicki JR, Hackert T, Flavell RA, Gagliani N, Giannou AD y Huber S. IL-10 dampens antitumor immunity and promotes liver metastasis via PD-L1 induction. *Journal of Hepatology* 2024; 80
125. Markowitz GJ, Yang P, Fu J, Michelotti GA, Chen R, Sui J, Yang B, Qin WH, Zhang Z, Wang FS, Diehl AM, Li QJ, Wang H y Wang XF. Inflammation-dependent IL18 signaling restricts hepatocellular carcinoma growth by enhancing the accumulation and activity of tumor- infiltrating lymphocytes. *Cancer Research* 2016; 76(8)
126. Park S, Cheon S y Cho D. The Dual Effects of Interleukin-18 in Tumor Progression. 2007; 4
127. Kang JS, Bae SY, Kim HR, Kim YS, Kim DJ, Cho BJ, Yang HK, Hwang YI, Kim KJ, Park HS, Hwang DH, Cho DJ y Lee WJ. Interleukin-18 increases metastasis and immune escape of stomach cancer via the downregulation of CD70 and maintenance of CD44. *Carcinogenesis* 2009; 30
128. Obi N, Jung AY, Maurer T, Huebner M, Johnson T, Behrens S, Jaskulski S, Becher H y Chang-Claude J. Association of circulating leptin, adiponectin, and resistin concentrations with long-term breast cancer prognosis in a German patient cohort. *Scientific Reports* 2021; 11(1)
129. Blanquer-Rosselló MDM, Oliver J, Sastre-Serra J, Valle A y Roca P. Leptin regulates energy metabolism in MCF-7 breast cancer cells. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2016; 72
130. Lagarde CB, Thapa K, Cullen NM, Hawes ML, Salim K, Benz MC, Dietrich SR, Burow BE, Bunnell BA, Martin EC, Collins-Burow BM, Lynch RM, Hoang VT, Burow ME y Fang JS. Obesity and leptin in breast cancer angiogenesis. *Frontiers in Endocrinology* 2024; 15

131. Kim HS. Leptin and Leptin Receptor Expression in Breast Cancer. *Cancer Research and Treatment* 2009; 41
132. Galdiero MR, Bianchi P, Grizzi F, Caro GD, Basso G, Ponzetta A, Bonavita E, Barbagallo M, Tartari S, Polentarutti N, Malesci A, Marone G, Roncalli M, Laghi L, Garlanda C, Mantovani A y Jaillon S. Occurrence and significance of tumor-Associated neutrophils in patients with colorectal cancer. *International Journal of Cancer* 2016; 139(2)
133. Cosic-Mujkanovic N, Valadez-Cosmes P, Maitz K, Lueger A, Mihalic ZN, Runtsch MC, Kienzl M, Davies MJ, Chuang CY, Heinemann A, Schicho R, Marsche G y Kargl J. Myeloperoxidase Alters Lung Cancer Cell Function to Benefit Their Survival. *Antioxidants* 2023; 12(8)
134. Liu Z, Kong Y, Dang Q, Weng S, Zheng Y, Ren Y, Lv J, Li N, Han Y y Han X. Liquid Biopsy in Pre-Metastatic Niche: From Molecular Mechanism to Clinical Application. *Frontiers in Immunology* 2022; 13
135. Schrag D, Beer TM, McDonnell CH, Nadauld L, Dilaveri CA, Reid R, Marinac CR, Chung KC, Lopatin M, Fung ET y Klein EA. Blood-based tests for multicancer early detection (PATHFINDER): a prospective cohort study. *The Lancet* 2023 Oct; 402
136. Liu MC et al. Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA. *Annals of Oncology* 2020; 31
137. Nicholson BD, Oke J, Virdee PS, Harris DA, O'Doherty C, Park JE, Hamady Z, Sehgal V, Millar A, Medley L, Tonner S, Vargova M, Engonidou L, Riahi K, Luan Y, Hiom S, Kumar H, Nandani H, Kurtzman KN, Yu LM, Freestone C, Pearson S, Hobbs FR, Perera R y Middleton MR. Multi-cancer early detection test in symptomatic patients referred for cancer investigation in England and Wales (SYMPLOY): a large-scale, observational cohort study. *The Lancet Oncology* 2023; 24
138. Bai L, Lyu J, Feng J, Qiao X, Qu Y, Yang G, Zhu Y, Liao L, Gao H, Zang A, Xu Z, Ji T, Ran P, Ding W, Zhang H, Zhu L, Wang Y, Wang L, Wang X, Li Y, Li J, Yin X, Zhao G, Liu D, Gao X, Tian S, Tan S, Pu Y, Li L, Song Z, Song J, Guo

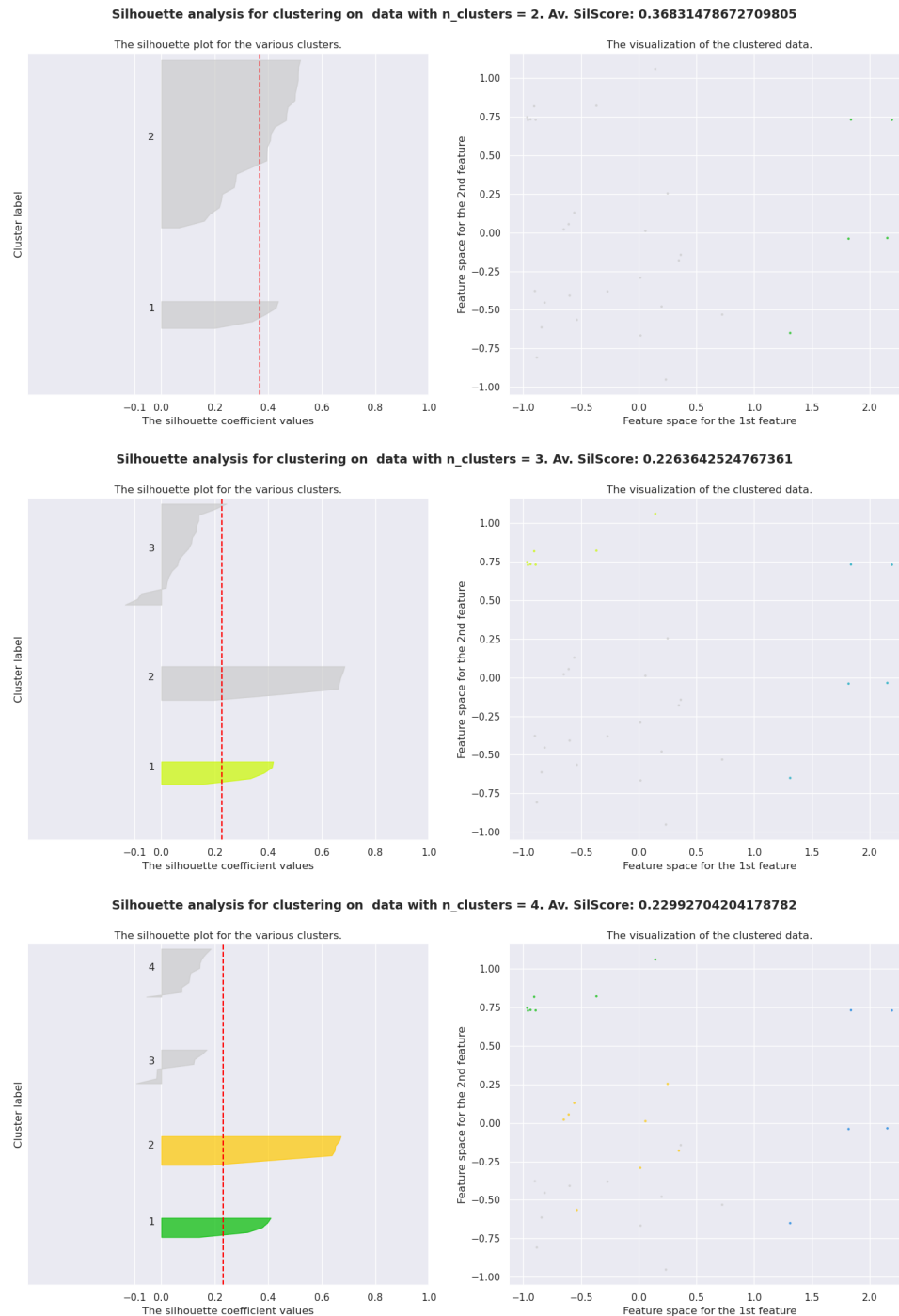
- W, Liao Y, Ye D, Yang W, Jia Y y Ding C. Cancer biomarkers discovered using pan-cancer plasma proteomic profiling. *Nature Biomedical Engineering* 2025
139. Rot AE, Hrovatin M, Bokalj B, Lavrih E y Turk B. Cysteine cathepsins: From diagnosis to targeted therapy of cancer. *Biochimie* 2024; 226
140. Ozawa Y, Okamoto H, Taniyama Y, Sato C, Ishida H, Sato T, Ohnuma S, Unno M, Abe T y Kamei T. Correlation of growth differentiation factor 15 level in esophageal cancer with cachectic indicators and postoperative infectious complication. *Esophagus*. 23
141. Vahed IE, Moshgelgosha M, Kor A, Minadi M, Ebrahimi F, Azhdarian A, Arjmandi M, Alamdar A, Zare M, Shabani N, Soltaninejad H y Rahmanian M. The role of Adiponectin and Leptin in Colorectal Cancer and Adenoma: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2025; 25
142. Qiu L, Ren Y, Li J, Li M, Li W, Qin L, Ning C, Zhang J y Gao F. Association of systemic immune inflammatory index with obesity and abdominal obesity: A cross-sectional study from NHANES. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2024; 34
143. El-Aghbary DA, Thabet RA, Almorish MA, AlSayaghi KM y Elkhailifa AME. Exploring the Relationship Between Inflammatory Biomarkers and Anthropometric Measures of Obesity in Healthy Adults: A Case Control Study. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 2025; 18

X – ANEXOS

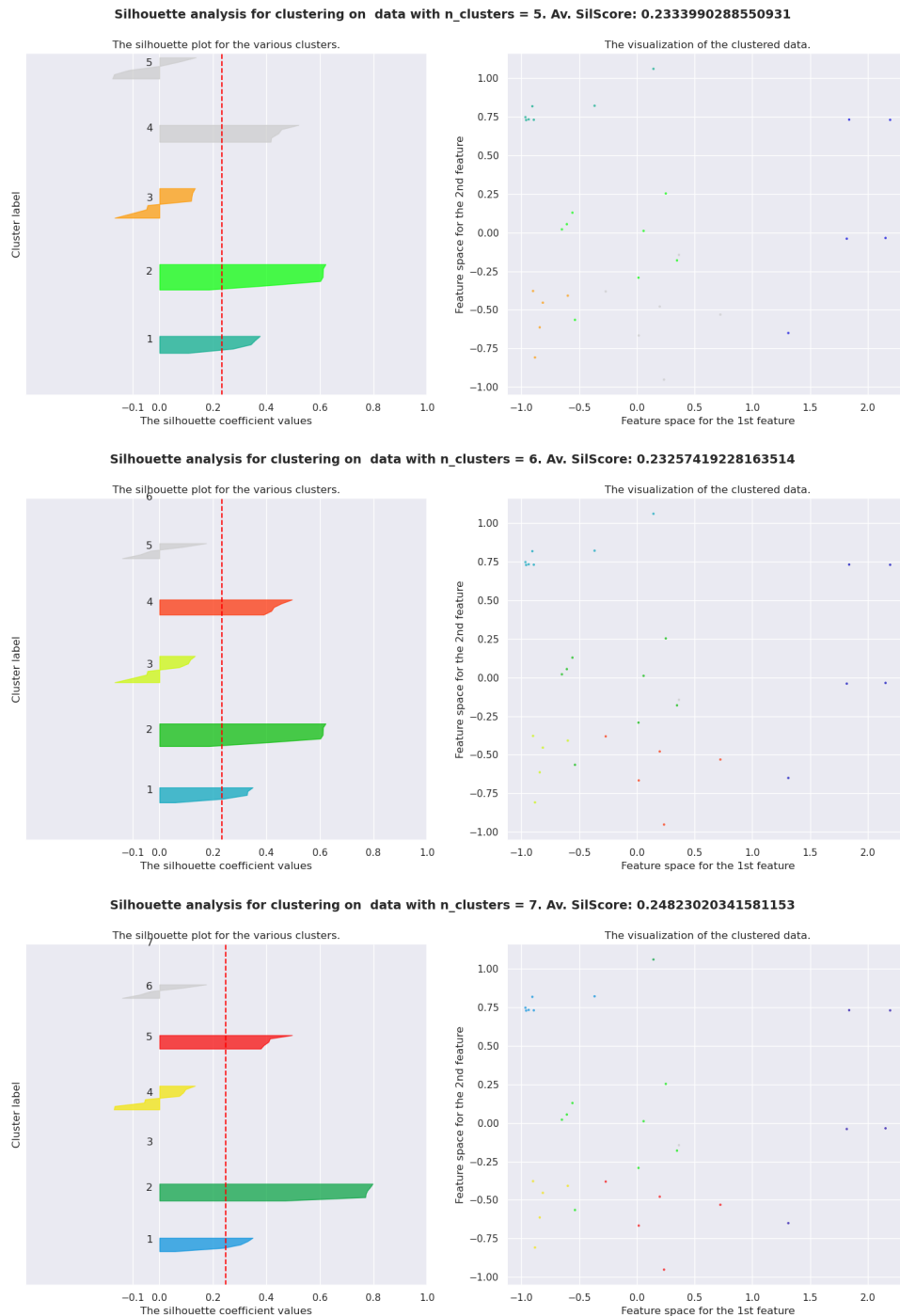
X – ANEXOS

ANEXO 1. MÉTODO DE *SILHOUETTE SCORE* PARA LA DETERMINACIÓN DEL NÚMERO ÓPTIMO DE CLÚSTERS POR VARIABLES EN EL ANÁLISIS DE PARÁMETROS ANALÍTICOS Y DE BIOMARCADORES ÓRGANO - ESPECÍFICOS

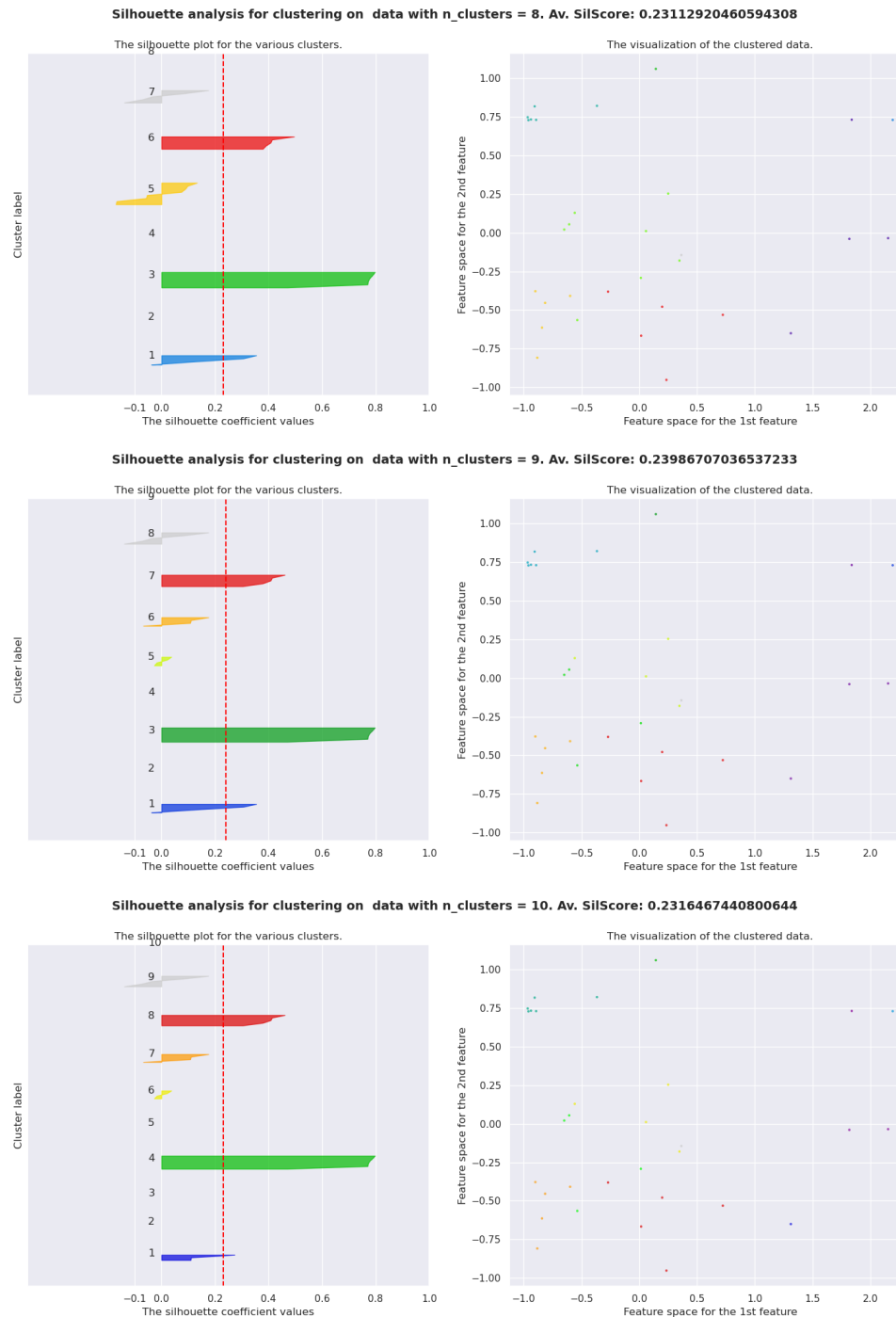
Se recopilan los resultados de cada iteración obtenidos al aplicar el análisis de *silhouette score* para determinar el número óptimo de clústers.

Figure 1.1: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

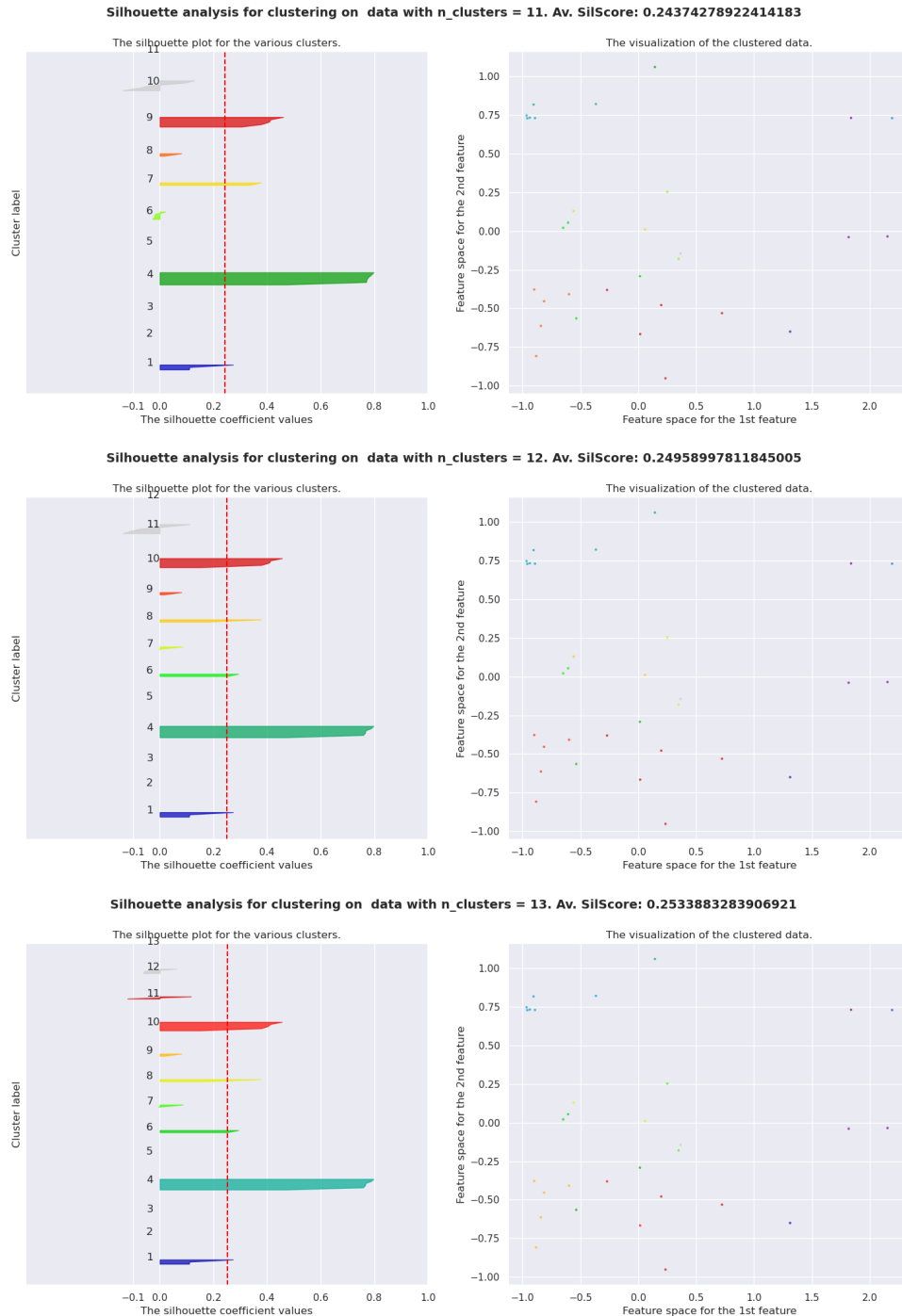
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.2: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

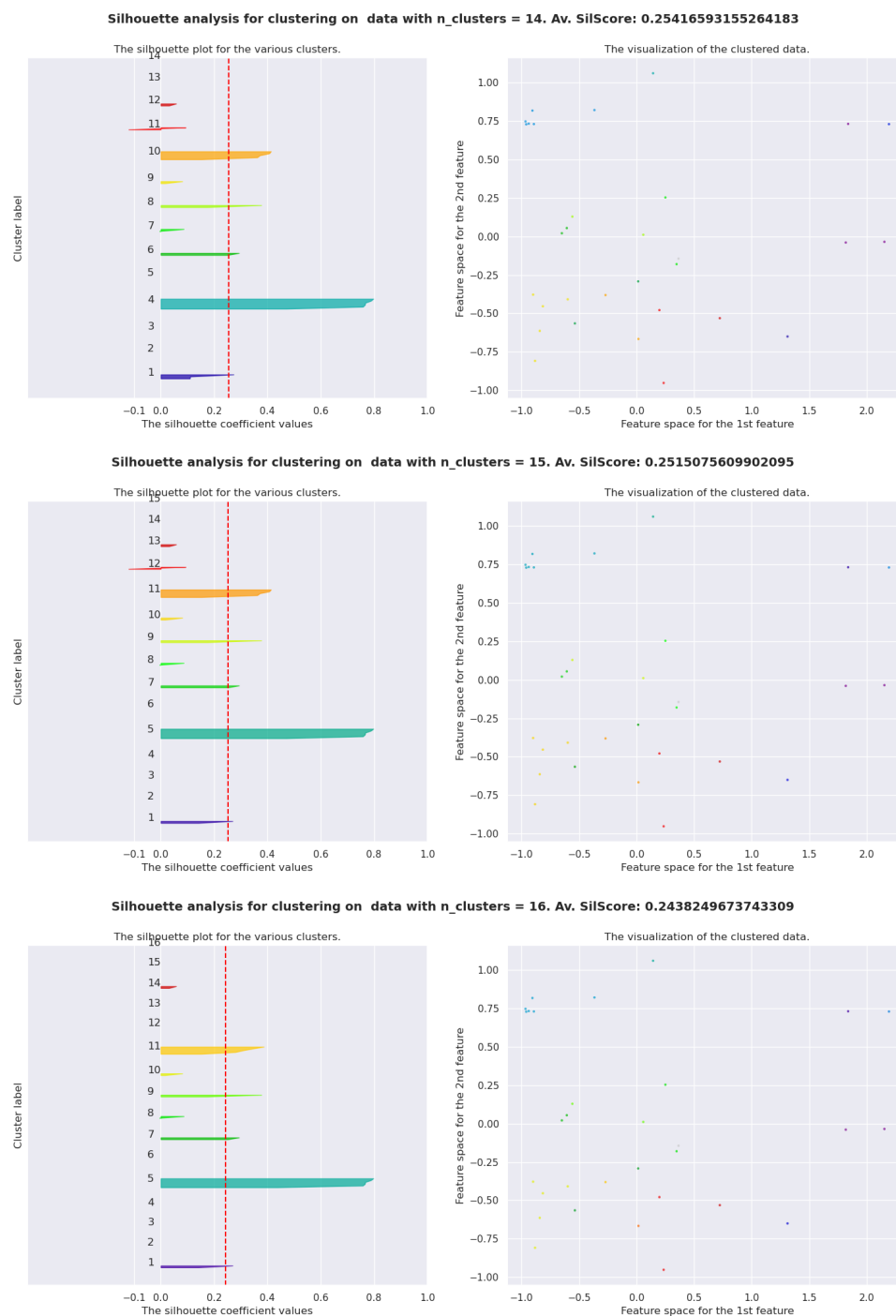
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.3: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

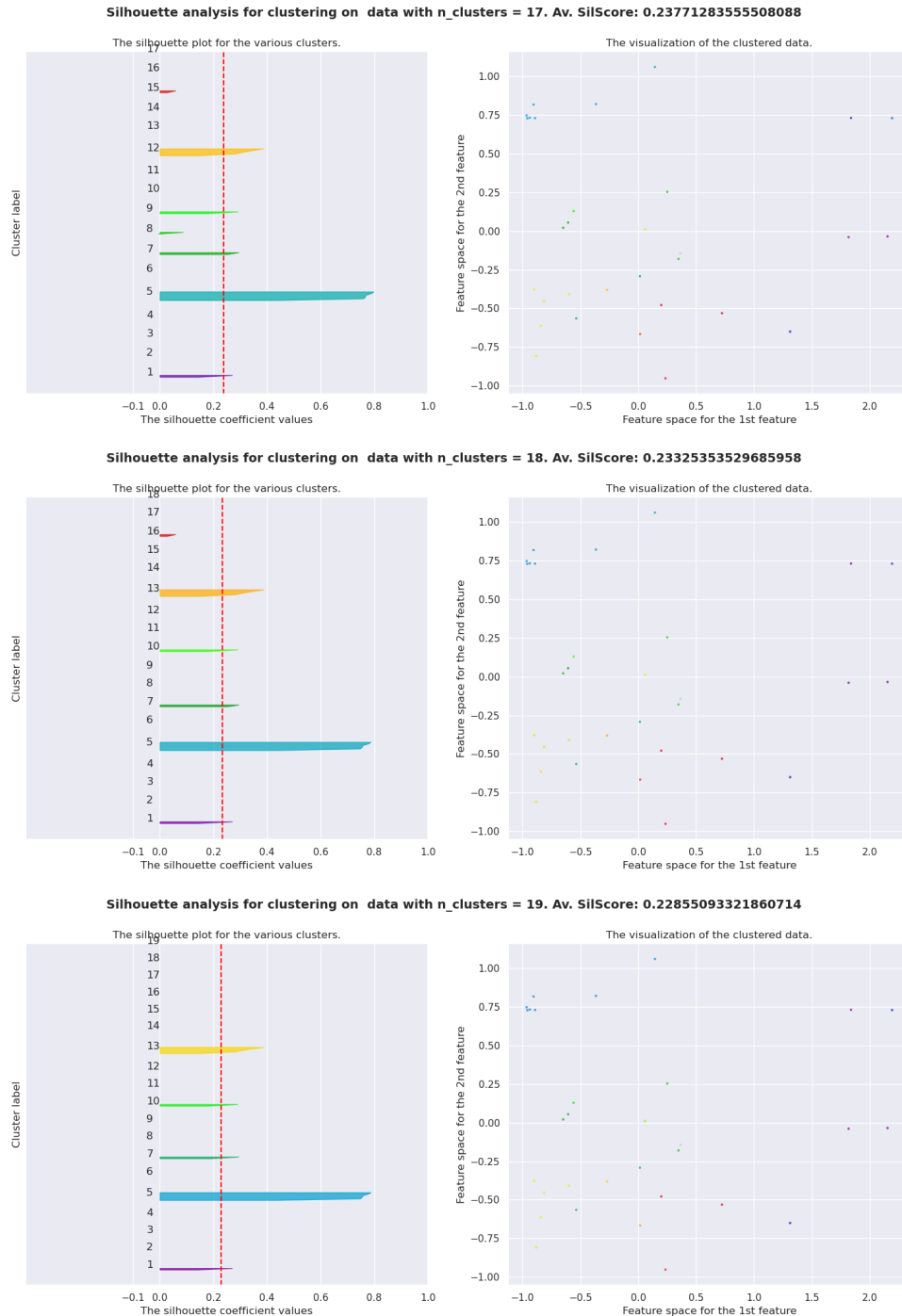
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.4: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

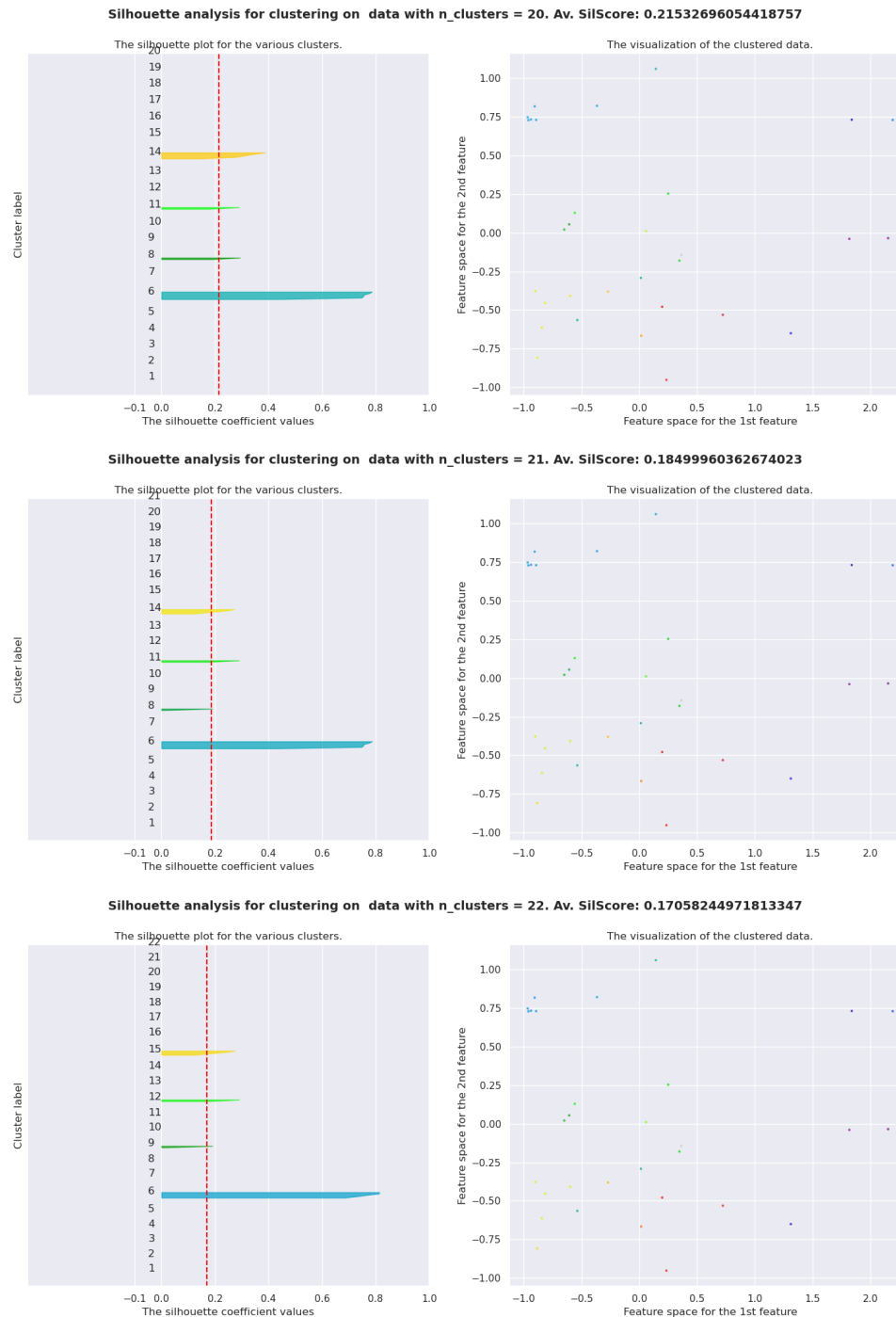
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.5: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

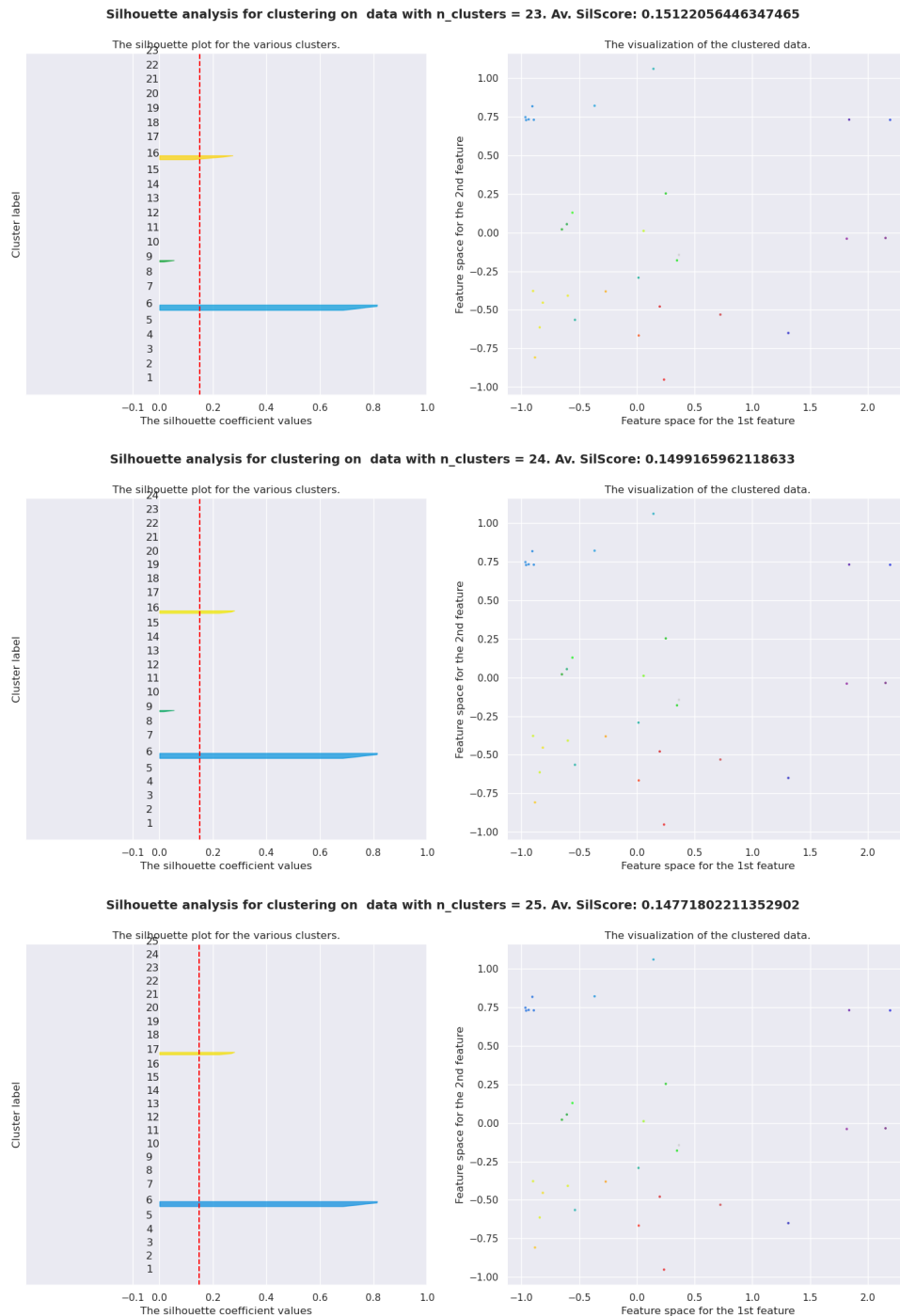
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.6: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

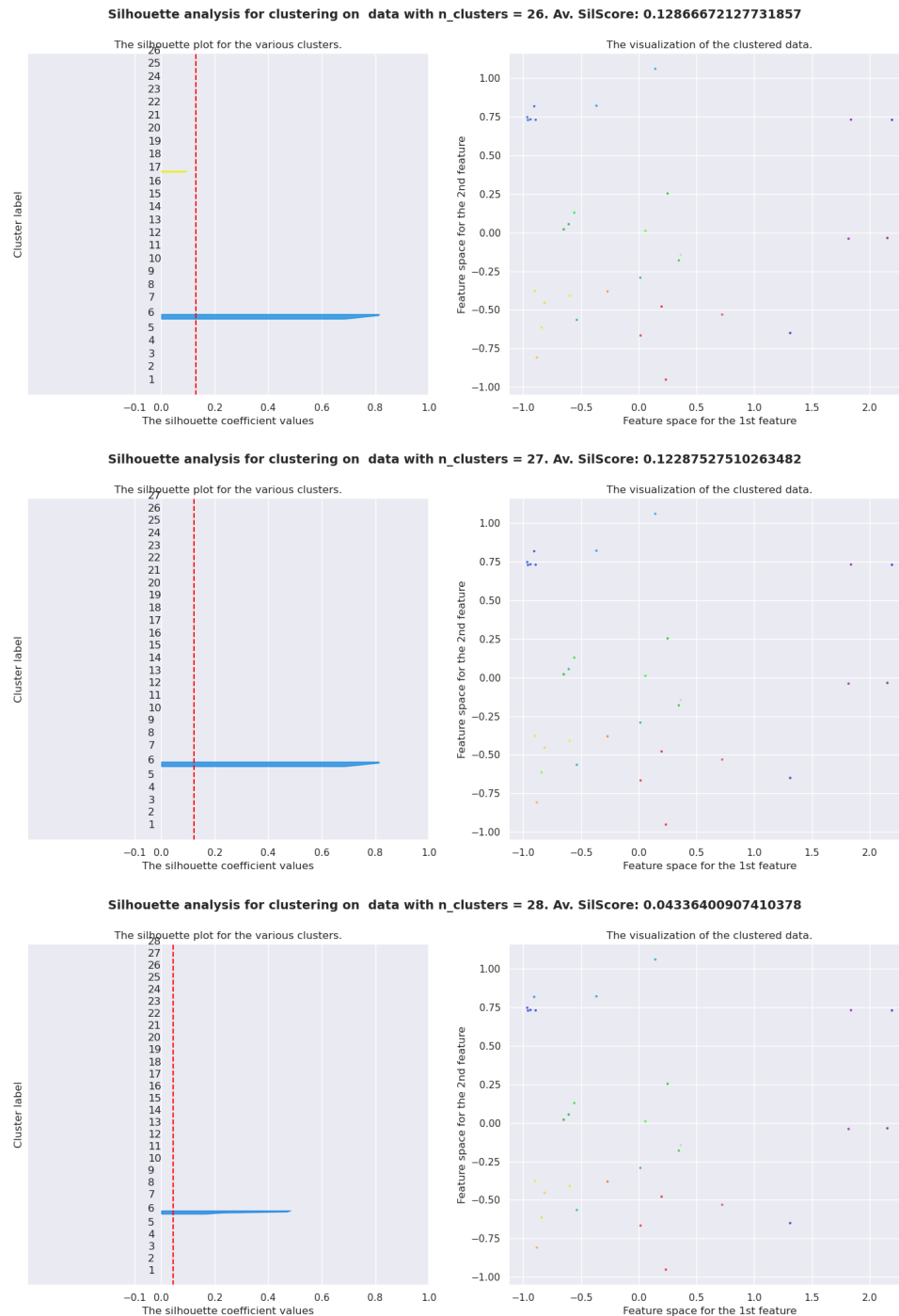
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.7: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

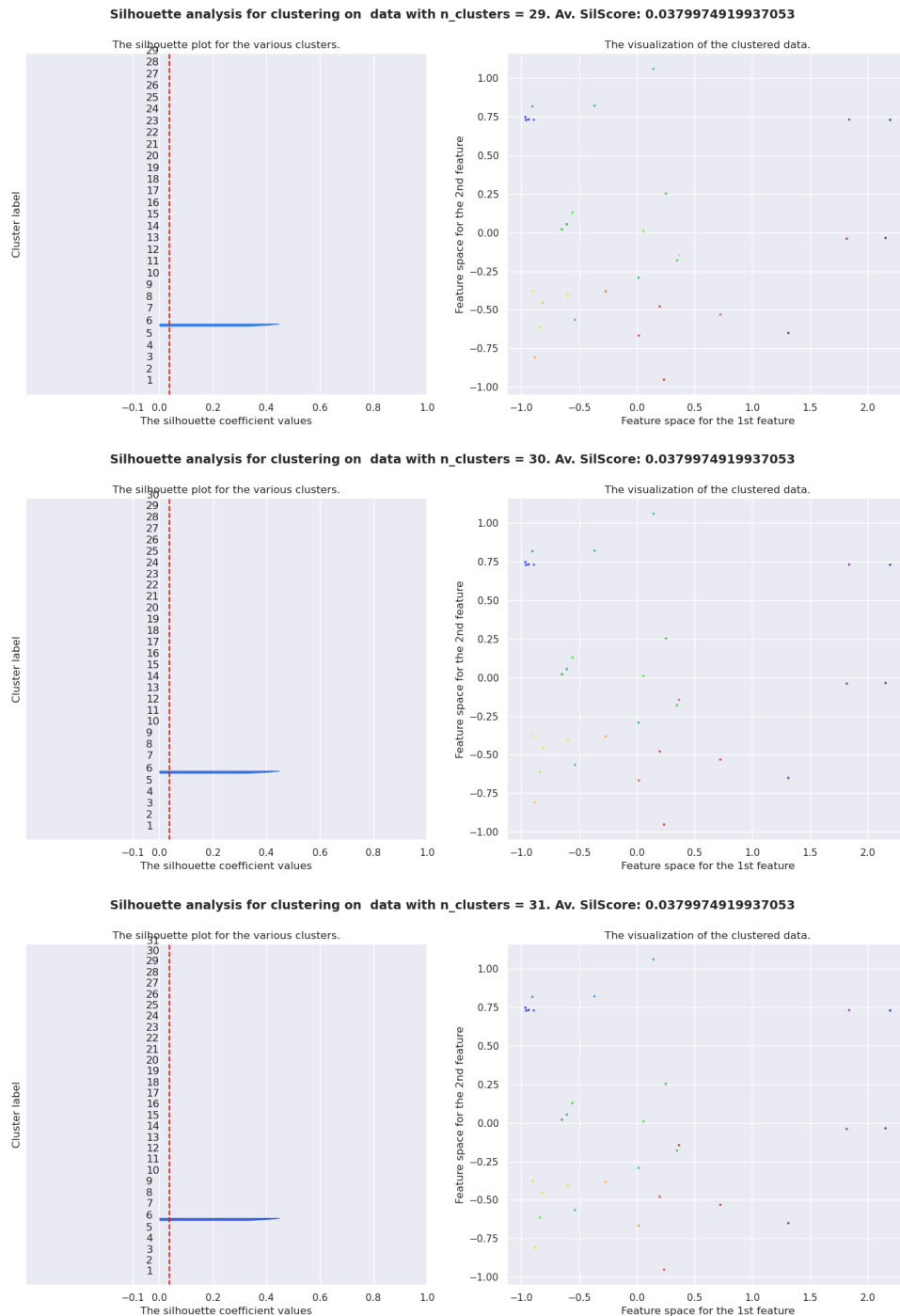
Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.8: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

Figure 1.9: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

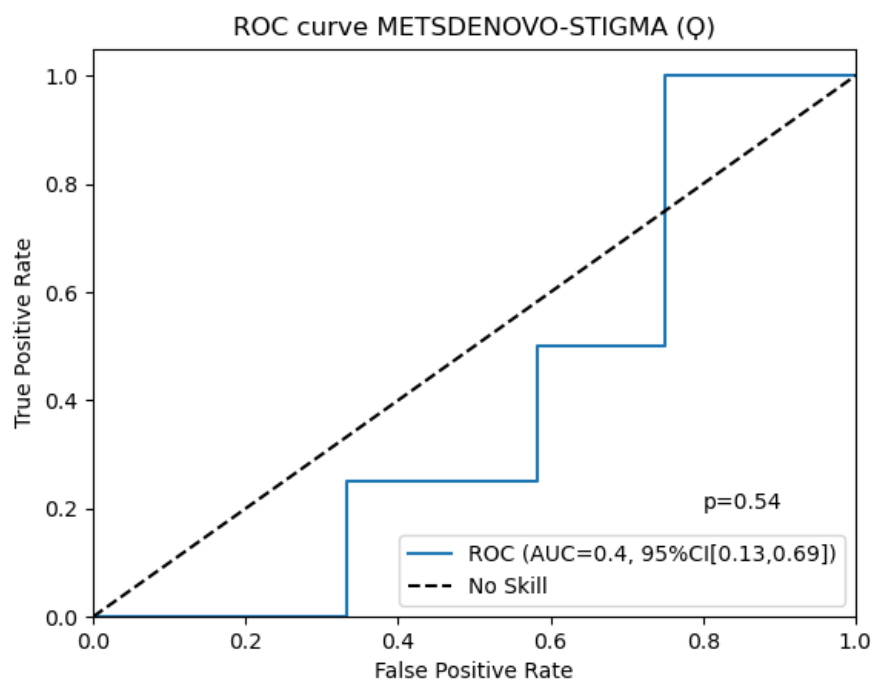
Figure 1.10: Análisis de *silhouette score* para todos los números de clústers de variables posibles.

Elaboración propia. Tamaño total del grupo: 30 pacientes. Número de variables de estudio: 31 variables. Se muestra en la figura las curvas del análisis de silueta con aumento progresivo de número de clústers para la determinación del coeficiente silueta promedio y la determinación del punto óptimo de corte.

ANEXO 2. ESTUDIO DE CURVAS OPERADOR ROC PARA RIESGO DE DEBUT METASTÁSICO EN PACIENTES NO METASTÁSICOS A LA INCLUSIÓN CON EXCLUSIÓN DE JER3 Y JER11

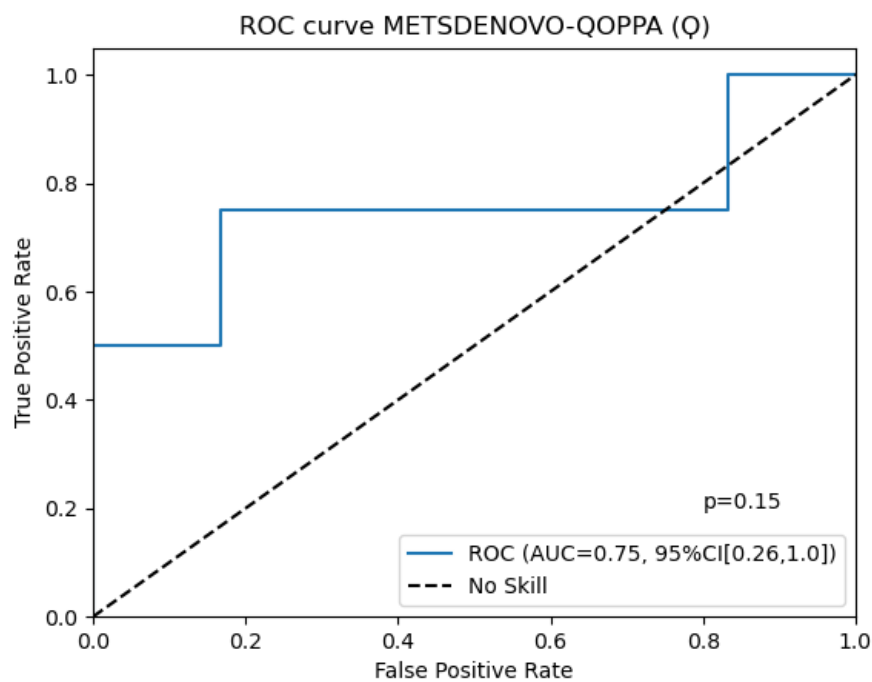
Paralelamente al estudio realizado, se repitió el análisis de manera análoga excluyendo del mismo a los pacientes JER3 y JER11. Estos pacientes tal y como se describe en la sección de Resultados habían tenido metástasis al diagnóstico pero no las presentaban a la extracción y se encontraban más de 6 meses con la enfermedad estable y ausencia de metástasis detectables al reclutamiento. Al excluir dichos pacientes los resultados que se obtienen son solapables a los previamente obtenidos.

Figure 2.1: Curva ROC para stigma (C) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11.



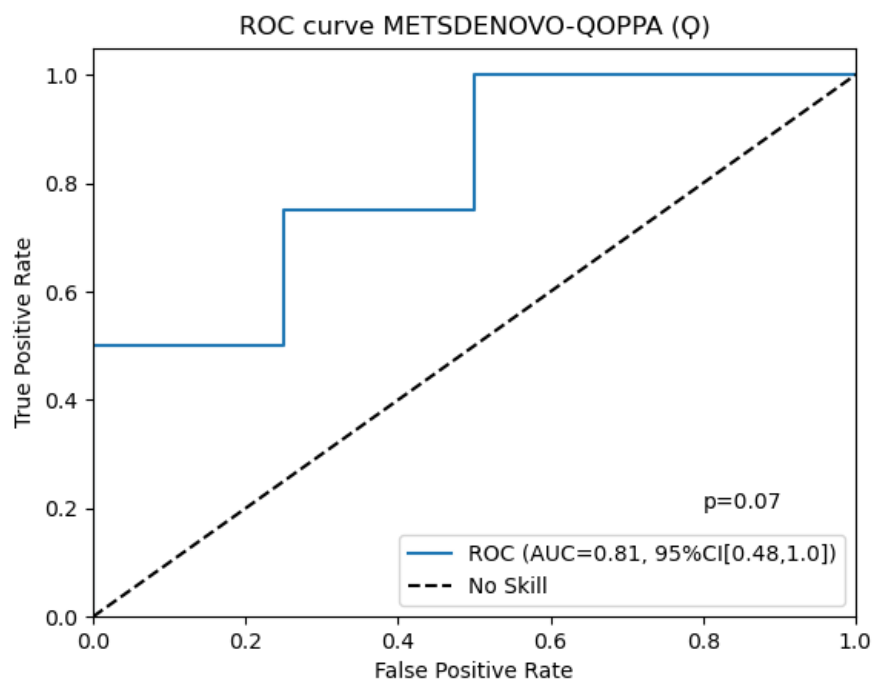
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para stigma (C) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11 (17) con un área bajo la curva (area under the curve, AUC) de 0.44.

Figure 2.2: Curva ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11*.



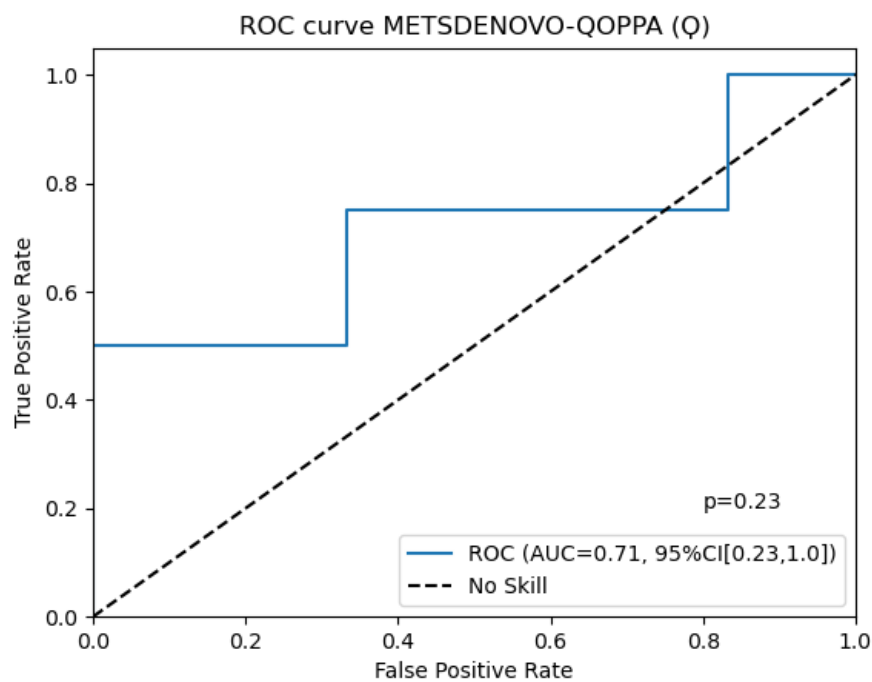
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11* (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.75.

Figure 2.3: Curva ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11*.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11* (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.79.

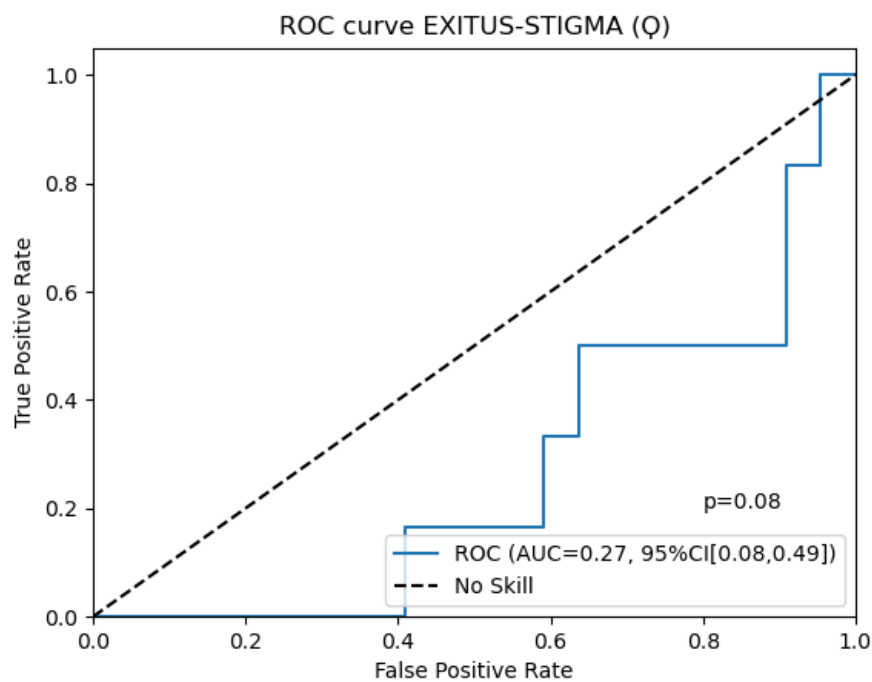
Figure 2.4: Curva ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de debut metastásico en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11 (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.72.

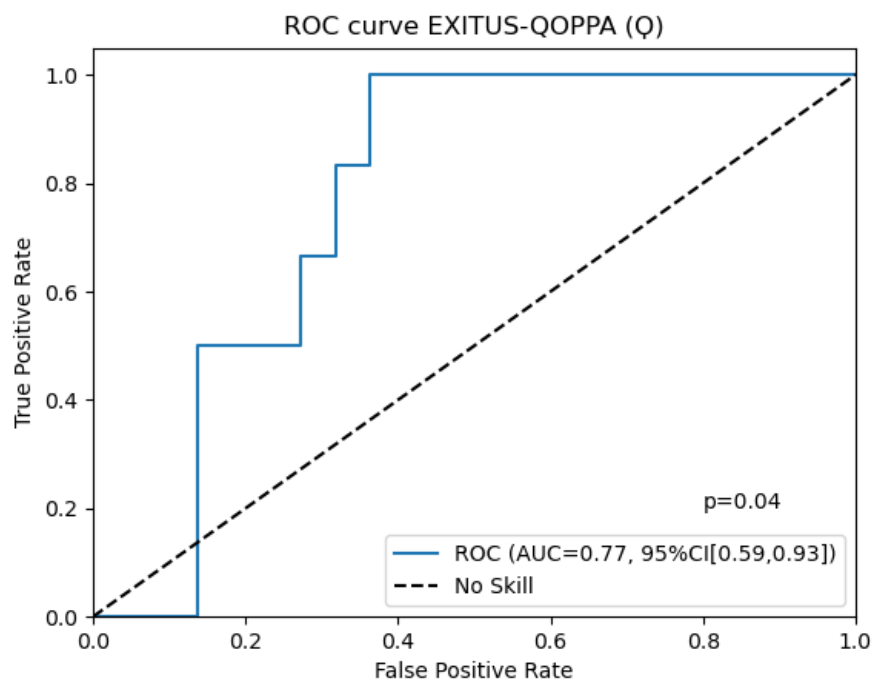
ANEXO 3. ESTUDIO DE CURVAS OPERADOR ROC PARA RIESGO DE ÉXITOS EN TODA LA POBLACIÓN CON EXCLUSIÓN DE JER3 Y JER11

Figure 3.1: Curva ROC para stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población con exclusión de JER3 y JER11.



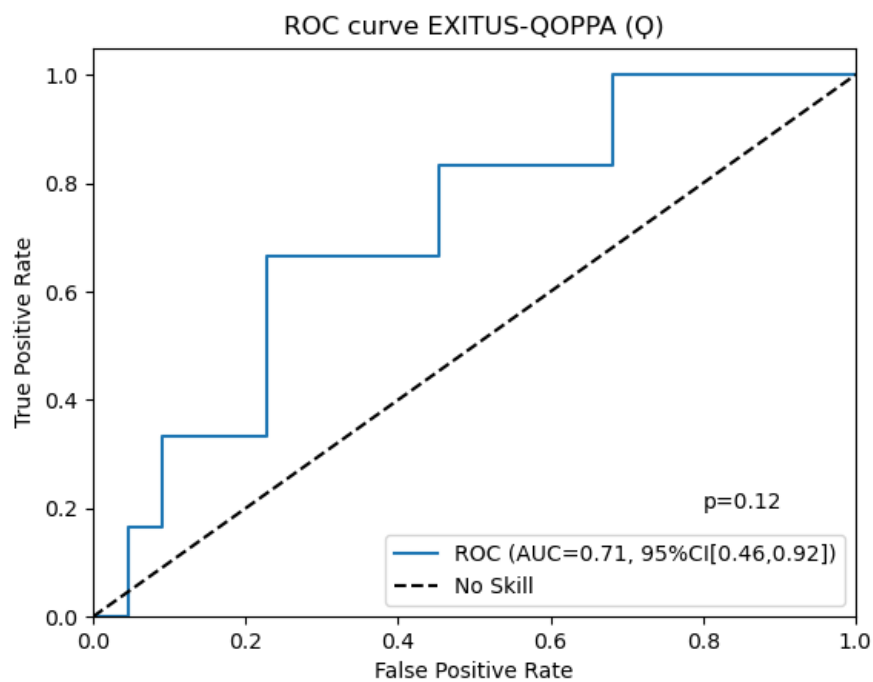
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en toda la población con exclusión de JER3 y JER11 (29) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.28.

Figure 3.2: Curva ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de JER3 y JER11.



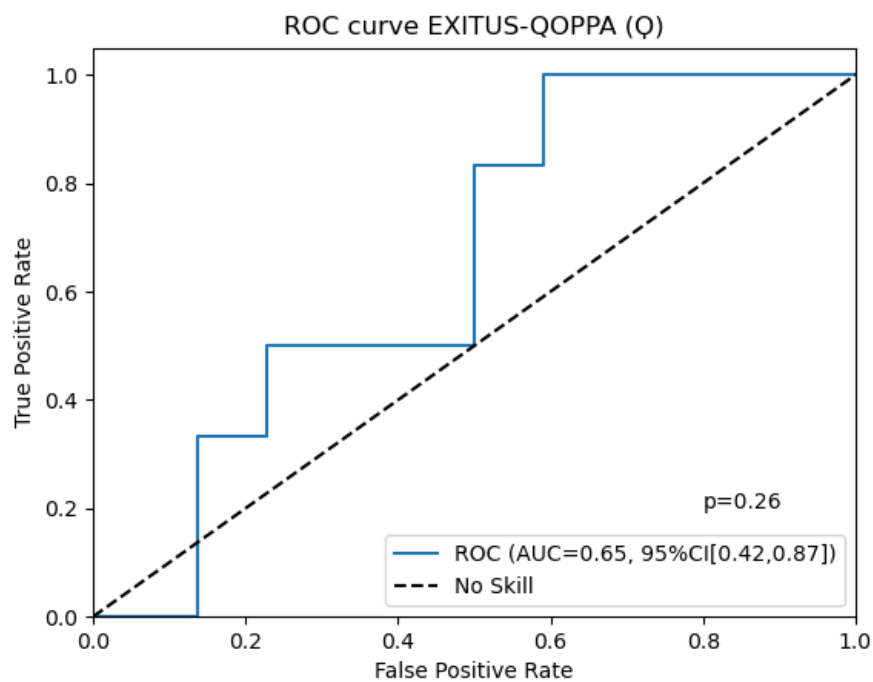
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de JER3 y JER11 (29) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.78.

Figure 3.3: Curva ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de *JER3* y *JER11*.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de *JER3* y *JER11* (29) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.70.

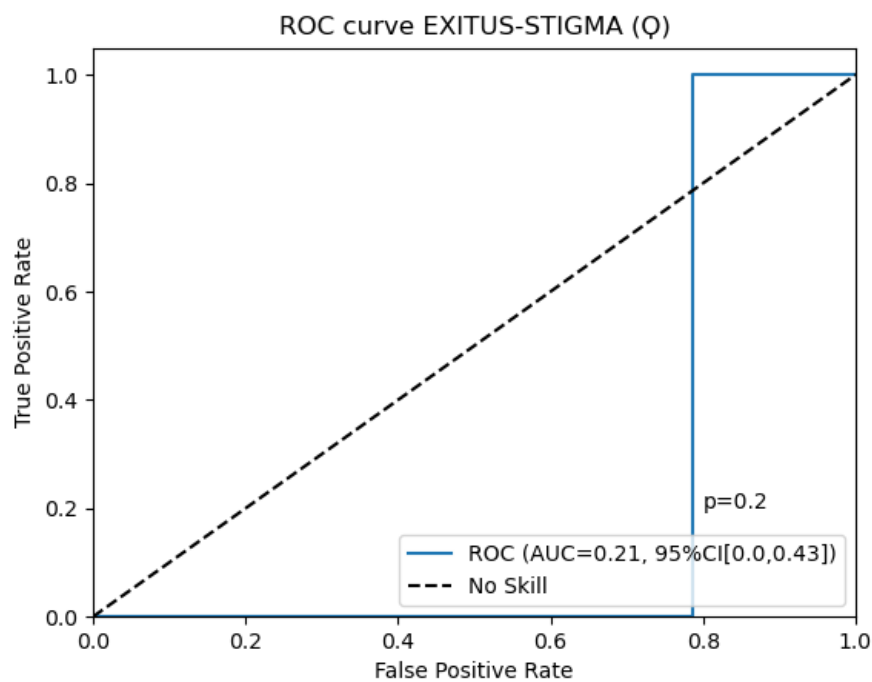
Figure 3.4: Curva ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de JER3 y JER11.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en toda la población con exclusión de JER3 y JER11 (29) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.67.

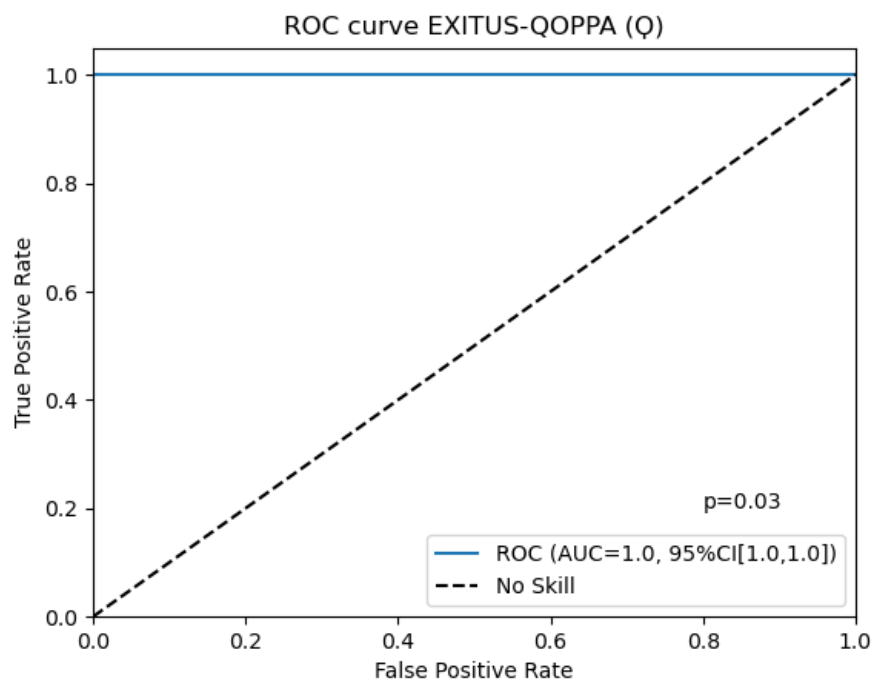
ANEXO 4. ESTUDIO DE CURVAS OPERADOR ROC PARA RIESGO DE ÉXITOS EN PACIENTES NO METASTÁSICOS A LA INCLUSIÓN CON EXCLUSIÓN DE *JER3* Y *JER11*

Figure 4.1: Curva ROC para stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11*.



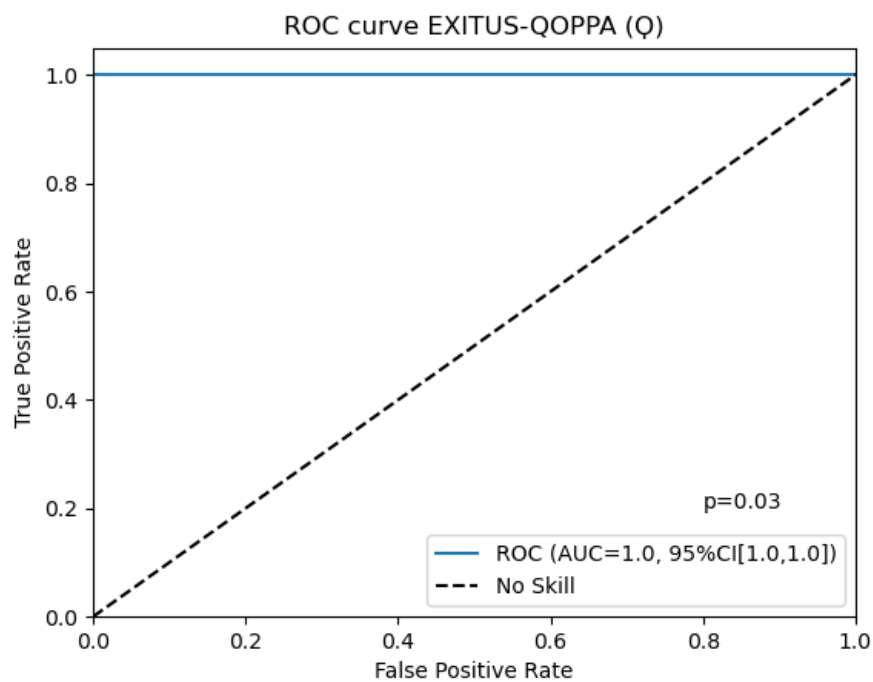
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para stigma (ζ) como clasificador del riesgo de éxitos en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11* (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 0.27.

Figure 4.2: Curva ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11.



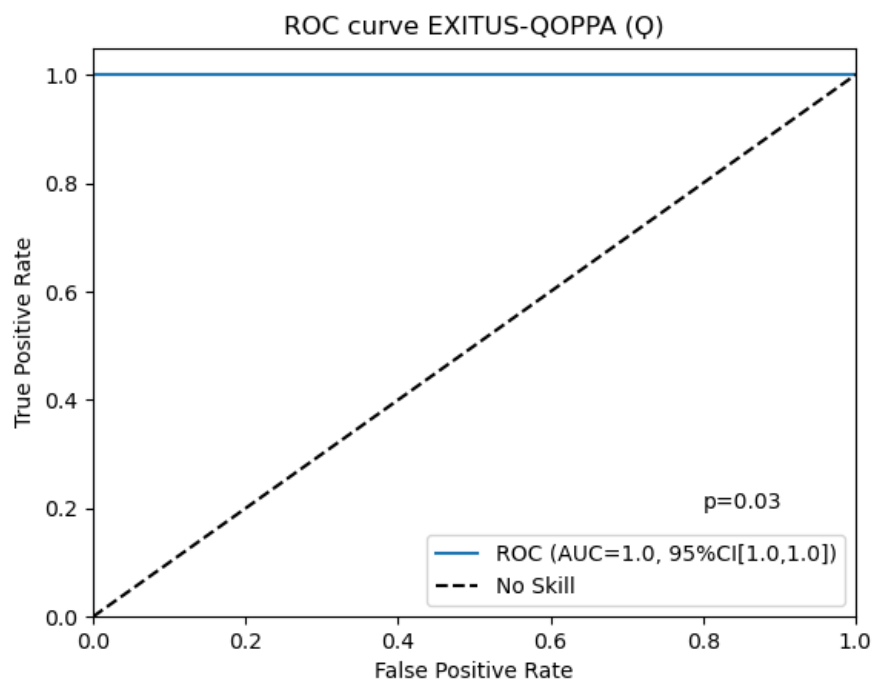
Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa (φ) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de JER3 y JER11 (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 1.00.

Figure 4.3: Curva ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11*.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-biomarcador (Q_B) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11* (17) con un área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de 1.00.

Figure 4.4: Curva ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11*.



Elaboración propia. Se representan la curva operador ROC para qoppa-analítico (Q_G) como clasificador del riesgo de éxitus en pacientes no metastásicos a la inclusión con exclusión de *JER3* y *JER11* (17) con un área bajo la curva (area under the curve, AUC) de 1.00.

ANEXO 5. INFORME POSITIVO DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN Y MEDICAMENTOS
DE HM HOSPITALES

INFORME DEL CEIm de HM Hospitales

La Dra. Almudena Lage, Presidente del Comité Ético de Investigación con medicamentos de HM Hospitales

CERTIFICA

Que el Comité HM Hospitales, ha evaluado en su reunión del 17 de abril de 2024, Acta nº 297, la propuesta de la Fundación Investigación HM Hospitales, para que se realice el proyecto de investigación titulado:

Análisis de biomarcadores órgano-específicos de respuesta a factores solubles tumorales en pacientes oncológicos del sur de España

Código CEIm HM Hospitales: 24.03.2323-GHM

Código del Promotor: RESOLT

- Memoria científica y económica de proyectos/estudios de investigación para CEIDI y CEIm
- Hoja de Información al Paciente, versión 4.0 del 21 de Abril de 2024

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista ético y metodológico, y la respuesta a las aclaraciones solicitadas, emite un **DICTAMEN FAVORABLE**, para que se realice el proyecto en el servicio de Oncología del Hospital Internacional HM Santa Elena siendo el Investigador principal el Dr. Javier Díaz

Que el CEIm de HM Hospitales, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento

Miembros que pertenecen al Comité:

Presidente:	Dra. Almudena Lage Moreda, Licenciada en Medicina y Cirugía
Vicepresidente:	Dña. María Teresa Espina Castrillo, Licenciada en Derecho, Dpto. Jurídico de HM Hospitales y vicepresidenta del CEAS de HM Hospitales
Secretario Técnico:	Dª Raquel Alcántara Partido, Licenciada en Farmacia
Vocales:	Dr. José Felipe Varona, especialista en Medicina Interna D. Juan Carpio, Diplomado en Enfermería Dr. César G. Muñoz Sánchez-Miguel, especialista en Oncología Dña. María Ortiz, especialista en Farmacia Hospitalaria Dra. Laura Álvarez Santín, especialista en Neumología Dra. Isabel Salas Villar, especialista en Anatomía Patológica Dra. Violeta Bittermann, especialista en Pediatría y Reumatología Dra. Esperanza González Rojano, Especialista en Farmacología Clínica Dña. Susana Lara García-Escribano, Especialista en Farmacia Atención Primaria Dña. Gema Jiménez Jiménez, Licenciada en Derecho. HM Hospitales

Dña. Ofelia de Lorenzo, Licenciada en Derecho

D. Pablo Montalvo Rebuelta, Licenciado en Derecho

D. Fernando Aguado, Licenciado en Derecho, Delegado de Protección de Datos

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que en caso de evaluar algún proyecto en el que un miembro es investigador/colaborador, éste se ausenta de la reunión durante la discusión del mismo.

Lo que firmo en Madrid, a 22 de abril de 2024



Fdo. Dra. Almudena Lage
Presidente CEIm HM Hospitales

Nota: Se recuerda la obligación de enviar el Informe de Seguimiento Anual y el Informe final que incluya los resultados del estudio.

ANEXO 6. INFORME POSITIVO DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA SAN
ANTONIO DE MURCIA

DATOS DEL PROYECTO

Título:	“Análisis de biomarcadores órgano - específicos de respuesta a factores solubles tumorales en pacientes oncológicos del sur de España”	
Investigador Principal	Nombre	Correo-e
Dra.	Silvia Montoro García	smontoro@ucam.edu

INFORME DEL COMITÉ

Fecha	31/05/2024
--------------	-------------------

Código	CE052403
---------------	-----------------

Tipo de Experimentación

Investigación experimental clínica con seres humanos	X
Investigación experimental no clínica con seres humanos	
Utilización de tejidos humanos procedentes de pacientes, personas sanas, tejidos embrionarios o fetales	X
Utilización de tejidos humanos, tejidos embrionarios o fetales procedentes de bancos de muestras o tejidos	
Investigación observacional, psicológica o comportamental en humanos	
Uso de datos personales, información genética, etc.	X
Experimentación animal	
Utilización de agentes biológicos de riesgo para la salud humana, animal o las plantas	
Uso de organismos modificados genéticamente (OMGs)	

Comentarios Respecto al Tipo de Experimentación

Nada Obsta

Comentarios Respecto a la Metodología de Experimentación

Nada Obsta



COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

Sugerencias al Investigador

A la vista de la solicitud de informe adjunto por el Investigador y de las recomendaciones anteriormente expuestas el dictamen del Comité es:

Emitir Informe Favorable	X
Emitir Informe Desfavorable	
Emitir Informe Favorable condicionado a Subsanación	

MOTIVACIÓN

Incrementará conocimientos en su área

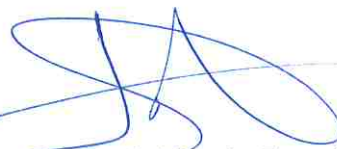
Vº Bº El Presidente,



Fdo.: José Alberto Cánovas Sánchez



El Secretario,



Fdo.: José Alarcón Teruel

ANEXO 7. PUBLICACIÓN EN REVISTA INDEXADA JCR «*JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE*»



Article

Qoppa as a New Pan-Tumor Synthetic Parameter Derived from Tumor-Associated Biomarkers for Identifying Oncology Patients at High Risk of Metastasis: A Prospective Pilot Study

Javier Diaz-Santos ^{1,2,*} , Alba Rodriguez-Valle ^{1,2}, Beatriz Berrocal-Gavilan ^{1,2}, Olivia Urquizar-Rodriguez ^{1,2} and Silvia Montoro-Garcia ³

¹ HM CIOCC MALAGA (Centro Integral Oncológico Clara Campal), Hospital Internacional HM Santa Elena, 29620 Málaga, Spain; amrodriguezvalle@hmhospitales.com (A.R.-V.); bberrocalg@hmhospitales.com (B.B.-G.); ourquizar@hmhospitales.com (O.U.-R.)

² Instituto de Investigación Sanitaria HM Hospitales, 28050 Madrid, Spain

³ Preclinical Research of Bioactive Compounds and Drugs (PREBIOF), Izpisúa Lab HiTech, Faculty of Health Sciences, Universidad Católica de Murcia (UCAM), Campus los Jerónimos, 30107 Murcia, Spain; smontoro@ucam.edu

* Correspondence: javierdiaz@hmhospitales.com; Tel.: +34-95-237-35-91 (ext. 421 or 614)

Abstract

Background/Objective: Early detection of metastatic progression remains a major challenge in precision oncology. Conventional radiological imaging cannot reliably identify micrometastatic disease. Although circulating tumor DNA is promising for minimal residual disease detection, organ-derived response biomarkers reflecting tissue adaptation to secreted factors remain unexplored. We hypothesized that integrating such biomarkers with global laboratory parameters would generate a synthetic variable with improved discrimination for de novo metastasis and mortality. **Methods:** This prospective observational pilot study enrolled 30 patients (median age 64.4 years; 56.7% female) with heterogeneous solid malignancies. Peripheral blood biomarkers responsive to tumor-secreted soluble factors ($n = 11$) were quantified using a multiplexed beads Luminex immunoassay. Global analytical parameters ($n = 20$) were derived from routine laboratory assessments. Hierarchical agglomerative clustering analysis generated two synthetic variables: Stigma (ζ) and Qoppa (ϱ). Receiver operating characteristic curve analysis, Kaplan–Meier survival analysis, and Cox regression were used to evaluate the performance. **Results:** Qoppa demonstrated acceptable discriminatory performance for de novo metastasis (AUC = 0.78). For mortality prediction, performance varied by disease status (overall AUC = 0.78): superior in non-metastatic patients (AUC = 0.98) but negligible in those with baseline metastases. Kaplan–Meier analysis confirmed significant survival differences ($p = 0.042$ overall survival; $p = 0.024$ for metastasis-free survival in the non-metastatic subgroup). Differences in biomarker expression and clinical variables (stage, tumor burden, and metastatic burden) were observed between the high and low Qoppa strata. **Conclusions:** In this small heterogeneous pilot cohort, Qoppa provides a proof of concept that integrating organ-derived response biomarkers with routine laboratory parameters may capture clinically relevant signals for metastatic risk stratification in oncology patients. This composite parameter supports the generation of hypotheses for future biomarker-driven research and clinical test development. External validation in larger multicenter cohorts is required before clinical implementation.

Keywords: liquid biopsy; biomarkers; metastasis; precision medicine; disease progression



Academic Editors: Kent Doi and Francisco Guillen-Grima

Received: 19 December 2025

Revised: 14 January 2026

Accepted: 17 January 2026

Published: 20 January 2026

Copyright: © 2026 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article distributed under the terms and

conditions of the [Creative Commons Attribution \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) license.

1. Introduction

The early detection of metastatic progression is one of the most important clinical challenges in oncology. Metastases are responsible for more than 90% of mortality in solid tumors, with hepatic, bone, pulmonary, and cerebral localizations being the most frequent, at an approximate incidence of 8–22 cases per year per 100,000 inhabitants [1–5]. Despite therapeutic advances, diagnosis at the metastatic stage implies a worse prognosis as an independent factor, particularly grave in the case of synchronous metastases at primary tumor diagnosis [2,4].

Conventional metastasis detection is performed using radiological imaging techniques, which present important limitations in identifying micrometastatic disease. These techniques require a minimum tumor volume for visualization and do not allow continuous non-invasive monitoring during clinical follow-up [6,7]. Therefore, the search for non-invasive biomarkers that enable the early detection of metastatic risk has become a priority area of research in precision oncology [8–11]. Biomarkers can enable the identification of high-risk patient subgroups, appropriate therapeutic stratification, and monitoring of therapeutic response with higher sensitivity than conventional methods [6–9].

Primary tumors orchestrate metastatic dissemination through organ-specific premetastatic niche formation [1,12–18]. This process is driven by tumor-secreted soluble factors and exosomes that trigger immunoinflammatory remodeling in distant organs [13–15], particularly those with high capillary density, such as liver, lung, and brain [17,18]. These organ-derived pathophysiological responses to tumor-secreted soluble factors are reflected through circulating biomarkers [19,20], whereas systemic biological responses to tumor activity are captured by global laboratory parameters. These parameters encompass, among others, the neutrophil-to-lymphocyte ratio, systemic inflammation indices, and acute phase reactants, which may serve as complementary prognostic markers alongside response biomarkers [21–25].

While circulating tumor DNA (ctDNA) liquid biopsy demonstrates clinical utility for minimal residual disease detection—with lead times of 10.5 months for recurrence detection [26–28]—this approach remains tumor-centric and fails to capture the organ microenvironmental adaptation essential for metastatic establishment. Organ-derived response biomarkers reflecting tissue-specific adaptation to tumor-secreted soluble factors remain poorly explored, despite offering complementary information about the microenvironmental conditions that predispose target organs to metastatic disease. The integration of both tumor molecular characteristics and organ-specific biomarkers captures the complex biology of tumor–host interactions essential for disease prevention [29]. To our knowledge, no clinical analysis has systematically evaluated these organ-derived biomarkers, representing a significant knowledge gap.

We hypothesized that response biomarkers to tumor-secreted soluble factors detectable in peripheral blood, when integrated with established global laboratory parameters, would generate a predictive synthetic variable with enhanced discriminatory capacity for *de novo* metastasis risk and mortality compared to individual parameters in isolation.

The preliminary results of this pilot study were presented as a poster at the 3rd International Online Conference on Clinical Medicine (IOCCM 2025) [30]. This manuscript provides the complete dataset, detailed methodology, and extended survival analysis not previously published.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

A prospective observational pilot study was conducted, and written informed consent was obtained from each patient. The study population was actively recruited at

the Clara Campal Comprehensive Oncology Center of HM Hospitales in Málaga (HM CIOCC, Málaga, Spain) between 1 May 2024 and 15 July 2025. A prospective design was selected to enable systematic biomarker sample collection without dependence on a pre-existing biobank.

2.2. Study Design

Eligible participants included patients with a histologically confirmed diagnosis of one or more malignancies, with the requirement that at least one primary neoplasm was a solid tumor rather than a hematologic malignancy (lymphoma, leukemia, or myeloma). Participants (>18 years old) provided informed consent prior to their enrolment in the study. Patients were diagnosed, treated, or monitored at the Clara Campal Comprehensive Oncology Center of HM Hospitales in Málaga (HM CIOCC Málaga). Conversely, patients with temporary or permanent inability to provide informed consent owing to cognitive impairment, linguistic barriers, or other factors were excluded from the study. Additionally, individuals who requested verbal consent alone without formal written documentation were excluded in accordance with institutional ethical requirements and good clinical practice guidelines.

Given the exploratory nature of this pilot study, a sample size of approximately 5% of our available oncology patient pool (approximately 500 patients) was targeted, resulting in an estimated sample size of 25 patients.

2.3. Biomarker Selection

Biomarker selection was performed through a review of the published literature, seeking preclinical and clinical evidence of molecules secreted by specific organs (liver, lung, blood–brain barrier) in response to tumor-secreted soluble factors, possessing sufficient tissue specificity to enable organ-specific inferences, demonstrating clinical variability in high tumor burden contexts, and measurable by available technical methods. The eleven selected plasmatic biomarkers are listed in Table 1.

Table 1. Biomarkers of response to tumor-secreted soluble factors. The aliases for response biomarkers are written in uppercase in this study.

Biomarker	Alias	Description
Angiopoietin-like 4	ANGPTL4	Expressed in hepatic and adipose tissues. It exhibits heterogeneous pro-angiogenic roles in metastatic disease progression [31,32].
Cathepsin D	CATD	A lysosomal protease secreted by tumor cells. It functions as a promoter of cancer cell replication, invasive phenotype, and metastatic dissemination [33,34].
Fibroblast Growth Factor 21	FGF21	A hepatokine regulated by nutritional status and hypoxia also secreted by tumor microenvironment fibroblasts. It acts as a pivotal immune suppressor leading to CD8 ⁺ T cells exhaustion [35,36].
Growth/Differentiation Factor 15	GDF15	A member of the transforming growth factor- β superfamily. It is upregulated in systemic inflammation and metabolic response to tumor burden [37,38].
Hepatocyte Growth Factor	HGF	A multifunctional growth factor. It exhibits pro-angiogenic, pro-invasive, and pro-metastatic functions through c-MET signaling pathway activation [39,40].
Intercellular Adhesion Molecule 1	ICAM1	An adhesion molecule constitutively expressed on endothelial cells and leukocytes. It is dysregulated in tumor-associated inflammation and participates in premetastatic niche formation [41,42].

Table 1. *Cont.*

Biomarker	Alias	Description
Interleukin 6	IL6	Pro-inflammatory interleukin that activates STAT3 via JAK signaling in both tumor cells and stromal cells. It facilitates epithelial-mesenchymal transition and suppresses cytotoxic T lymphocyte-mediated anti-tumor immunity [43].
Interleukin 10	IL10	Anti-inflammatory interleukin with paradoxical pro-metastatic activity in malignancy. It promotes immune escape through T regulatory cell amplification, PD-L1 upregulation on monocytes, and suppression of CD8+ T cell infiltration and cytotoxic anti-tumor immunity [44,45].
Interleukin 18	IL18	Pro-inflammatory interleukin with paradoxical stage- and tissue-dependent functionality. It may suppress the primary tumor, however, may also enhance the invasion ability in metastatic stage [45–49].
Leptin	LEP	An adipokine with pleiotropic roles in metabolic and immune regulation. It is dysregulated by metabolic augmentation secondary to tumor-derived systemic effects [50,51].
Myeloperoxidase	MPO	An enzyme constitutively expressed in neutrophil granulocytes. It serves as a circulating marker of neutrophilic infiltration and inflammatory cell invasion associated with tumor progression [52,53].

Global analytical parameters were selected based on their association with oncological prognosis and metastatic risk. These parameters are derived from routine laboratory assessments available in standard clinical practice, thereby enhancing the applicability of the strategy. Twenty qualitative and quantitative analytical parameters were selected, including complete blood count values, prognostic indices, metabolic parameters, hepatorenal function markers, inflammatory markers, and hemostatic indices. In what follows, to differentiate them from response biomarkers, the aliases for the global laboratory parameters are written in lowercase. The parameters are listed in Table 2.

Table 2. Global analytical parameters derived from routine laboratory assessments. The aliases for global laboratory parameters are written in lowercase in this study.

Parameter	Alias	Description
Albumin	alb	Serum albumin concentration in peripheral venous blood (g/dL) [23,54].
Aspartate aminotransferase–platelet count ratio	apri	Aspartate aminotransferase–platelet ratio (apri = AST/ULN of AST/absolute platelet count $[10^9/L] \times 100$) [21,22].
Aspartate aminotransferase–neutrophil ratio	anri	Aspartate aminotransferase–neutrophil ratio (anri = AST/ULN/absolute neutrophil count $[10^9/L]$) [21,22,55,56].
Hemoglobin–albumin–lymphocyte–platelet	halp	Hemoglobin–albumin–lymphocyte–platelet index (halp = $100 \times \text{Hemoglobin [g/dL]} \times \text{Albumin [g/dL]} / \text{Absolute peripheral blood lymphocytes} \times \text{Absolute peripheral blood platelets}$) [57–59].
Hemoglobin	hb	Serum hemoglobin concentration in peripheral venous blood (g/dL) [60,61].
Lactate dehydrogenase–albumin ratio	lar	Lactate dehydrogenase–albumin ratio (lar = Lactate dehydrogenase/Albumin) [62].

Table 2. Cont.

Parameter	Alias	Description
Lymphocyte–monocyte ratio	lmr	Lymphocyte–monocyte ratio (lmr = Absolute peripheral blood lymphocytes / Absolute peripheral blood monocytes) [21,22,63].
Leukocyte–lymphocyte ratio	llr	Leukocyte–lymphocyte ratio (llr = Absolute peripheral blood leukocytes / Absolute peripheral blood lymphocytes) [21,22].
Neutrophil–lymphocyte ratio	nlr	Neutrophil–lymphocyte ratio (nlr = Absolute peripheral blood neutrophils / Absolute peripheral blood lymphocytes) [23,58,60,64–67].
Naples prognostic score	nps	Naples prognostic score (nps = $\sum nps_i$ for i between 1 and 4, where $nps_1 = 1$ if alb ≥ 4 mg/dL, $nps_2 = 1$ if total cholesterol ≤ 180 mg/dL, $nps_3 = 1$ if nlr > 2.96 , and $nps_4 = 1$ if lmr ≥ 4.44) [63].
C-reactive protein	pcr	C-reactive protein concentration in peripheral venous blood [68].
Neutrophil–platelet–lymphocyte–hemoglobin ratio	nplhb	Neutrophil–platelet–lymphocyte–hemoglobin ratio (nplhb = Absolute peripheral blood neutrophils $\times$ Absolute peripheral blood platelets / Absolute peripheral blood lymphocytes $\times$ Hemoglobin) [69].
Novel prognostic model	npm	Novel prognostic model (npm = $\sum npm_i$ for i between 1 and 2, where $npm_1 = 1$ if nplhb ≥ 5.667 and $npm_2 = 1$ if absolute peripheral blood monocytes ≥ 0.5051 /mL) [69].
Platelet–lymphocyte ratio	plr	Platelet–lymphocyte ratio (plr = Absolute peripheral blood platelets / Absolute peripheral blood lymphocytes) [23,58,64,65,67].
Prognostic nutritional index	pni	Prognostic nutritional index (pni = $5 \times$ Absolute lymphocytes [10^9 /L] $- 10 \times$ Albumin [g/dL]) [59,65,67,70].
Serum iron	si	Serum iron concentration [71].
Systemic immune inflammation index	sii	Systemic immune inflammation index (sii = Absolute peripheral blood neutrophils [L] $\times$ Absolute peripheral blood platelets [L] / Absolute peripheral blood lymphocytes [L]) [21,22].
Systemic inflammation response index	siri	Systemic inflammation response index (siri = Absolute peripheral blood neutrophils [L] $\times$ Absolute peripheral blood monocytes [L] / Absolute peripheral blood lymphocytes [L]) [72].
Combined platelet–NLR score	copnlr	Combined platelet–nlr score (copnlr = $\sum copnr_i$ for i between 1 and 2, where $copnr_1 = 1$ if nlr > 3 and $copnr_2 = 1$ if absolute platelets $> 300 \times 10^9$ /L) [21,22].
Vitamin B12	vitb12	Serum vitamin B12 concentration in peripheral blood (pg/mL) [73].

2.4. Blood Sampling and Biochemical Determinations

The determination of response biomarkers to tumor-secreted soluble factors was performed in EDTA peripheral blood obtained after fasting through a customized multiplex immunoassay (Merck Millipore, Burlington, MA, USA), following the manufacturer's instructions. Multiplex utilizes polystyrene bead-based technology to measure the eleven markers. Based on the measurements of standard concentrations provided by the manufacturer, standard curves were utilized to convert optical density values into concentra-

tions (pg/mL). Supernatant samples were thawed once and clarified by centrifugation at $10,000 \times g$ for 10 min. Next, the plate was loaded into the Luminex 200 system (Luminex Corporation, Austin, TX, USA) for reading. Analytes were measured in duplicate across three plates/panels: HAGE1MAG-20K-6p (FGF21, GDF15, IL6, IL10, IL18, leptin), HLPPMAG-57K-2p (ANGPTL4, HGF), and HNDG3MAG-36K-3p (cathepsin-D, ICAM1, MPO). Based on the measurements of the standard concentrations provided by the manufacturer, standard curves were utilized to convert the median fluorescence intensity (MFI) values into concentrations (pg/mL or ng/mL). Across quantifiable measurements, the median intra-assay CV was 7.84%, and 80% of measurements showed $CV \leq 10\%$. The operational limit of detection (LOD) for each analyte was defined as the expected concentration for the lower standard concentration. To avoid over-detection bias that would artificially inflate the results, missing values were imputed using the minimum detected value within the assay range for each parameter. In parallel, global laboratory parameters were collected, calculated from routine laboratory studies performed prior to plasma extraction. All routine laboratory studies were conducted exclusively within the study period. The sample collection and laboratory data extraction served as baseline covariables, enabling prospective determination of the response biomarkers and global laboratory parameters. The clinical follow-up was extended to 15 July 2025, permitting evaluation of clinical events, including metastatic progression, de novo metastasis, and mortality.

2.5. Statistical Analyses

The clinical data were systematically collected at four defined assessment timepoints: diagnosis, biomarker sampling, post-sampling, and end of follow-up. The post-sampling period was defined as the interval from biomarker sampling to the next occurrence of disease progression, patient death, or the end of follow-up. The documented clinical variables included histological diagnosis, prior or concurrent malignancies, disease stage, locoregional lymph node involvement, primary tumor volume, and temporal intervals between major clinical events. A description of the disease burden determination is available in the Supplementary Materials.

The data analysis was structured according to the following hierarchical framework: descriptive statistical analysis of demographic and clinical characteristics; hierarchical agglomerative clustering analysis to identify patient clusters based on biomarker and analytical parameter profiles; generation of synthetic cluster-derived variables capturing integrative biomarker and analytical information for each identified cluster; comparative analysis of analytical and clinical differences between high and low synthetic cluster variable strata; and survival analyses encompassing both overall survival and metastasis-free survival outcomes.

The descriptive statistical analysis of the entire study population was performed with quantitative variables expressed as the mean or median and range according to the distribution characteristics. The Shapiro–Wilk test was used to evaluate the normality of the biomarkers and global laboratory parameters. Variables failing normality testing informed the selection of subsequent non-parametric statistical approaches. Hence, all biomarkers and global analytical parameters were normalized using min–max scaling.

Hierarchical agglomerative clustering analysis was performed using the Euclidean distance as the similarity metric and Ward’s minimum variance method for linkage. The determination of optimal cluster number was determined using two complementary approaches: the elbow method and silhouette score analysis. Dendrograms and heat maps were generated to visualize the cluster architecture and relationships between biomarkers and analytical parameters.

A novel synthetic variable was derived for each identified cluster by weighted summation of the min–max scaled variables according to the following equation:

$$y_i = \sum_{j=1}^n W_j x_{ji} + \sum_{k=1}^m S_k z_{ki}, \quad (1)$$

where y_i represents the synthetic cluster variable, x_{ji} and z_{ki} are the min–max scaled global laboratory parameters and response biomarkers, respectively, and W_j and S_k are the assigned weights. Given the pilot nature of this study and insufficient prior knowledge to justify differential weighting, uniform unit weights were employed ($W_j = 1$, and $S_k = 1$ for all j and k). This approach avoids subjective bias and prevents overfitting in small datasets, where data-driven weight optimization risks fitting noise rather than signal [74,75]. Consequently, the synthetic cluster variable is mathematically equivalent to the sum of all the scaled variables included in that cluster.

To assess the discriminatory capacity of synthetic cluster-derived variables, the study population was stratified into two cohorts: patients with existing metastases at biomarker sampling and patients without existing metastases at biomarker sampling. Receiver operating characteristic (ROC) curves were generated for each synthetic cluster-derived variable in relation to mortality risk across the entire study population and within each stratified cohort. Additionally, ROC curves were constructed to evaluate the capacity of each synthetic variable to predict post-sampling de novo metastases' appearance in the non-metastatic population and post-sampling metastatic disease progression in the metastatic population. From these ROC curves, the optimal cutoff thresholds were determined for each synthetic cluster-derived variable. Furthermore, the individual discriminatory contributions of the biomarker component and the global laboratory parameter components within each synthetic cluster variable were separately analyzed for each clinical event. Although patient monitoring continued beyond the first post-sampling event, with the potential for disease stabilization or subsequent progression, the ROC analysis focused exclusively on the first documented post-sampling event. This ensures methodological clarity and facilitates the accurate characterization of the classifier role of the synthetic cluster variables. The mortality was determined by official death certification. De novo metastasis was defined as the weighted metastatic burden increasing from zero to >0 in baseline metastasis-free patients. Metastatic progression was defined as a positive increment in the weighted metastatic burden from baseline to follow-up in patients with baseline metastases. All determinations were performed in duplicate by a single investigator. For each ROC curve, optimism correction was also performed using the bootstrap of the area under the curve (AUC) with 1000 bootstraps per case. The ninety-five percent confidence intervals (95% CI) were obtained for both the area under the curve and the optimal cutoff point. Furthermore, the p -value for the comparison was calculated using the Mann–Whitney U test for each ROC curve versus the absence of discriminatory capacity (AUC = 0.5).

For biomarkers and laboratory parameters with a non-normal distribution, the Mann–Whitney U test was employed to compare biomarkers and analytical parameters between high- and low-level synthetic cluster-derived variables. Student's t -test was used for normally distributed parameters.

Clinical variables, including the stage at diagnosis, stage at biomarker sampling, post-sampling stage, tumor burden metrics, weighted metastatic burden, and the presence of de novo metastases following sampling, were compared between the high and low synthetic cluster-derived variable groups. For that purpose, the Mann–Whitney U test was applied for clinical variables with non-normal distribution, and for clinical variables with normal distribution, the t -Student test was used.

Kaplan–Meier survival analysis was performed in the non-metastatic population at the time of biomarker sampling, stratifying patients by synthetic cluster-derived variable level (high vs. low). Overall survival (OS) and metastasis-free survival (MFS) curves were generated, also stratifying patients by synthetic cluster-derived variable level (high vs. low). Multivariate Cox proportional hazards regression analysis was used to analyze Qoppa as the principal independent variable, adjusting for the age, sex, histological type, and TNM stage. Hazard ratios (HR) with ninety-five percent confidence intervals were reported.

3. Results

Thirty patients with cancer were recruited (median age 64.4 years, range 32.3–79.5 years; 17 women 56.7%, 13 men 43.3%). Thirteen patients had a family history of cancer, which was limited to only nine patients in the case of first-degree relatives. Three patients (10%) had a history of successfully treated malignancy, and no cases of concurrent or metachronous neoplasms were documented. Among the comorbidities, two patients had long-standing rheumatoid arthritis requiring chronic immunomodulation, and one was HIV-seropositive with virological control on highly active antiretroviral therapy; no limiting disease-related sequelae were observed in these three patients.

The primary malignancies were heterogeneous, with breast cancer predominating (23.3%), followed by lung cancer (13.3%), and colon and bladder cancers equally represented (10% each). Histologically, adenocarcinoma was the most frequent subtype (26.7%), followed by infiltrating ductal carcinoma (16.7%), neuroendocrine carcinoma (13.3%), and urothelial carcinoma (13.3%). At diagnosis, the median disease stage was 2–3, with locoregional lymph node involvement in 36.7% of patients and metastatic disease in 23.3%. Among patients with metastasis at diagnosis, hepatic involvement was the most common (71.4%), followed by bone (57.1%), peritoneal (42.9%), and pulmonary metastases (14.3%). The equivalent ellipsoidal primary tumor volume showed substantial heterogeneity (median 6481.89 mm³, range 65.45–1,518,661.60 mm³), with a tumor burden at diagnosis ranging from 1 to 13 (median 1, mean 2.8). A concise overview of the metastatic status at sample collection is available in the Supplementary Materials.

At the time of biomarker sampling, 60% of the patients had active disease (median stage 3–4, a median tumor burden of 2, and a range between 0 and 14). The median disease duration from diagnosis to biomarker sampling was 0.39 years (range, 0–5.4 years), during which patients received a median of 1.5 treatment lines (range, 0–5). The median number of disease relapses prior to biomarker collection was zero (mean 0.4, range 0–2). The median follow-up duration was 202 days (IQR: 144.25–232.75). Seventeen patients had received prior oncologic treatment before sample collection, while 13 were treatment-naïve at that time. A summary of the values of the detected biomarkers, follow-up times, and prior treatments is provided in the Supplementary Material.

Post-sampling, metastatic disease progression was observed in 10 patients, disease stabilization in 11 patients, and a complete response in 9 patients. Both patients with stable disease and those with complete response remained in the same condition until the end of the follow-up. Among the ten patients with disease progression, two achieved disease stabilization by the end of follow-up, whereas eight experienced further disease progression despite additional lines of treatment. Of these eight patients, seven ultimately died. The main characteristics of the study population are shown in Table 3.

Hierarchical clustering analysis using variable aggregation for the entire study population revealed the grouping of variables shown in the heat map in Figure 1. According to the elbow method and silhouette score, the variable set was divided into two well-defined hierarchical clusters. The first cluster included five variables, all of which were global

parameters. The second cluster comprised all the response biomarkers and the remaining global laboratory parameters. The compositions of these clusters are shown in Figure 2.

Table 3. Demographic clinical characteristics of the study population ($n = 30$).

Characteristic	Value
Recruited population (N)	30
Sex (Female:Male)	17:13
Age at diagnosis, years (median [range])	64.44 [32.31–79.52]
Histology	
Adenocarcinoma	8
Endometrioid adenocarcinoma	1
Serous adenocarcinoma	1
Clear cell carcinoma	1
Invasive ductal carcinoma	5
Squamous cell carcinoma	1
Invasive lobular carcinoma	2
Neuroendocrine carcinoma	4
High grade serous carcinoma	1
Urothelial carcinoma	4
Cholangiocarcinoma	1
Liposarcoma	1
Origin	
Colon	3
Cervix	1
Endometrium	2
Esophagus	1
Breast	7
Pancreas	2
Prostate	1
Lung	4
Retroperitoneal	1
Kidney	2
Bladder	3
Gallbladder	1
Distal biliary tract	1
Ovary	1
Stage at diagnosis (median)	2.5
Tumor burden at diagnosis (median [range])	1 [1–13]
Metastasis at diagnosis (N (%))	7 (23%)
Metastatic burden at diagnosis (median [range])	0 [0–12]
Stage at sample collection (median)	3.5
Tumor burden at sample collection (median [range])	2 [0–14]
Metastasis at sample collection (N (%))	12 (40%)
Metastatic burden at sample collection (median [range])	0 [0–12]
Stage at post-sampling (median)	4
Tumor burden at post-sampling (median [range])	2 [0–14]
Metastasis at post-sampling (N (%))	17 (57%)
Metastatic burden at post-sampling (median [range])	1 [0–12]
Stage at end of follow-up (median)	4
Tumor burden at end of follow-up (median [range])	2 [0–22]
Metastasis at end of follow-up (N (%))	17 (57%)
Metastatic burden at end of follow-up (median [range])	1 [0–20]
Death (N (%))	7 (23%)

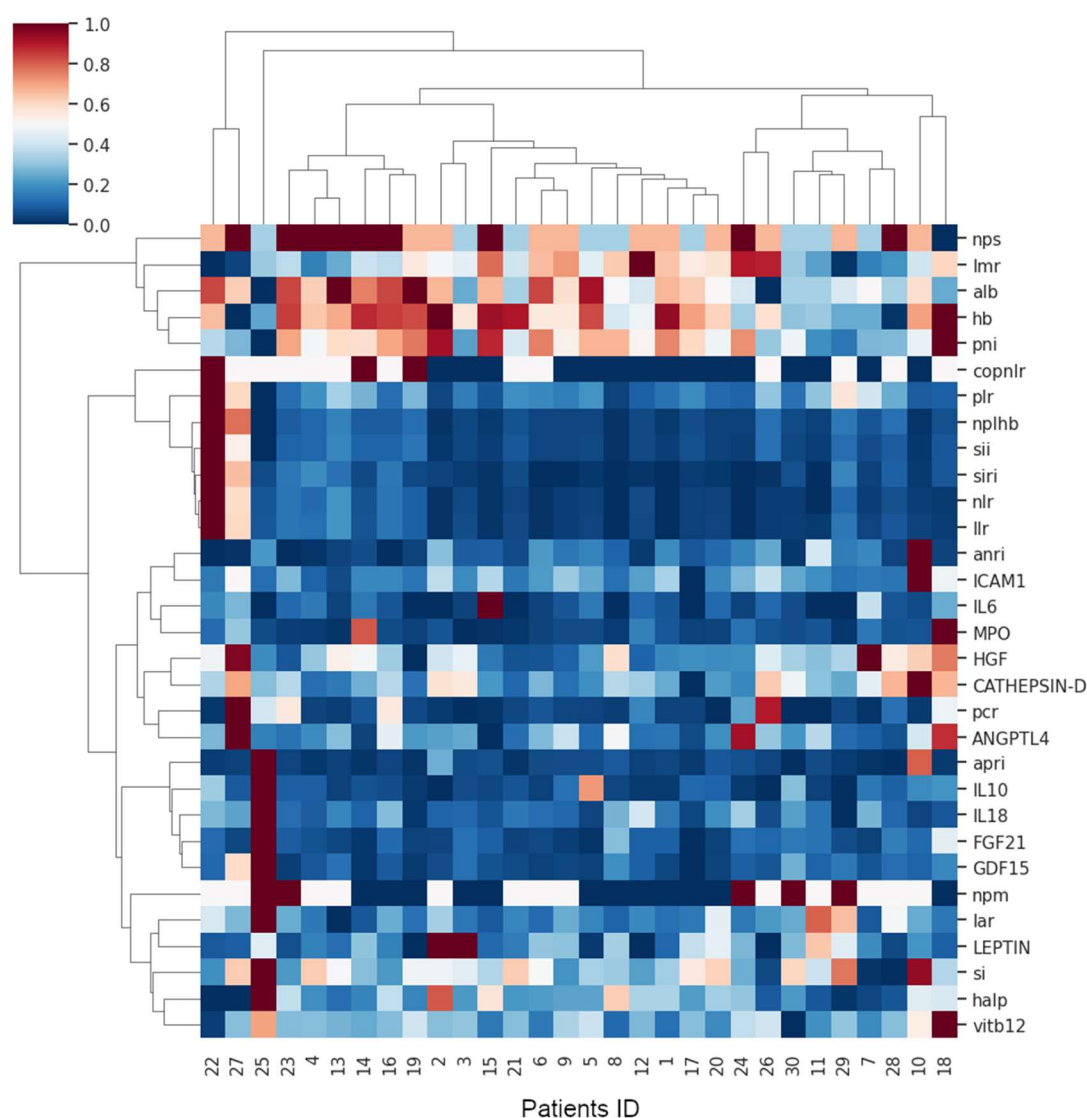


Figure 1. Hierarchically clustered heat map of variables (vertical axis) and patients (horizontal axis) across the complete study population. It was performed using variable aggregation and the Euclidean distance as the similarity metric, with Ward’s minimum variance method for linkage.

For all global laboratory parameters and response biomarkers, individualized min–max scaling was performed per variable. Subsequently, for each of the two identified clusters, a synthetic study variable was created, with the resulting value for each patient corresponding to the sum of the scaled values of the individual variable values within each cluster. Accordingly, a cluster-derived variable named Stigma (ζ) was obtained from the first cluster, and another variable named Qoppa (ϱ) was obtained from the second cluster. The contributions of global laboratory parameters and biomarkers to Qoppa are called ϱ_G and ϱ_B , respectively; thus, $\varrho = \varrho_G + \varrho_B$. Because Stigma originated from a cluster comprising five variables and Qoppa from a cluster composed of 26 variables, their values in this study ranged from 0 to 5 for Stigma and from 0 to 26 for Qoppa. The extrapolation of these analytical results to subsequent studies does not imply that Stigma and Qoppa must be restricted to these ranges, as they may have higher values in different populations. The composition of Stigma (ζ) and Qoppa (ϱ) is shown in Table 4. The profiles of the values of these variables are available in the Supplementary Material.

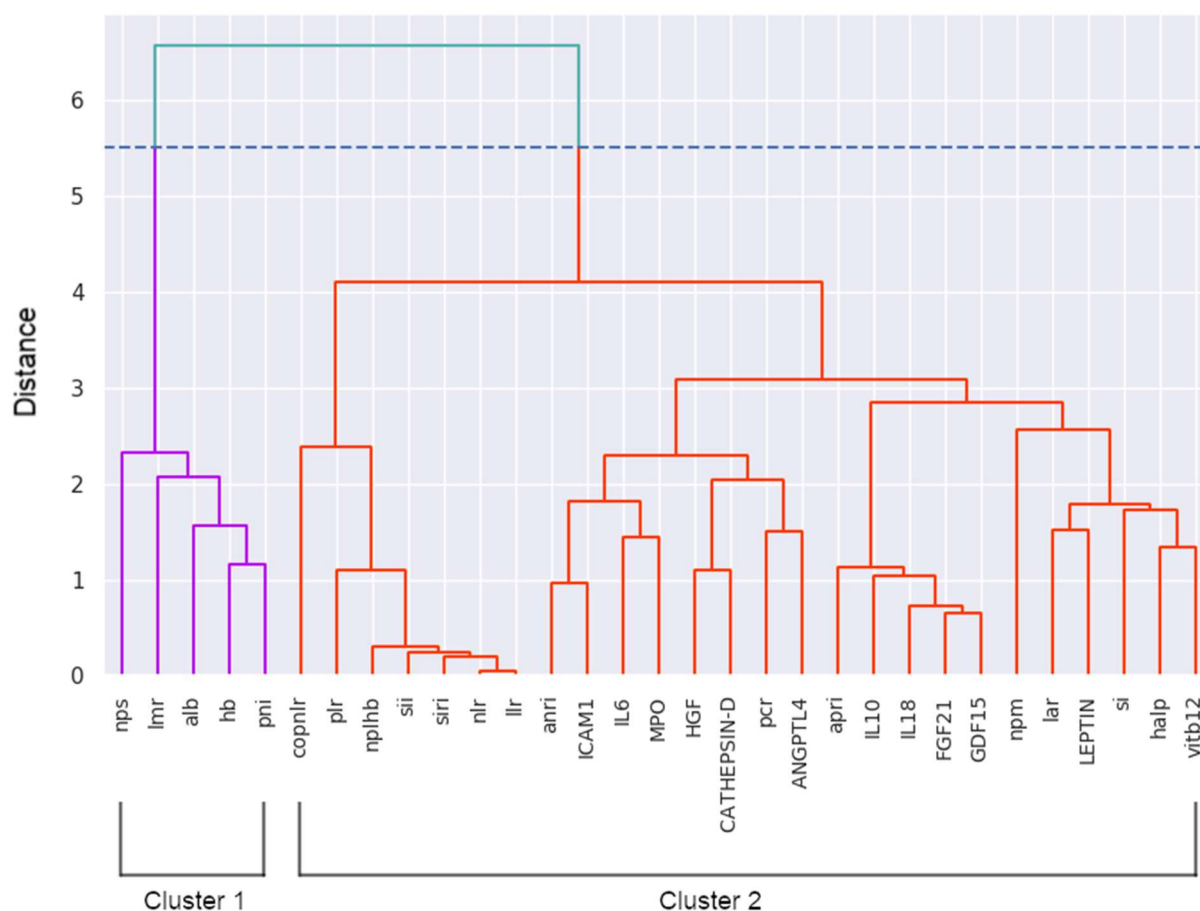


Figure 2. Hierarchical cluster dendrogram by variable for the complete study population. The optimal number of clusters was two, according to the elbow method and silhouette score analysis. The cutoff point is indicated by a blue dashed line. Cluster 1 variables are shown as blue branches and cluster 2 variables as red branches in the dendrogram.

Table 4. Composition of the synthetic study variables Stigma (ζ) and Qoppa (ϱ), as well as the contribution of the global laboratory parameters and the response biomarkers to Qoppa (ϱ_G and ϱ_B , respectively).

Synthetic Study Variable	Symbol	Number of Parameters	Parameters
Stigma	ζ	5	nps + lmr + alb + hb + pni
Qoppa	ϱ ($\varrho = \varrho_G + \varrho_B$)	26	copnlr + plr + nplhb + sii + siri + nlr + llr + anri + ICAM1 + IL6 + MPO + HGF + CATHEPSIN-D + pcr + ANGPTL4 + apri + IL10 + IL18 + FGF21 + GDF15 + npm + lar + LEPTIN + si + halp + vitb12
Qoppa global laboratory parameters' contribution	ϱ_G	15	copnlr + plr + nplhb + sii + siri + nlr + llr + anri + pcr + apri + npm + lar + si + halp + vitb12
Qoppa response biomarkers' contribution	ϱ_B	11	ICAM1 + IL6 + MPO + HGF + CATHEPSIN-D + ANGPTL4 + IL10 + IL18 + FGF21 + GDF15 + LEPTIN

The assessment of these variables, Stigma and Qoppa, as classifiers for the risk of mortality, development of de novo metastasis in non-metastatic patients at baseline, and metastatic progression in metastatic patients at baseline was performed using receiver operating characteristic (ROC) curves. For all Stigma and Qoppa case studies, optimism

correction was additionally performed via bootstrapping of the area under the curve using 1000 bootstraps per case.

The calculation of the area under the curve (AUC) identified Qoppa as an acceptable classifier with AUC = 0.78 for both mortality risk (95% CI: 0.60–0.92) and de novo metastasis (95% CI: 0.48–1). The optimism correction bootstrapping resulted in minimal variations for Qoppa as a classifier of death and de novo metastasis (AUC from the original 0.78 to the corrected 0.77). The AUC *p*-value for the ROC curves versus the null hypothesis of no discriminative ability (AUC = 0.5), using the Mann–Whitney U test, was 0.03 when Qoppa was evaluated as a classifier of death and 0.07 when assessed as a classifier of de novo metastasis development in patients without metastases at the time of sample collection. No classification role was observed for Qoppa or Stigma in the remaining possible scenarios. These findings are shown in Figure 3 and summarized in Table 5 for the cases in which Qoppa is discriminatory (AUC > 0.5; mortality in the overall cohort and development of de novo metastases among patients who were non-metastatic at the time of sample collection).

Table 5. Main characteristics and performance of the ROC operator curves for the case studies described in Figure 3. Optimism correction with bootstrapping using 1000 bootstraps is applied, showing the corrected area under the curve with its 95% confidence interval. The *p*-value for comparing the ROC curve against no discriminatory ability (AUC = 0.5) using the Mann–Whitney U test is also shown. The sensitivity and specificity at the cutoff point of 4.775 is also presented.

Case Study	Sample Size (N)	Original AUC	Optimism Corrected AUC	95% Confidence Interval	<i>p</i> -Value	Sensitivity	Specificity
Qoppa for risk of death (Figure 3a)	30	0.78	0.77	0.60–0.92	0.03	1	0.65
Qoppa for risk of development of metastasis de novo in patients with no metastasis at sample collection (Figure 3c)	18	0.78	0.77	0.48–1.0	0.07	0.8	0.84

A more detailed analysis of Qoppa's role as a classifier for death risk revealed that the AUC of the complete Qoppa is superior to the AUC values of the Qoppa components associated with global laboratory parameters (Q_G ; AUC = 0.65) or biomarkers (Q_B ; AUC = 0.69), separately. Furthermore, the role of the complete Qoppa as a classifier for mortality risk in the population who were exclusively non-metastatic at baseline increased to AUC = 0.98, whereas its classification role disappeared when considering the population who were exclusively metastatic at baseline (AUC = 0.44). A detailed analysis of Qoppa as a classifier for the risk of de novo metastasis in non-metastatic patients at baseline demonstrated a similar pattern. The AUC of the complete Qoppa was superior to the AUC values of the Qoppa components associated with global laboratory parameters (Q_G ; AUC = 0.72) or biomarkers (Q_B ; AUC = 0.77). Subpopulation-specific ROC curves are available in the Supplementary Material.

The optimal cutoff point for Qoppa regarding the mortality risk was 4.775 (sensitivity, 1.00; and specificity 0.65. 95% CI: 4.774–6.195) and 4.949 (sensitivity, 0.80; and specificity 0.84. 95% CI: 3.55–8.48) for the risk of de novo metastasis development. The study of de novo metastasis development in the non-metastatic population at baseline involved a small subpopulation of the overall population. For clinical implementation and analytical consistency within this exploratory pilot study, we adopted the cutoff derived from the broader population (Qoppa > 4.775) as the single operational threshold. Therefore, when applying a cutoff point of 4.775 to the de novo metastasis study, we obtained the same sensitivity and specificity as those for the optimally calculated cutoff point of 4.949.

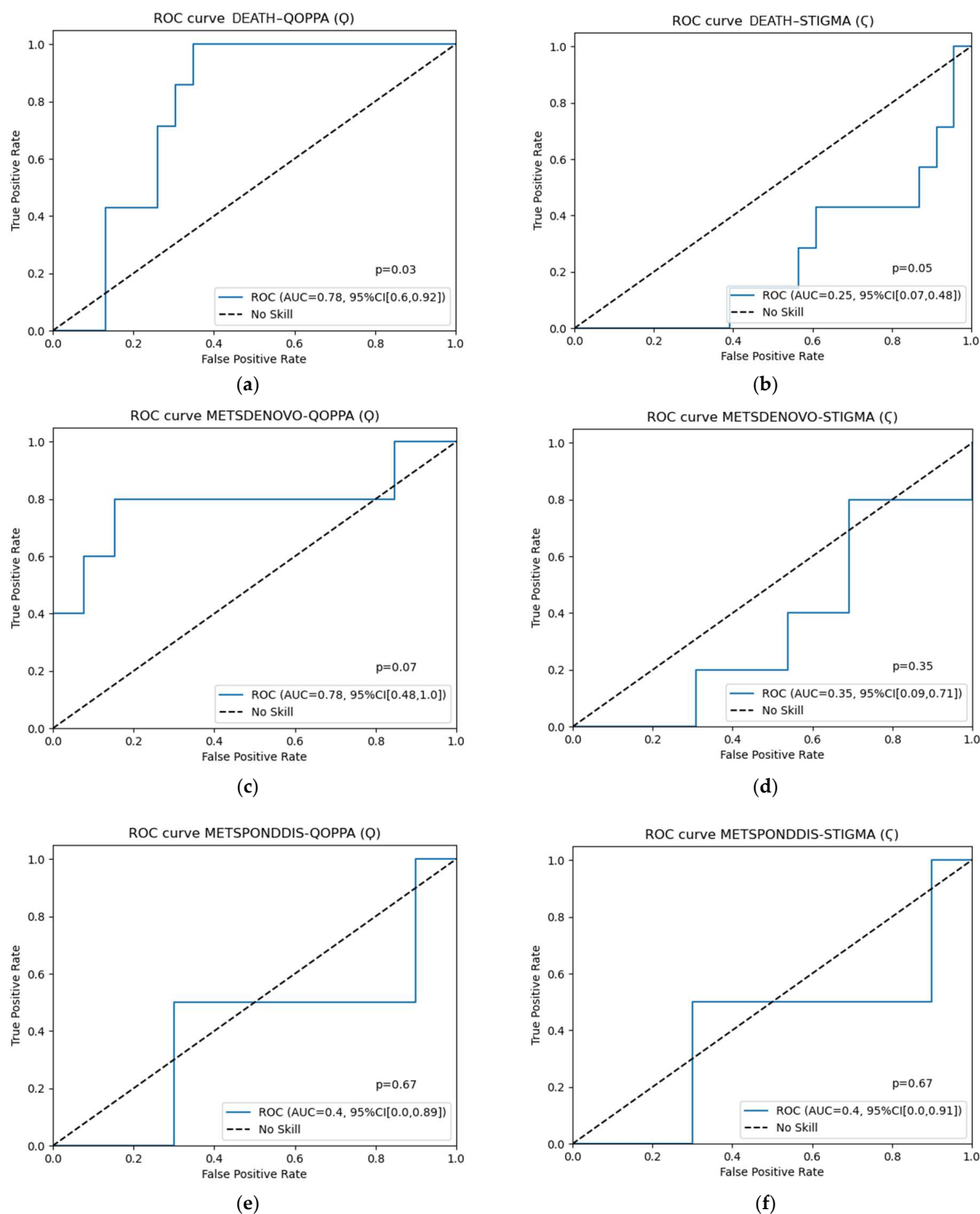


Figure 3. ROC curve analysis study of the role of Qoppa and Stigma as a classifier: (a,b) case study: death; (c,d) case study: development of metastasis de novo in patients with no metastasis at sample collection; (e,f) case study: metastasis progression in patients with metastasis at sample collection. A satisfactory role as classifier was observed in the figures (a): Qoppa and death and (c): Qoppa and new metastases' development in the population without metastases at the time of sampling. For each case, the 95% confidence interval and p -value for comparing the ROC curve against no discriminatory ability (AUC = 0.5) using the Mann–Whitney U test are also shown.

Based on these results, we stratified the population into low Qoppa ($Q \leq 4.775$, resulting in 16 patients), and high Qoppa ($Q > 4.775$, resulting in the remaining 14 patients). These results are shown in Figure 4.

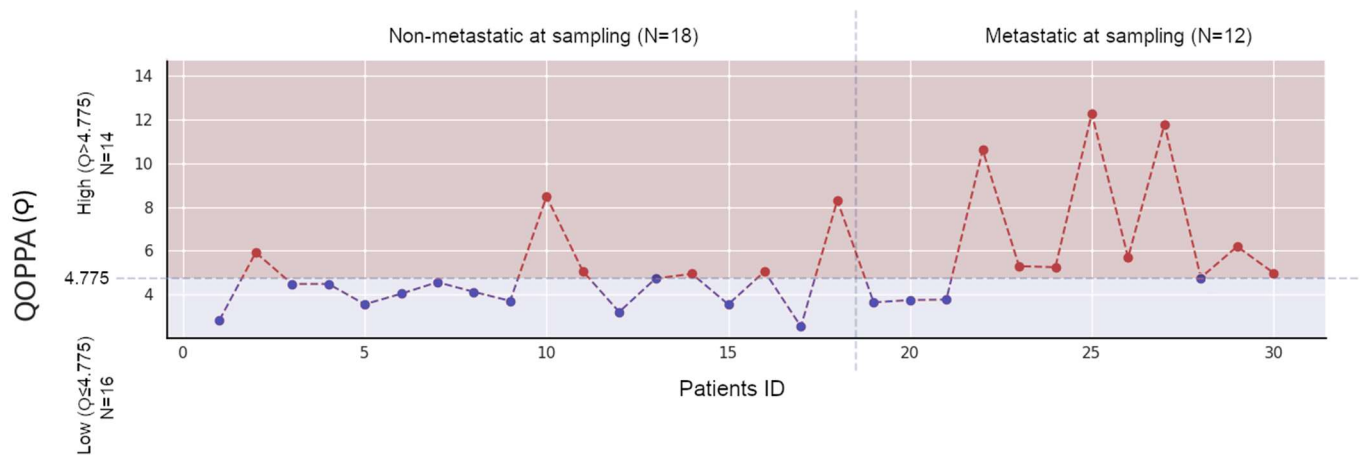


Figure 4. Qoppa synthetic cluster variable profile for all patients. The cutoff point obtained from the ROC curve study is indicated, defining the range of low Qoppa ($Q \leq 4.775$) and high Qoppa ($Q > 4.775$). The non-metastatic population at sampling time is also identified in relation to the population with metastases at that time.

Analytical and clinical differences between the populations with high and low Qoppa were analyzed using the Mann–Whitney U test for variables that did not meet the normality criteria and with the Student’s t-test for those that did. Statistically significant analytical differences were observed in the distribution of the ANGPTL4, CATHEPSIN-D, FGF21, ICAM1, LAR, MPO, and NPM values. All these variables showed a non-normal distribution, and in every case, the median value was higher in the high-Qoppa group than in the low-Qoppa group. From a clinical variable standpoint, differences were observed between the high- and low-Qoppa groups in terms of the disease stage, tumor burden, and metastatic burden, at diagnosis, at sampling, and post-sampling, for all these parameters. In all cases, the high-Qoppa group demonstrated higher median values than the low-Qoppa group, with the exception of the weighted metastatic burden at diagnosis, where both groups exhibited a median of zero, although with different ranges (0–5 for the low-Qoppa group versus 0–12 for the high-Qoppa group). When analyzing the non-metastatic subgroup at sampling, significant differences between high- and low-Qoppa patients were observed in the stage, tumor burden, post-sampling metastatic burden, and de novo metastatic development. In the metastatic subgroup at sampling, differences were restricted to the stage and metastatic burden at diagnosis. None of the clinical variables demonstrated a normal distribution. The analytical and clinical differences analyses are available in the Supplementary Material.

The survival analysis for metastasis-free survival (MFS) using the Kaplan–Meier methodology in the non-metastatic subpopulation at sampling ($N = 18$), stratified by Qoppa level (high $N = 6$, low $N = 12$), demonstrated statistically significant differences. The median MFS was 215 days in the high-Qoppa group versus not reached (>300 days) in the low-Qoppa group ($p = 0.024$, Figure 5). However, Cox proportional hazards analysis did not reach statistical significance ($HR = 8.4$, 95% CI: 0.93–76, $p = 0.058$). The proportional hazards assumption was not violated (Schoenfeld test $p = 0.49$).

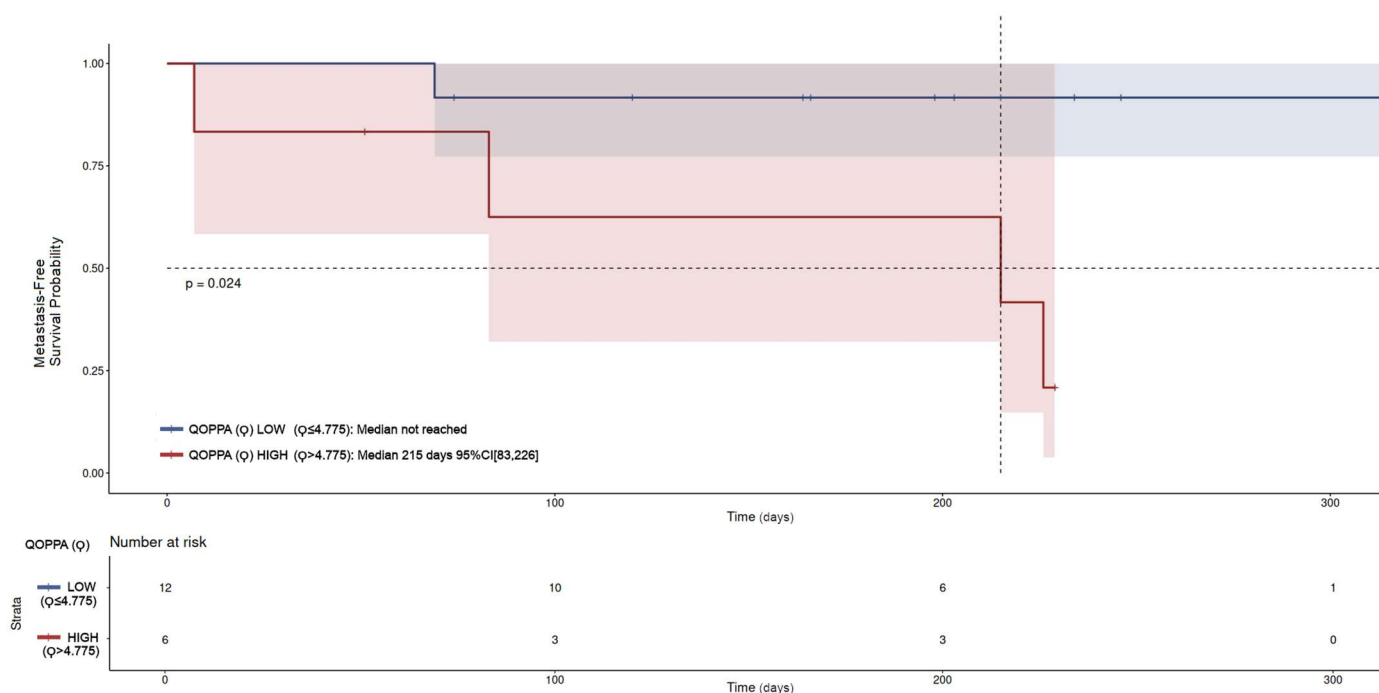


Figure 5. Kaplan–Meier metastasis-free survival analysis between the non-metastatic population at sampling with high Qoppa ($Q > 4.775$, six patients) and low Qoppa levels ($Q \leq 4.775$, twelve patients). Statistically significant differences were observed with p -value 0.024. The median metastasis-free survival for the group of high Qoppa levels was 215 days with 95% CI: 83–226. The median metastasis-free survival for the group of low Qoppa was not reached. The corresponding confidence intervals are depicted for each curve as shaded areas.

The Kaplan–Meier analysis of overall survival was performed in the total population stratified by Qoppa value (high vs. low), demonstrating statistically significant differences. The median overall survival was 234 days in the high-Qoppa group versus not reached in the low-Qoppa group ($p = 0.042$, Figure 6). However, Cox proportional hazards analysis did not achieve statistical significance (HR = 6.9; 95% CI: 0.8–0.59; $p = 0.079$). The proportional hazards assumption was assessed using Schoenfeld residuals; no violations were detected ($p = 0.29$). A detailed analysis of the non-metastatic and metastatic subpopulations at sampling revealed that statistically significant differences in the mortality risk disappeared in the Kaplan–Meier analysis for the metastatic-at-sampling population. Conversely, these differences were confirmed in the non-metastatic-at-sampling population, showing an overall survival median difference of 391 days for the high-Qoppa population versus not reached in the low-Qoppa group ($p = 0.034$), with complete separation observed in the Cox proportional hazards analysis. These subpopulation analyses are available in the Supplementary Material.

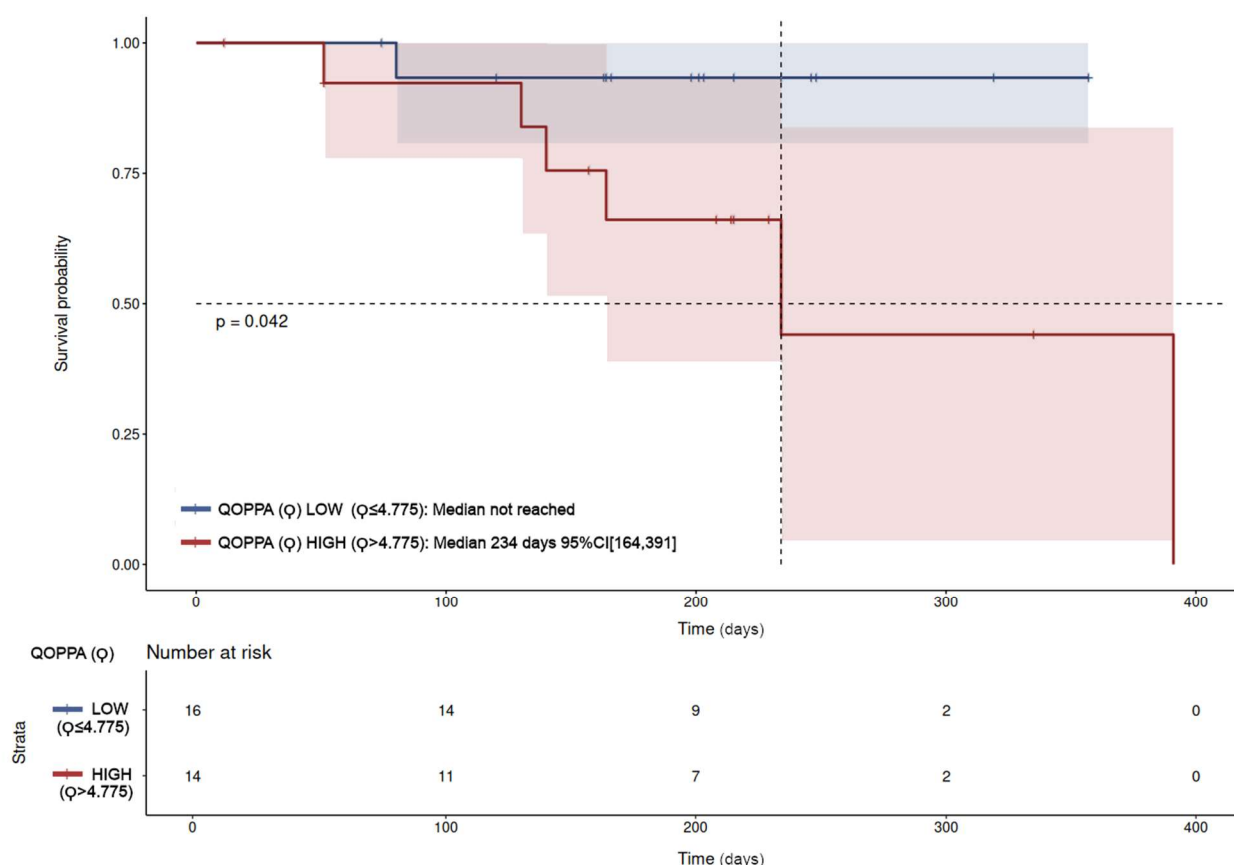


Figure 6. Kaplan–Meier overall survival analysis between the population with high Qoppa ($Q > 4.775$, 14 patients) and low Qoppa levels ($Q \leq 4.775$, 16 patients). Statistically significant differences were observed with p -value 0.042. The median survival for the group of high Qoppa levels was 234 days with 95% CI: 164–391. The median survival for the group of low Qoppa was not reached. The corresponding confidence intervals are depicted for each curve as shaded areas.

4. Discussion

This prospective pilot study indicates that Qoppa, a synthetic parameter that integrates organ-derived response biomarkers with global laboratory parameters, exhibits satisfactory discriminatory performance ($AUC = 0.78$) in predicting de novo metastasis and mortality among patients with solid tumors. This is supported by the statistically significant differences observed in the Kaplan–Meier analysis. Qoppa is conceptually aligned with emerging pan-cancer biomarkers integrating organ-specific responses to estimate the metastatic risk. Most available multi-cancer approaches based on plasma proteomics [76], exosomal RNA signatures [77], and cfDNA methylation [78,79] panels have demonstrated a clinically relevant stratification across tumor types, supporting the rationale for such scalable assays and integrative models, as illustrated by recent work in other tumor settings [80–82].

The plasmatic biomarker panel integrated into Qoppa was intentionally designed to cover complementary dimensions of the premetastatic niche and systemic tumor interactions. ANGPTL4, HGF, and ICAM1 serve as pivotal mediators of endothelial activation and cell adhesion, thereby facilitating organ-specific extravasation of circulating tumor cells [31,32,39–41]. Cathepsin D and MPO capture proteolytic remodeling and neutrophil-driven inflammation, both associated with increased invasiveness and metastatic seeding [33,34,52,53]. FGF21, GDF15, and leptin integrate tumor-induced metabolic stress and adipose–hepatic signaling, processes that affect immune competence and the metabolic state of target organs [35–38,50,51]. Additionally, IL-6, IL-10, and IL-18 were selected as cytokines with dual pro-tumor and immunoregulatory functions, collectively assessing

chronic systemic inflammation, and immune escape [42–48,83]. Beyond their mechanistic significance, these biomarkers were selected based on prior evidence of dynamic variation with tumor burden, partial enrichment in liver, adipose, or endothelial tissues that enable organ-related inference, and their feasibility for robust multiplex quantification in clinical laboratories. Collectively, Qoppa relies on standard blood sampling, available biochemical parameters, and a biomarker panel, a multiplex platform that can be performed by an external laboratory. Whereas other studies assessed multiplex immunofluorescence [84], this study is the first to systematically integrate multiorgan-derived response biomarkers with global laboratory parameters for metastatic risk stratification across multiple tumor types.

The Qoppa parameter, comprising 11 biomarkers responsive to tumor-secreted soluble factors and 16 global laboratory parameters, was internally validated, showing significant variation according to the prognostic risk. Furthermore, the differences between high and low Qoppa values reflected marked divergence in certain biomarkers responsive to tumor-secreted soluble factors. Additionally, the differences between high and low Qoppa were correlated with clinical differences in disease stage, tumor burden, and metastatic burden at diagnosis, sampling, and post-sampling. Thus, these findings reinforce the concept that the variables comprising the synthetic Qoppa parameter capture the liquid biopsy expression of disease trajectory characteristics and the oncologic process, enabling repeated non-invasive monitoring of high-risk patients [85].

The results presented herein should be considered hypothesis-generating for subsequent larger studies concerning the clinical utility of Qoppa. Adopting Qoppa into real-world practice would require, first, a clinical validation in higher cohorts, a cost study, as well as standardization of the analytical procedures (sample handling, calibration, quality control) [86]. Indeed, there is a risk of model overfitting, which was partially mitigated by internal validation using bootstrap resampling, but this cannot substitute for external validation. Consistent with this, the Cox regression significance was borderline ($p = 0.058$), which likely reflects insufficient power rather than the absence of association. Importantly, this approach contributes to establishing a novel ultra-early detection paradigm, aligning with the most innovative and current trends in oncology, wherein tumor disease is identified prior to its visibility on imaging studies [87].

Qoppa exhibited limited discriminatory capacity in patients with metastatic disease at the time of analysis. Given that Qoppa integrates biomarkers of the response to soluble tumor factors and global analytical parameters, this finding suggests that while this approach can detect metastatic onset, it is inadequate for identifying variations in metastatic burden once the metastatic process is established. This predictive limitation in the metastatic context may be attributable to the higher biological complexity inherent to advanced disease compared with at-risk populations with localized disease [88]. In established metastases, multiple progression pathways and molecular mechanisms operate concurrently, generating substantial “biological noise” that obscures individual biomarker prognostic signals [89]. Altered biomarker values in this population likely reflect the manifestations of already-present advanced disease rather than capacity to predict subsequent progression. This indicates that this strategy should be complemented with additional biomarkers or monitoring approaches in the metastatic population to track the disease evolution [90]. Nevertheless, given the substantial prognostic impact of metastatic onset, Qoppa remains of considerable interest and potential clinical utility.

This pilot study has several limitations, primarily related to the limited statistical power (small sample size). First, the cohort size was modest ($n = 30$), and it was highly heterogeneous in terms of primary tumor type, stage, prior treatments, and metastatic burden. Although this heterogeneity is conceptually aligned with the pan-tumor and host-centered nature of Qoppa, it likely increased noise and diluted potential associations within

specific subgroups. Importantly, such heterogeneity also limits the definition of a single universal cutoff, as clinical thresholds may vary across tumor types and clinical conditions. Second, given the small sample size compared to the number of integrative variables, there is a risk of model overfitting, which was partially mitigated by internal validation using bootstrap resampling, but this cannot substitute for external validation. As a consequence, the effect estimates, proposed cutoffs, and the apparent prognostic separation between Qoppa strata should be interpreted with caution and considered exploratory. Third, we did not pre-specify tumor-site-specific models; so, the clinical applicability of Qoppa remains uncertain. Before routine use, its prognostic performance, reproducibility and added value beyond standard clinicopathological variables should be confirmed in larger multicenter cohorts, ideally with prespecified tumor type and clinical scenarios. Future studies should also explore whether simplified context-specific versions of the biomarker panel can retain most of the predictive information while improving the feasibility and cost-effectiveness prior to clinical implementation.

5. Conclusions

This prospective pilot study suggests that the clinical measurement of response biomarkers to tumor-secreted soluble factors is feasible in peripheral blood from oncologic patients. Integration of these plasma biomarkers related to endothelial activation, inflammation, and metabolism with global laboratory parameters into the synthetic variable Qoppa was consistently associated with adverse risk and de novo metastasis in this small hypothesis-generating cohort, supporting the methodological feasibility of this approach. Although the present data are insufficient to justify immediate clinical implementation, they provide proof of concept that such integrative plasmatic panels can capture clinically relevant information in standard clinicopathological settings and warrant prospective validation and refinement in larger tumor-type-stratified and multicenter cohorts.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm15020846/s1>, RAW_DATA_MINMAXSCALED; Table S1: Descriptive values of the 11 biomarkers measured through Luminex; Table S2: Main characteristics and performance of the ROC operator curves for the case studies described as supplementary material with optimism correction bootstrapping; Table S3: Main characteristics of the study population regarding follow-up time, received treatments before sample collection, and presence of metastases at the time of sample collection; Table S4: Summary of metastatic sites and number of metastases per location and calculation of weighted metastatic burden and overall tumor burden. Figure S1: Profile of synthetic variable values of clusters Stigma (ζ) and Qoppa (φ); Figure S2: ROC curve analysis study of the role of the component of Qoppa from global analytical parameters (φ_G , panel a) and from response biomarkers (φ_B , panel b) as a classifier of the risk of death; Figure S3: ROC curve analysis study of the role of Qoppa as a classifier of the risk of death for patients with no metastasis at the time of sample collection (panel a) and patients with metastasis at the time of sample collection (panel b); Figure S4: ROC curve analysis study of the role of the component of Qoppa from global analytical parameters (φ_G , panel a) and from response biomarkers (φ_B , panel b) as a classifier of the risk of development of metastasis de novo in patients with no metastasis at the time of sample collection; Figure S5: Study of analytical differences using the Mann–Whitney U test for variables that did not meet the normality criteria and the Student’s t test for those that did; Figure S6: Study of clinical differences using the Mann–Whitney U test for variables that did not meet the normality criteria and the Student’s t test for those that did; Figure S7: Kaplan–Meier survival analysis between the patients with high and low Qoppa levels for the population with no metastasis at the time of sample collection; Figure S8: Kaplan–Meier survival analysis between the patients with high and low Qoppa levels for the population with metastasis at the time of sample collection.

Author Contributions: Conceptualization and methodology: S.M.-G. and J.D.-S.; Software: J.D.-S.; Data acquisition: A.R.-V., B.B.-G. and O.U.-R.; Writing—original draft preparation: J.D.-S.; Writing—review and editing: S.M.-G.; Visualization: J.D.-S.; Supervision: S.M.-G.; Project administration: J.D.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding. J.D.-S. is part of the Health Sciences PhD Program, Universidad Católica de Murcia UCAM, Campus de los Jerónimos nº135, Guadalupe 30107, Murcia, Spain.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics and Research Committee with Medications of HM Hospitales (protocol code V4.0_21/04/2024 24.03.2323-GHM and date of approval 22 April 2024) and UCAM (protocol code: CE052403, and date of approval 31 May 2024). Assessment of the risk of personal data collection was performed in accordance with prevailing data protection regulations, with the implementation of anonymization and information security measures. All clinical data were coded using unique identifiers disconnected from personally identifiable information.

Informed Consent Statement: Written informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The min–max scaled raw data are available as Supplementary Material.

Acknowledgments: The authors gratefully acknowledge Marta Hernández Martínez for her invaluable support and critical review of this manuscript.

Conflicts of Interest: All authors declare that they have no conflicts of interest.

References

- Li, Y.; Liu, F.; Cai, Q.; Deng, L.; Ouyang, Q.; Zhang, X.H.; Zheng, J. Invasion and metastasis in cancer: Molecular insights and therapeutic targets. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2025**, *10*, 57. [\[CrossRef\]](#)
- Jiang, K.; Parker, M.; Materi, J.; Azad, T.D.; Kamson, D.O.; Kleinberg, L.; Ye, X.; Rincon-Torroella, J.; Bettgowda, C. Epidemiology and survival outcomes of synchronous and metachronous brain metastases: A retrospective population-based study. *Neurosurg. Focus* **2023**, *55*, E3. [\[CrossRef\]](#)
- Horn, S.R.; Stoltzfus, K.C.; Lehrer, E.J.; Dawson, L.A.; Tchelebi, L.; Gusani, N.J.; Sharma, N.K.; Chen, H.; Trifiletti, D.M.; Zaorsky, N.G. Epidemiology of liver metastases. *Cancer Epidemiol.* **2020**, *67*, 101760. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Chen, H.; Stoltzfus, K.C.; Lehrer, E.J.; Horn, S.R.; Siva, S.; Trifiletti, D.M.; Meng, M.-B.; Verma, V.; Louie, A.V.; Zaorsky, N.G. The Epidemiology of Lung Metastases. *Front. Med.* **2021**, *8*, 723396. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Ryan, C.; Stoltzfus, K.C.; Horn, S.; Chen, H.; Louie, A.V.; Lehrer, E.J.; Trifiletti, D.M.; Fox, E.J.; Abraham, J.A.; Zaorsky, N.G. Epidemiology of bone metastases. *Bone* **2022**, *158*, 115783. [\[CrossRef\]](#)
- Mao, X.; Mei, R.; Yu, S.; Shou, L.; Zhang, W.; Li, K.; Qiu, Z.; Xie, T.; Sui, X. Emerging Technologies for the Detection of Cancer Micrometastasis. *Technol. Cancer Res. Treat.* **2022**, *21*, 15330338221100355. [\[CrossRef\]](#)
- Bartolomucci, A.; Nobrega, M.; Ferrier, T.; Dickinson, K.; Kaorey, N.; Nadeau, A.; Castillo, A.; Burnier, J.V. Circulating tumor DNA to monitor treatment response in solid tumors and advance precision oncology. *NPJ Precis. Oncol.* **2025**, *9*, 84. [\[CrossRef\]](#)
- Ma, L.; Guo, H.; Zhao, Y.; Liu, Z.; Wang, C.; Bu, J.; Sun, T.; Wei, J. Liquid biopsy in cancer current: Status, challenges and future prospects. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2024**, *9*, 336. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Sato, Y. Liquid biopsy for minimal residual disease and monitoring in early-stage non-small cell lung cancer: Current clinical utility and implementation challenges. *Explor. Med.* **2025**, *6*, 1001349. [\[CrossRef\]](#)
- Bai, L.; Lyu, J.; Feng, J.; Qiao, X.; Qu, Y.; Yang, G.; Zhu, Y.; Liao, L.; Gao, H.; Zang, A.; et al. Cancer biomarkers discovered using pan-cancer plasma proteomic profiling. *Nat. Biomed. Eng.* **2025**, *10*, 16–38. [\[CrossRef\]](#)
- Dong, W.; Lau, C.H.; Li, J.; Huang, Z.; Li, J.; Wu, W.; Chen, X.; Huang, Y.; Huang, X.; Xu, M.; et al. Pan-cancer methylation analysis of circulating cell-free DNA. *Cancer Genet.* **2025**, 296–297, 182–195. [\[CrossRef\]](#)
- Bautista, J.M.D.; Zhang, L.; Li, S.; Gao, Y. Deciphering organotropism reveals therapeutic targets in metastasis. *Front. Cell Dev. Biol.* **2025**, *12*, 1677481. [\[CrossRef\]](#)
- Wang, Y.; Jia, J.; Wang, F.; Fang, Y.; Yang, Y.; Zhou, Q.; Yuan, W.; Gu, X.; Hu, J.; Yang, S. Pre-metastatic niche: Formation, characteristics and therapeutic implication. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2024**, *9*, 236. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Paget, S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* **1889**, *133*, 571–573. [\[CrossRef\]](#)

15. Valastyan, S.; Weinberg, R.A. Tumor metastasis: Molecular insights and evolving paradigms. *Cell* **2011**, *147*, 275–292. [CrossRef] [PubMed]
16. Lusby, R.; Dunne, P.; Tiwari, V.K. Tumour invasion and dissemination. *Biochem. Soc. Trans.* **2022**, *50*, 1245–1257. [CrossRef]
17. Zhan, Q.; Liu, B.; Situ, X.; Luo, Y.; Fu, T.; Wang, Y.; Xie, Z.; Ren, L.; Zhu, Y.; He, W.; et al. New insights into the correlations between circulating tumor cells and target organ metastasis. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8*, 465. [CrossRef]
18. Gao, Y.; Bado, I.; Wang, H.; Zhang, W.; Rosen, J.M.; Zhang, X.H. Metastasis Organotropism: Redefining the Congenial Soil. *Dev. Cell* **2019**, *49*, 375–391. [CrossRef]
19. Fan, X.; Li, B.; Zhang, F.; Liu, M.; Kwan, H.Y.; Liu, Z.; Su, T. FGF19-Activated Hepatic Stellate Cells Release ANGPTL4 that Promotes Colorectal Cancer Liver Metastasis. *Adv. Sci.* **2025**, *12*, e2413525. [CrossRef]
20. Sui, Y.; Chen, J. Hepatic FGF21: Its Emerging Role in Inter-Organ Crosstalk and Cancers. *Int. J. Biol. Sci.* **2022**, *18*, 5928. [CrossRef]
21. Ferioli, M.; Benini, A.; Malizia, C.; Forlani, L.; Medici, F.; Laghi, V.; Ma, J.; Galuppi, A.; Cilla, S.; Buwenge, M.; et al. Classical Prognostic Factors Predict Prognosis Better than Inflammatory Indices in Locally Advanced Cervical Cancer: Results of a Comprehensive Observational Study including Tumor-, Patient-, and Treatment-Related Data (ESTHER Study). *J. Pers. Med.* **2023**, *13*, 1229. [CrossRef]
22. Medici, F.; Ferioli, M.; Forlani, L.; Laghi, V.; Ma, J.; Cilla, S.; Buwenge, M.; Macchia, G.; Deodato, F.; Vadalà, M.; et al. Decoding the Complexity of Systemic Inflammation Predictors in Locally Advanced Cervical Cancer, with Hemoglobin as the Hidden Key (the ESTHER Study). *Cancers* **2023**, *15*, 5056. [CrossRef] [PubMed]
23. León, A.M.; Hall, W.B.; Lino, L.S.; Salcedo, R.A.; García, J.S.; Miranda, G.; Hernandez, R.; Herrera, A.; Zepeda, C. Identification of prognostic factors for survival in patients with metastatic gastric adenocarcinoma in a Mexican population. *Rev. De Gastroenterol. De México* **2024**, *89*, 340–346. [CrossRef]
24. Maloney, S.; Pavlakis, N.; Itchins, M.; Arena, J.; Mittal, A.; Hudson, A.; Colvin, E.; Sahni, S.; Diakos, C.; Chan, D.; et al. The prognostic and predictive role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) as biomarkers in resected pancreatic cancer. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 1989. [CrossRef]
25. Grivennikov, S.I.; Greten, F.R.; Karin, M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* **2010**, *140*, 883–899. [CrossRef]
26. Zheng, J.; Qin, C.; Wang, Q.; Tian, D.; Chen, Z. Circulating tumour DNA-Based molecular residual disease detection in resectable cancers: A systematic review and meta-analysis. *eBioMedicine* **2024**, *103*, 105109. [CrossRef]
27. Peng, Y.; Mei, W.; Ma, K.; Zeng, C. Circulating Tumor DNA and Minimal Residual Disease (MRD) in Solid Tumors: Current Horizons and Future Perspectives. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 763790. [CrossRef]
28. Shaw, J.A.; Page, K.; Wren, E.; de Bruin, E.; Kalashnikova, E.; Hastings, R.; McEwen, R.; Zhang, E.; Wadsley, M.; Acheampong, E.; et al. Serial Postoperative Circulating Tumor DNA Assessment Has Strong Prognostic Value During Long-Term Follow-Up in Patients With Breast Cancer. *JCO Precis. Oncol.* **2024**, *8*, e2300456. [CrossRef]
29. Li, H.; Tang, Y.; Hua, L.; Wang, Z.; Du, G.; Wang, S.; Lu, S.; Li, W. A Systematic Pan-Cancer Analysis of MEIS1 in Human Tumors as Prognostic Biomarker and Immunotherapy Target. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 1646. [CrossRef] [PubMed]
30. Diaz-Santos, J.; Montoro-Garcia, S.; Medina-Rodriguez, L.; Rodriguez-Valle, A.; Ruiz-Checa, L.; Urquizar-Rodriguez, O.; Vidal-Vanaclocha, F. Qoppa as a new synthetic analytical marker to detect the oncological population at high risk of metastasis during follow-up and optimize the imaging test schedule. In Proceedings of the 3rd International Online Conference on Clinical Medicine, Online, 17–19 November 2025; Available online: <https://sciforum.net/paper/view/26821> (accessed on 17 November 2025).
31. Tan, M.J.; Teo, Z.; Sng, M.K.; Zhu, P.; Tan, N.S. Emerging roles of angiopoietin-like in human cancer. *Mol. Cancer Res.* **2012**, *10*, 677–688. [CrossRef] [PubMed]
32. Park, M.S.; Kim, S.E.; Lee, P.; Lee, J.H.; Jung, K.H.; Hong, S.S. Potential role of ANGPTL4 in cancer progression, metastasis, and metabolism: A brief review. *BMB Rep.* **2024**, *57*, 343–351. [CrossRef]
33. Benes, P.; Vetvicka, V.; Fusek, M. Cathepsin D-Many functions of one aspartic protease. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2008**, *68*, 12–28. [PubMed]
34. Tan, G.J.; Peng, Z.K.; Lu, J.P.; Tang, F.Q. Cathepsins mediate tumor metastasis. *World J. Biol. Chem.* **2013**, *4*, 91–101. [CrossRef]
35. Dalangood, S.; Hu, C.; Yuan, C.; Li, X.; Qiao, W.; Li, H.; Zhang, R.; Li, L.; Li, P.; Yu, X.; et al. Cancer-associated adipocytes mediate CD8+T cell dysfunction via FGF21-driven lipolysis. *Cell Rep.* **2025**, *44*, 116526. [CrossRef]
36. Hu, C.; Qiao, W.; Li, X.; Ning, Z.-K.; Liu, J.; Dalangood, S.; Li, H.; Yu, X.; Zong, Z.; Wen, Z.; et al. Tumor-secreted FGF21 acts as an immune suppressor by rewiring cholesterol metabolism of CD8+T cells. *Cell Metab.* **2024**, *36*, 630–647. [CrossRef]
37. Wischhusen, J.; Melero, I.; Fridman, W.H. Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From Biomarker to Novel Targetable Immune Checkpoint. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 951. [CrossRef]
38. Ling, T.; Zhang, J.; Ding, F.; Ma, L. Role of growth differentiation factor 15 in cancer cachexia (Review). *Oncol. Lett.* **2023**, *26*, 462. [CrossRef] [PubMed]
39. You, W.K.; McDonald, D.M. The hepatocyte growth factor/c-Met signaling pathway as a therapeutic target to inhibit angiogenesis. *BMB Rep.* **2008**, *41*, 833–839. [CrossRef]

40. Matsumoto, K.; Umitsu, M.; Silva, D.M.D.; Roy, A.; Bottaro, D.P. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Sci.* **2017**, *108*, 296–307. [\[CrossRef\]](#)
41. Taftaf, R.; Liu, X.; Singh, S.; Jia, Y.; Dashzeveg, N.K.; Hoffmann, A.D.; El-Shennawy, L.; Ramos, E.K.; Adorno-Cruz, V.; Schuster, E.J.; et al. ICAM1 initiates CTC cluster formation and trans-endothelial migration in lung metastasis of breast cancer. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 4867. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Bui, T.M.; Wiesolek, H.L.; Sumagin, R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J. Leukoc. Biol.* **2020**, *108*, 787–799. [\[CrossRef\]](#)
43. Li, R.; Wen, A.; Lin, J. Pro-inflammatory cytokines in the formation of the pre-metastatic niche. *Cancers* **2020**, *12*, 3752. [\[CrossRef\]](#)
44. Zeng, C.; Niu, F.; Li, H.; Huang, Z.; Ke, Y.; Yu, L.; Chen, M. Progress of IL-10 and liver metastasis. *Cytokine* **2025**, *190*, 156932. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Ma, T.; Kong, M. Interleukin-18 and -10 may be associated with lymph node metastasis in breast cancer. *Oncol. Lett.* **2021**, *21*, 253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Markowitz, G.J.; Yang, P.; Fu, J.; Michelotti, G.A.; Chen, R.; Sui, J.; Yang, B.; Qin, W.-H.; Zhang, Z.; Wang, F.-S.; et al. Inflammation-dependent IL18 signaling restricts hepatocellular carcinoma growth by enhancing the accumulation and activity of tumor-infiltrating lymphocytes. *Cancer Res.* **2016**, *76*, 2394–2405. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Park, S.; Cheon, S.; Cho, D. The Dual Effects of Interleukin-18 in Tumor Progression. *Cell Mol. Immunol.* **2007**, *4*, 329–335.
48. Kang, J.S.; Bae, S.Y.; Kim, H.R.; Kim, Y.S.; Kim, D.J.; Cho, B.J.; Yang, H.-K.; Hwang, Y.-I.; Kim, K.J.; Park, H.S.; et al. Interleukin-18 increases metastasis and immune escape of stomach cancer via the downregulation of CD70 and maintenance of CD44. *Carcinogenesis* **2009**, *30*, 1987–1996. [\[CrossRef\]](#)
49. Maryam, S.; Krukiewicz, K.; Haq, I.U.; Khan, A.A.; Yahya, G.; Cavalu, S. Interleukins (Cytokines) as Biomarkers in Colorectal Cancer: Progression, Detection, and Monitoring. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 3127. [\[CrossRef\]](#)
50. Obi, N.; Jung, A.Y.; Maurer, T.; Huebner, M.; Johnson, T.; Behrens, S.; Jaskulski, S.; Becher, H.; Chang-Claude, J. Association of circulating leptin, adiponectin, and resistin concentrations with long-term breast cancer prognosis in a German patient cohort. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 23526. [\[CrossRef\]](#)
51. Ebadi, M.; Mazurak, V.C. Potential Biomarkers of Fat Loss as a Feature of Cancer Cachexia. *Mediat. Inflamm.* **2015**, *2015*, 820934. [\[CrossRef\]](#)
52. Galdiero, M.R.; Bianchi, P.; Grizzi, F.; Caro, G.D.; Basso, G.; Ponzetta, A.; Bonavita, E.; Barbagallo, M.; Tartari, S.; Polentarutti, N.; et al. Occurrence and significance of tumor-Associated neutrophils in patients with colorectal cancer. *Int. J. Cancer* **2016**, *139*, 446–456. [\[CrossRef\]](#)
53. Cosic-Mujkanovic, N.; Valadez-Cosmes, P.; Maitz, K.; Lueger, A.; Mihalic, Z.N.; Runtsch, M.C.; Kienzl, M.; Davies, M.J.; Chuang, C.Y.; Heinemann, A.; et al. Myeloperoxidase Alters Lung Cancer Cell Function to Benefit Their Survival. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1587. [\[CrossRef\]](#)
54. Wang, X.; Xu, J.; Zhang, H.; Qu, P. The effect of albumin and hemoglobin levels on the prognosis of early-stage cervical cancer: A prospective, single-center-based cohort study. *BMC Women's Health* **2023**, *23*, 553. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Ji, F.; Fu, S.; Guo, Z.; Pang, H.; Chen, D.; Wang, X.; Ju, W.; Wang, D.; He, X.; Hua, Y.; et al. Prognostic significance of preoperative aspartate aminotransferase to neutrophil ratio index in patients with hepatocellular carcinoma after hepatic resection. *Oncotarget* **2016**, *7*, 72276–72289. [\[CrossRef\]](#)
56. Liu, L.; Wang, W.; Zhang, Y.; Long, J.; Zhang, Z.; Li, Q.; Chen, B.; Li, S.; Hua, Y.; Shen, S.; et al. Declined preoperative aspartate aminotransferase to neutrophil ratio index predicts poor prognosis in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma after hepatectomy. *Cancer Res. Treat.* **2018**, *50*, 538–550. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Ekici, O.; Akgun, U.; Buyukdemirci, E.; Avci, S.; Caglayan, V.; Erdogan, A.; Onen, E.; Ozcan, R.; Oner, S. Association of hemoglobin, albumin, lymphocyte and platelet (HALP) score with testicular tumor aggressiveness and prognosis. *Urol. J.* **2024**, *92*, 317–323. [\[CrossRef\]](#)
58. Zhang, D.; Zeng, H.; Pan, Y.; Zhao, Y.; Wang, X.; Chen, J.; Wang, J.; Zhang, Y.; Zhou, Z.; Xu, L.; et al. Liver Tumor Markers, HALP Score, and NLR: Simple, Cost-Effective, Easily Accessible Indexes for Predicting Prognosis in ICC Patients after Surgery. *J. Pers. Med.* **2022**, *12*, 2041. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
59. Koyun, E.; Dindas, F.; Sahin, A.; Cerik, I.B.; Dogdus, M. Screening Tests Predicting Cancer Metastasis in the Etiology of Pericardial Effusion: HALP Score and PNI. *Arq. Bras. De Cardiol.* **2024**, *121*, e20230376.
60. Wu, Z.J.; Lan, B.; Luo, J.; Ameti, A.; Wang, H.; Hu, Q.Y. Impact of preoperative inflammatory and nutritional markers on the prognosis of patients with peritoneal metastasis of colorectal cancer. *World J. Gastrointest. Oncol.* **2024**, *16*, 3865–3874. [\[CrossRef\]](#)
61. Liu, W.C.; Li, M.P.; Hong, W.Y.; Zhong, Y.X.; Sun, B.L.; Huang, S.H.; Liu, Z.-L.; Liu, J.-M. A practical dynamic nomogram model for predicting bone metastasis in patients with thyroid cancer. *Front. Endocrinol.* **2023**, *14*, 1142796. [\[CrossRef\]](#)
62. Menekse, S.; Kut, E.; Almuradova, E. Elevated serum lactate dehydrogenase to albumin ratio is a useful poor prognostic predictor of nivolumab in patients with non-small cell lung cancer. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2023**, *27*, 86–94. [\[PubMed\]](#)

63. Gulturk, I.; Yilmaz, M.; Tacar, S.Y.; Bakkaloglu, O.K.; Sonmezoz, G.B.; Erdal, G.S.; Ozmen, A.; Tural, D. Naples prognostic score may predict overall survival in metastatic pancreatic cancer. *J. Cancer Res. Ther.* **2024**, *20*, 249–254. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Kurashina, R.; Ando, K.; Inoue, M.; Maruyama, R.; Mitani, K.; Takenobu, H.; Haruta, M.; Onuki, R.; Matsuoka, Y.; Kamijo, T.; et al. Pretreatment Hemoglobin Levels and Platelet-to-Lymphocyte Ratio Predict Survival Benefit from Pembrolizumab in Advanced Urothelial Carcinoma. *Cancer Diagn. Progn.* **2023**, *3*, 230–235. [\[CrossRef\]](#)
65. Lee, D.S.; Kim, C.W.; Kim, H.Y.; Ku, Y.M.; Won, Y.D.; Lee, S.L.; Sun, D.S. Association between Posttreatment Serum Platelet-to-Lymphocyte Ratio and Distant Metastases in Patients with Hepatocellular Carcinoma Receiving Curative Radiation Therapy. *Cancers* **2023**, *15*, 1978. [\[CrossRef\]](#)
66. Wang, X.; Gao, Y.; Wang, J.; Chen, L.; Zhang, X.; Chen, M.; Lan, N.; Li, W.; Wu, F.; Ren, J. Predictive Role of Elevated Neutrophil-Lymphocyte Ratio for Bone Metastasis in Esophageal Cancer. *Technol. Cancer Res. Treat.* **2024**, *23*, 15330338241272043. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
67. Zhao, Z.; Yan, M.; Pang, H.; Chen, L.; Tang, X.; Chen, Z.; Chen, X.; Sun, H. Significance of Nutritional-Inflammatory Index as Predictors for Total Neoadjuvant Therapy-Induced Tumor Regression in Locally Advanced Rectal Cancer Patients. *J. Inflamm. Res.* **2024**, *17*, 3865–3878. [\[CrossRef\]](#)
68. Mao, Y.; Liu, J.; Li, J.; Qiu, Y.; Wang, Z.; Li, B.; Liu, S.; Tian, L.; Chen, J. Elevation of preoperative serum hs-CRP is an independent risk factor for malnutrition in patients with gastric cancer. *Front. Oncol.* **2023**, *13*, 1173532. [\[CrossRef\]](#)
69. Wang, K.; Li, K.; Zhang, Z.; Zeng, X.; Sulayman, S.; Ababaike, S.; Wu, Z.; Pan, Y.; Chu, J.; Guan, J.; et al. Prognostic value of combined NP and LHb index with absolute monocyte count in colorectal cancer patients. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 8902. [\[CrossRef\]](#)
70. Wang, Z.; Zhao, S.; Zhang, X.; Mao, X.; Yang, G.; Yuan, M.; Zhou, X. Effect of prognostic nutritional index on laboratory parameters and survival in metastatic colorectal cancer patients treated with fruquintinib: A retrospective study. *PeerJ* **2024**, *12*, e18565. [\[CrossRef\]](#)
71. Mei, J.; Xiao, X.; Liang, N.; Dong, L.; Wei, S.; Mo, L.; Zhao, W.; Cai, Y. Clinical Significance of Serum Iron Metabolism-Related Markers in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *ORL* **2023**, *85*, 223–230. [\[CrossRef\]](#)
72. Rezazadeh, M.; Kamyabi, A.; Pisheh, R.G.; Noroozie, S.; Amiri, B.S.; Negahi, A.; Radkhah, H. Diagnostic value of peripheral blood inflammatory indices for clinicopathological profile of colorectal cancer: A retrospective observational study. *BMC Gastroenterol.* **2025**, *25*, 127. [\[CrossRef\]](#)
73. Urbanski, G.; Hamel, J.F.; Prouveur, B.; Annweiler, C.; Ghali, A.; Cassereau, J.; Lozac'h, P.; Lavigne, C.; Lacombe, V. Strength of the association of elevated vitamin b12 and solid cancers: An adjusted case-control study. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 474. [\[CrossRef\]](#)
74. Schöner, L.; Kuklinski, D.; Geissler, A.; Busse, R.; Pross, C. A composite measure for patient-reported outcomes in orthopedic care: Design principles and validity checks. *Qual. Life Res.* **2023**, *32*, 2341–2351. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
75. Becker, W.; Saisana, M.; Paruolo, P.; Vandecasteele, I. Weights and importance in composite indicators: Closing the gap. *Ecol. Indic.* **2017**, *80*, 12–22. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Wannberg, F.; Álvez, M.B.; Qvick, A.; Pongracz, T.; Aguilera, K.; Adolfsson, E.; Essehorn, L.; Gordon, M.; Uhlén, M.; Helenius, G.; et al. Plasma protein profiling predicts cancer in patients with non-specific symptoms. *Nat. Commun.* **2025**, *17*, 151. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Wang, F.; Wang, C.; Chen, S.; Wei, C.; Ji, J.; Liu, Y.; Liang, L.; Chen, Y.; Li, X.; Zhao, L.; et al. Identification of blood-derived exosomal tumor RNA signatures as noninvasive diagnostic biomarkers for multi-cancer: A multi-phase, multi-center study. *Mol. Cancer* **2025**, *24*, 60. [\[CrossRef\]](#)
78. Yang, F.; Xu, C.; Li, C.; Xiang, X.; Zhao, Y.; Hu, C.; Rong, H.; He, Y.; Li, J.; Wang, Y.; et al. Amplification-free cancer diagnosis based on inhibition of Cas12a activity by site-specific 5mC-modified cfDNA. *Nucleic. Acids Res.* **2025**, *53*, 22. [\[CrossRef\]](#)
79. Bie, F.; Wang, Z.; Li, Y.; Guo, W.; Hong, Y.; Han, T.; Lv, F.; Yang, S.; Li, S.; Li, X.; et al. Multimodal analysis of cell-free DNA whole-methylome sequencing for cancer detection and localization. *Nat. Commun.* **2023**, *14*, 6042. [\[CrossRef\]](#)
80. Yagin, B.; Yagin, F.H.; Colak, C.; Inceoglu, F.; Kadry, S.; Kim, J. Cancer Metastasis Prediction and Genomic Biomarker Identification through Machine Learning and eXplainable Artificial Intelligence in Breast Cancer Research. *Diagnostics* **2023**, *13*, 3314. [\[CrossRef\]](#)
81. Knol, J.C.; Lyu, M.; Böttger, F.; Nunes Monteiro, M.; Pham, T.V.; Rolfs, F.; Vallés-Martí, A.; Schelfhorst, T.; Haas, R.R.d.G.-D.; Bijnsdorp, I.V.; et al. The pan-cancer proteome atlas, a mass spectrometry-based landscape for discovering tumor biology, biomarkers, and therapeutic targets. *Cancer Cell* **2025**, *43*, 1328–1346.e8. [\[CrossRef\]](#)
82. Onal Kalkan, N.; Urakci, Z.; Mermit Ercek, B.; Bilen, E.; Arvas, H.; Akkus, M.H. Clinical Utility of Pan-Immune Inflammation Value (PIV) in Predicting Prognosis of Endometrial Cancer. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 7885. [\[CrossRef\]](#)
83. Khilwani, R.; Singh, S. Leveraging Evolutionary Immunology in Interleukin-6 and Interleukin-17 Signaling for Lung Cancer Therapeutics. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **2022**, *7*, 3658–3670. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
84. Bakkerus, L.; Subtil, B.; Bontkers, H.J.; Gootjes, E.C.; Reijm, M.; Vullings, M.; Verrijp, K.; Bokhorst, J.-M.; Woortman, C.; Nagtegaal, I.D.; et al. Exploring immune status in peripheral blood and tumor tissue in association with survival in patients with multi-organ metastatic colorectal cancer. *Oncoimmunology* **2024**, *13*, 2361971. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

85. Pantel, K.; Alix-Panabières, C. Minimal residual disease as a target for liquid biopsy in patients with solid tumours. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2025**, *22*, 65–77. [[CrossRef](#)]
86. Korff, K.; Müller-Reif, J.B.; Fichtl, D.; Albrecht, V.; Schebesta, A.S.; Itang, E.C.M.; Winter, S.V.; Holdt, L.M.; Teupser, D.; Mann, M.; et al. Pre-analytical drivers of bias in bead-enriched plasma proteomics. *EMBO Mol. Med.* **2025**, *17*, 3174–3196. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Lippi, G.; Plebani, M.; Topol, E. Multi-cancer early detection revisited: Insights and lessons from the PATHFINDER 2 study. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2025**, *64*, 267–268. [[CrossRef](#)]
88. Egger, M.E.; Alexander, E.; Van Meter, T.; Kong, M.; Maung, A.A.; Valdes, R.; Hall, M.B.; Linder, M.W. Corresponding ctDNA and tumor burden dynamics in metastatic melanoma patients on systemic treatment. *Transl. Oncol.* **2024**, *42*, 101883. [[CrossRef](#)]
89. Thompson, J.C.; Scholes, D.G.; Carpenter, E.L.; Aggarwal, C. Molecular response assessment using circulating tumor DNA (ctDNA) in advanced solid tumors. *Br. J. Cancer* **2023**, *129*, 1893–1902. [[CrossRef](#)]
90. Jakobsen, A.K.M.; Spindler, K.L.G. ctDNA-Response evaluation criteria in solid tumors—A new measure in medical oncology. *Eur. J. Cancer* **2022**, *180*, 180–183. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

