



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

**Programa de Doctorado de BIOMEDICINA, INVESTIGACIÓN
TRASLACIONAL Y NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SALUD**

**Facultad de Medicina
Universidad de Málaga**

TESIS DOCTORAL

**CÓMO LAS TÉCNICAS ANESTÉSICAS Y ANALGÉSICAS
DURANTE LA CIRUGÍA DEL CÁNCER PUEDEN AFECTAR
A LOS RESULTADOS ONCOLÓGICOS POSTOPERATORIOS:
DIFERENCIAS EN LA RECIDIVA DEL
CÁNCER VESICAL INFILTRANTE**

Aída Raigón Ponferrada

Diciembre, 2020

Directores:

Inmaculada Bellido Estevez



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Aída Raigón Ponferrada

 <http://orcid.org/0000-0003-3499-5459>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Vicerrectorado Estudios de Posgrado
Servicio de Posgrado y Escuela de Doctorado

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

D./Dña AIDA RAIGÓN PONFERRADA

Estudiante del programa de doctorado BIOMEDICINA INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SALUD de la Universidad de Málaga, autor/a de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: CÓMO LAS TÉCNICAS ANESTÉSICAS Y ANALGÉSICAS DURANTE LA CIRUGÍA DEL CÁNCER PUEDEN AFECTAR A LOS RESULTADOS ONCOLÓGICOS POSTOPERATORIOS: DIFERENCIAS EN LA RECIDIVA DEL CÁNCER VESICAL INFILTRANTE.

Realizada bajo la tutorización de INMACULADA BELLIDO ESTEVEZ y dirección de INMACULADA BELLIDO ESTEVEZ (si tuviera varios directores deberá hacer constar el nombre de todos)

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 18 de ABRIL de 2020

Fdo.: AIDA RAIGÓN PONFERRADA



Edificio Pabellón de Gobierno - Campus El Fjido
29071
Tel.: 952 13 10 28 / 952 13 14 61 / 952 13 71 10
E-mail: doctorado@uma.es







UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Directora y tutora de la tesis doctoral

Inmaculada Bellido Estévez, Profesora Titular de Farmacología del Área de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga

Certifica que:

Dña. Aida Raigón Ponferrada ha realizado los trabajos correspondientes a su Tesis Doctoral titulada “**Cómo las técnicas anestésicas y analgésicas durante la cirugía del cáncer pueden afectar a los resultados oncológicos postoperatorios: diferencias en la recidiva del cáncer vesical infiltrante**”, y su preparación para su lectura y defensa bajo mi dirección y tutela, y considero que tiene el contenido y rigor científico necesarios para ser sometida a juicio del tribunal que ha nombrado la Universidad de Málaga para optar al Grado de Doctora.

Y para que así conste, firmo el presente certificado en Málaga a 18 de abril de 2020.

Directora y tutora de la tesis

Profa. Dra. Inmaculada Bellido Estevez



**A mi marido que me ha acompañado desde mis
primeros pasos en Medicina,
A mis padres que sembraron en mí la semilla de la
curiosidad y
A mi hermana con la que comparto algo más que
genes.**

“La mejor forma de predecir el futuro es creándolo”



AGRADECIMIENTOS

A José Luis Guerrero Orriach por darme la oportunidad de aprender de él, y porque sola no habría podido llegar hasta aquí, por darme las herramientas y enseñarme a usarlas.

Gracias por ser mentor, guía y amigo.

Al Servicio de Anestesiología, por su compromiso y colaboración desde el principio y a todos los compañeros que de una u otra forma han colaborado en este proyecto.

A mi familia por su eterna paciencia.

A mis amigos que además de apoyarme saben perdonar mis ausencias.



ÍNDICE

Resumen de la tesis	3
Actividades relacionadas con el desarrollo de la tesis	11
1. Introducción	15
1.1.- Estrés Quirúrgico	18
1.2.- Estrés oxidativo, inflamación y reguladores moleculares.	18
1.3.- Efecto de los agentes anestésicos sobre la función inmune y el desarrollo tumoral	19
- Anestésicos Halogenados	19
- Anestésicos Intravenosos: propofol, ketamina y tiopental	20
- Opioides	22
- AINES. Inhibidores de la COX-2	23
- Anestésicos locales	24
1.4.- Anestesia e implicaciones genéticas	25
2. Hipótesis de trabajo y objetivos	29
3. Objetivos	35
4. Material y métodos	39
4.1.- Objetivo 1. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica	41
4.2.- Objetivo 2. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical	41
4.2.1. Consideraciones éticas	42
4.2.2. Diseño del estudio	42
4.2.3. Población y Criterios de inclusión y de exclusión	42
4.2.4. Variables recogidas	44
4.2.5. Análisis estadístico	46
4.3.- Objetivo 3. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer	47
5. Resultados y discusión	49
5.1. Discusión general	51
5.2. Objetivo 1. Resultados y discusión. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica	51
5.2.1. Papel de la respuesta inmune perioperatoria en la recidiva oncológica	51
5.2.2. Efectos de la anestesia sobre la progresión oncológica	55
5.2.3. Fármacos anestésicos y recidiva oncológica	55

5.2.4. Evidencias en cirugía oncológica urológica	62
5.3. Objetivo 2. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical	65
5.3.1. Análisis de la literatura	65
5.3.2. Análisis de los resultados del ensayo clínico prospectivo	67
5.4. Objetivo 3. Resultados y discusión. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer, como el cáncer de mama	76
5.4.1. Situación actual sobre la relación de la técnica anestésica e influencia en la recidiva del cáncer de mama	76
6. Limitaciones del Estudio	78
7. Conclusiones	79
8. Siglas	85
9. Bibliografía	89
10. Publicaciones que avalan la tesis	10 7

RESUMEN DE LA TESIS

El cáncer sigue siendo una causa clave de morbimortalidad en todo el mundo y su incidencia general continúa aumentando. La principal causa de muerte en pacientes oncológicos es la recidiva tumoral. La cirugía es la base del tratamiento para muchos tumores, sin embargo, la cirugía oncológica en sí misma se asocia con la liberación de células tumorales a la circulación sistémica. Se sospecha que el stress quirúrgico y varios factores perioperatorios pueden acelerar el crecimiento tumoral y aumentar potencialmente el riesgo de recurrencia metastásica.

Los estudios preclínicos y clínicos sugieren que los anestésicos y adyuvantes administrados en el período perioperatorio pueden afectar la recurrencia y supervivencia del cáncer.

El período perioperatorio es un momento crítico durante el cual puede ocurrir la promoción de progresión del cáncer o formación de metástasis a través de la liberación de células oncológicas en el momento de la cirugía, supresión de la respuesta inmune antitumoral, y a través de estimulación directa sobre las células tumorales [1-3].

La recurrencia del cáncer es una preocupación principal en los pacientes oncológicos que sigue sin resolverse. Existe una creciente conciencia de que las diferentes técnicas anestésicas y analgésicas pueden afectar a los resultados después de la cirugía oncológica, generalmente a través de la modificación de los efectos sobre el sistema inmune, pero potencialmente a través de otros mecanismos, incluida la mitigación de la respuesta inflamatoria al estrés quirúrgico.

En la literatura urológica, varios estudios retrospectivos han examinado la influencia de la técnica anestésica y sobre los resultados oncológica [4-8]. En ellos, el acto anestésico se ha relacionado con la disfunción de múltiples mecanismos celulares de control de la diseminación tumoral, como son las células NK (Natural Killer), linfocitos o macrófagos. El uso de opiáceos y la estimulación sobre el receptor μ (MOR) parece tener una posible relación con un aumento de la recidiva oncológica; ya que estos fármacos disminuyen la respuesta de la inmunidad celular y humoral [9,10].

Se cree que la anestesia regional mejora la respuesta oncoinmunológica a través del uso disminuido de anestésicos volátiles y opioides, disminución de la activación de respuesta al estrés quirúrgico, y un efecto antiinflamatorio mediado por anestésico local directo. La asociación más fuerte del tipo de anestésico y el resultado parece ser en los NMIBC, donde la anestesia regional presenta una menor tasa de recurrencia y mayor tiempo libre de enfermedad [11,12].

El tratamiento del dolor con anestésicos locales en vez de opiáceos, también se ha visto asociado con un efecto antineoplásico; el uso de la anestesia neuroaxial favorece la función de las células NK y dificulta la diseminación tumoral. La causa por la que la administración de los anestésicos locales y la anestesia neuroaxial parece disminuir la recidiva tumoral y el tiempo libre de enfermedad, puede deberse a una disminución de la respuesta de estrés quirúrgico, del consumo de opiáceos y el efecto sobre las endorfinas endógenas.

El dolor suprime la actividad de las células NK. Se ha demostrado que un adecuado manejo del mismo conserva la actividad antitumoral de este grupo celular en modelos animales. El dolor activa el eje hipotalámico-hipófiso-suprarrenal (HPA) y activa al sistema nervioso simpático, favoreciendo la inmunosupresión a través de los receptores adrenérgicos beta de las células NK. El bloqueo simpático, atenúa la respuesta inmunosupresora de estrés a la cirugía, por lo que la anestesia espinal preserva la función de las células NK y TH1 / TH2 [13,14].

En cuanto al uso de agentes hipnóticos, los anestésicos volátiles parecen favorecer mecanismos como la mitogénesis y angiogénesis, que favorecen el desarrollo de metástasis y tumores [15]. El isoflurano se ha asociado con un aumento de la proliferación tumoral, y de la angiogénesis oncológica en comparación con el uso de propofol como hipnótico. Uno de los mecanismos propuestos como responsable de esta acción por parte de los agentes halogenados es el aumento del factor inducible de hipoxia (HIF), favorecedor de la diseminación tumoral [16].

El cáncer de vejiga (BCa) es uno de los tumores de mayor frecuencia y gravedad en la actualidad [17]. Es el cuarto en importancia en varones con un 7% del total de los

tumores. La cistectomía radical con resección de ganglios linfáticos pélvicos es el tratamiento estándar para pacientes con cáncer de vejiga infiltrante no metastásico (cT2-T4a, cN0-Nx, M0) y de alto riesgo [18]. A pesar del tratamiento quirúrgico radical, la supervivencia media es de 5 años [19]; los estadios avanzados del mismo se asocian con una supervivencia al año de un 5%; y las recidivas oncológicas en pacientes sin enfermedad metastásica clínicamente demostrada, se atribuyen fundamentalmente a la presencia de micrometástasis que permanecen sin diagnosticar en el momento de la cirugía [20].

Los mecanismos celulares responsables de estos fenómenos se han visto relacionados con un grupo de macrófagos asociados a tumores (TAM), los cuales pueden ser inducidos por el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interferón- γ (IF- γ), interleucina (IL) -1 β , IL-6, IL-23, y muestran una acción inhibitoria en la iniciación y / o progresión del BCa [21]; también se correlacionan con las células T reguladoras (Tregs) que facilitan la progresión tumoral al suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales [22], y con las células asesinas naturales (NK) que desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmune innata contra células oncológicas. Entre los posibles factores relacionados con la recidiva tumoral destaca la cirugía, el estrés quirúrgico y la anestesia, los cuales desarrollan sobre estas células una disminución de su actividad.

La manipulación quirúrgica da lugar a una liberación sistémica significativa de células tumorales. El hecho de que dichas células causen metástasis depende en gran parte del equilibrio entre la agresividad del tumor y la adaptabilidad del organismo. Distintos trabajos han demostrado que la cirugía disminuye la actividad de linfocitos T, B, y NK en el postoperatorio, favoreciendo la progresión tumoral. El estrés quirúrgico se relaciona con una elevación de distintas interleuquinas (IL), que participan en la progresión del cáncer. El incremento de IL-6 está relacionado con la angiogénesis y la progresión de BCa [23], la IL-8 se correlaciona con la recurrencia tumoral [24], y el TNF- α se ha visto relacionado con la evolución y diseminación tumoral.

Los fármacos anestésicos han sido objeto de estudio en múltiples procesos oncológicos, variando la recidiva de este tipo de tumores el tipo de fármaco hipnótico utilizado durante el intraoperatorio, así como las distintas técnicas analgésicas perioperatorias.

Durante el procedimiento anestésico, la administración de opioides se ha relacionado con una disminución en el número y actividad de las células NK, la producción de citocinas inmunoestimulantes como el interferón gamma, y la IL-2, menor proliferación y activación linfocitaria T y una menor producción de anticuerpos. Además, los opioides favorecen los procesos angiogénicos al activar, entre otras, las vías de señalización de ciclooxigenasa-2 [25]. La anestesia regional puede evitar los efectos inmunosupresores y procancerígenos directos de medicamentos sistémicos, a la vez puede reducir los efectos inmunosupresores quirúrgicos a través del mantenimiento de la función de las células NK y la disminución de la respuesta al estrés quirúrgico.

Ante la evidencia sobre los efectos pro-oncogénicos de los opioides, parece probable que la administración de opiáceos durante la cirugía oncológica, puede favorecer la diseminación tumoral. Además, el uso de hipnóticos halogenados se ha relacionado con una mayor recidiva tumoral en comparación con el uso de hipnóticos intravenosos como propofol [26]. Si bien cada línea tumoral podría tener una respuesta distinta a la exposición a los distintos fármacos anestésicos [27].

Actualmente no existe ningún trabajo que relacione el cáncer de vejiga, y su recidiva con la técnica anestésica.

Nuestra hipótesis plantea que, si existen variaciones en el tiempo de recidiva metastásica dependiendo de la técnica anestésica empleada, aumentando el periodo libre de recidiva, es necesario determinar cuál es la técnica anestésica que más retrasa la aparición de recidivas en este tipo de cáncer y por tanto, mejora la evolución del paciente e incrementa su posibilidad de supervivencia.

Iniciamos esta línea de estudio comparando la influencia del uso de técnicas combinadas (anestesia general intravenosa + epidural) con la anestesia general balanceada en la duración de periodo libre de recidivas y la supervivencia en el cáncer de vejiga. Y, para ello, hemos estudiado todos los casos de cistectomía radical seguidos en los últimos 10 años de nuestro centro, centro especializado en la cirugía de este tipo

de patología, con la intención de determinar si, realmente, existe relación entre la técnica anestésica intraoperatoria y el número de días libres de enfermedad.

Nuestros objetivos son:

1. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica.
2. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical, analizando la relación entre los agentes anestésicos usados y la incidencia de recidivas oncológicas (número de días libres de enfermedad) y la supervivencia.
3. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer como el de mama.

Hemos realizado una revisión bibliográfica sobre el efecto de los agentes anestésicos en la recidiva (días libres de enfermedad) y supervivencia de los pacientes con cáncer, especialmente de vejiga y de mama y sometidos a cirugía de exéresis del tumor. Y hemos desarrollado un ensayo clínico comparando el efecto de la anestesia general combinada con anestesia locorregional y frente a la anestesia general balanceada con opiáceos intravenosos, en ambos casos, con propofol o con sevoflurano como hipnóticos, en la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con cáncer de vejiga sometidos a cistectomía radical.

Concluimos que nuestro trabajo confirma el incremento del número de días libres de enfermedad (reducción de las recidivas) y de la supervivencia en los pacientes con cáncer vesical infiltrante, en los que se realizó una cistectomía radical, como técnica quirúrgica, y una anestesia combinada con el uso de propofol como agente hipnótico, y un anestésico local como fármaco analgésico frente a los que se usó sevoflurano como anestésico y los opiáceos intravasculares para su manejo perioperatorio.

Y que, aunque se precisa de estudios clínicos de calidad capaces de demostrar con evidencias clínicas claras, todos estos puntos, parece que los anestésicos inhalatorios y opiáceos podrían favorecer la recurrencia y progresión del cáncer porque:

Los agentes anestésicos inhalatorios como halotano, isoflurano, enflurano y desflurano se asocian con una mayor expresión de marcadores tumorales, proliferación y la migración de células cancerígenas y un aumento en la incidencia de metástasis tumorales en melanoma y cáncer de pulmón debido al aumento de la concentración de VEGF y de metaloproteinasas de la matriz, y a la secreción de factores inducibles por hipoxia relacionados con la angiogénesis, crecimiento y recidiva tumoral.

La administración aguda de dosis altas de opioides en el contexto quirúrgico puede favorecer la diseminación tumoral en los casos de cirugía oncológica al inhibir la respuesta inmune y reducir el uso de analgésicos opioides se relaciona con la recidiva oncológica.

Mientras que Propofol y Lidocaína son los agentes anestésicos que podrían reducir la recurrencia y progresión del cáncer porque: Propofol, parece inhibir las citocinas inflamatorias y preserva la actividad Nk. Y, además, asociado a remifentanilo (IV) reduce en mayor proporción los factores relacionados con el crecimiento y migración tumoral y la respuesta inflamatoria que la asociación remifentanilo + isoflurano.

Lidocaína podría inhibir el receptor del factor de crecimiento epidérmico (receptor de tirosin quinasa esencial para la proliferación y diferenciación de células epiteliales), y desmetilar el ADN en las células del cáncer de mama, hechos asociados la activación de genes supresores oncológicos y a la disminución de la progresión del tumor.

Bibliografía

- 1.- Kurosawa S. Anesthesia in patients with cáncer disorders. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2012;25(3):376–84.
- 2.- Hussain M, Javeed A, Ashraf M, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, tumour immunity and immunotherapy. *Pharmacol Res.* 2012;66(1):7–18.
- 3.- Cassinello F, Prieto I, del Olmo M, Rivas S, Strichartz GR. cáncer surgery: how may anesthesia influence outcome? *J Clin Anesth.* 2017(3):265;22–72.
- 4.- Lee BM, Singh Ghotra V, Karam JA, Hernandez M, Pratt G, Cata JP. Regional anesthesia/analgesia and the risk of cáncer recurrence and mortality after prostatectomy: a meta-analysis. *Pain Manag.* 2015;5 (5):387–95.
- 5.- -Lusty AJ, Hosier GW, Koti M, Chenard S, Mizubuti GB, Jaeger M, et al. Anesthetic technique and oncological outcomes in urology: A clinical practice review. *Urol Oncol.* 2019;37(12):845-852.
- 6.- Chipollini J, Alford B, Boulware DC, Forget P, Gilbert SM, Lockhart JL, et al. Epidural anesthesia and cáncer outcomes in bladder cáncer patients: is it the technique or the medication? A matched-cohort analysis from a tertiary referral center. *BMC Anesthesiol.* 2018;18(1):157.
- 7.- Jang D, Lim CS, Shin YS, Ko YK, Park SI, Song SH, Kim BJ. A comparison of regional and general anesthesia effects on 5 year survival and cáncer recurrence after transurethral resection of the bladder tumor: a retrospective analysis. *BMC Anesthesiol.* 2016;16:16.
- 8.- Choi W-J, Baek S, Joo E-Y, Yoon S-H, Kim E, Hong B, et al. Comparison of the effect of spinal anesthesia and general anesthesia on 5- year tumor recurrence rates after transurethral resection of bladder tumors. *Oncotarget [Internet]. Impact Journals, LLC;* 2017 [cited 2018 Nov 25];8(50):87667–74.
- 9.- Kavanagh T and Buggy DJ: Can anaesthetic technique affect postoperative outcome? *Curr Opinión Anesthesiology.* 2012;25: 185- 198.
- 10.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival -promoting signaling and promotes breast tumor growth. *cáncer Res.* 2002; 62:4491-8.

- 11.- Koumpan Y, Jaeger M, Mizubuti GB, et al. Spinal anesthesia is associated with lower recurrence rates after resection of nonmuscle invasive bladder cancer. *J Urol*. 2018;199(4):940–6.
- 12.- Avril J, Lusty, Gregory W, Hosier, Madhuri Koti, Stephen Chenard, Glenio B, Mizubuti. Anesthetic technique and oncological outcomes in urology: A clinical practice review. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 37. 2019;845–852.
- 13.- Wada H, Seki S, Takahashi T, et al. Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving TH1/TH2 cytokine balance. *Anesthesiology*. 2007;106: 499–506.
- 14.- Stollings LM, Jia LJ, Tang P, Dou H, Lu B, Xu Y. Immune modulation by volatile anesthetics. *Anesthesiology*. 2016;125(2):399–411.
- 15.- Tavaré AN, Perry NJ, Benzonana LL, Takata M, Ma D. cáncer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J Cancer*. 2012;130(6):1237-50.
- 16.- Müller-Edenborn B, Roth-Z'graggen B, Bartnicka K, Borgeat A, et al. Volatile anesthetics reduce invasión of colorectal cáncer cells through down-regulation of matrix metalloproteinase-9. *Anesthesiology*. 2012;117(2):293-301.
- 17.- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. cáncer statistics. *CA cáncer J Clin*. 2016; 66:7-30.
- 18.- Alfred Witjes J, Lebrecht T, Compérat EM, et al. Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2016.
- 19.- Ploussard G, Shariat SF, Dragomir A, et al. Conditional survival after radical cystectomy for bladder cancer: evidence for a patient changing risk profile over time. *Eur Urol*. 2014;66:361-70.
- 20.- Bruins HM, Veskimäe E, Hernandez V, et al. The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol*. 2014;66:1065-77.
- 21.- Rodríguez D, Silvera R, Carrio R, Nadji M, et al. Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-associated macrophages are two very different subpopulations. *Cell Immunol*. 2013; 283:51-60.
- 22.- Chen X, Du Y, Lin X, Qian Y, Zhou T, Huang Z. CD4+CD25+ regulatory T cells in tumor immunity. *Int Immunopharmacol*. 2016; 34:244-249.

- 23.- Chen MF, Lin PY, Wu CF, Chen WC, Wu CT. IL-6 expression regulates tumorigenicity and correlates with prognosis in bladder cancer. *PLoS One*. 2013; 8:e61901.
- 24.- Reis ST, Leite KR, Piovesan LF, Pontes-Junior J, et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer. *BMC Urol*. 2012; 12:18.
- 25.- Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariev B et al. Overexpression of the mu-opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes AKT and mTOR activation, tumor growth and metastasis. *Anaesthesiology*. 2012;116(4):857-67.
- 26.- A. Buckley, S. McQuaid, P. Johnson, D. J. Buggy. Effect of anaesthetic technique on the natural killer cell anti- tumour activity of serum from women undergoing breast cancer surgery: a pilot study *British Journal of Anaesthesia*. 2014.113 (S1):i56–i62.
- 27.- Forget P, Collet V, Lavand’homme P, De Kock M. Does analgesia and condition influence immunity after surgery? Effects of fentanyl, ketamine and clonidine on natural killer activity at different ages. *Eur J Anaesthesiol*. 2010; 27: 233–40.

ACTIVIDADES RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DE LA TESIS

PUBLICACIONES

1. **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L, Baena López M, Malo Manso A, Fernandez Ramirez A, Ramirez Fernandez M, Loras P, Gallego M, Bermudez L, Biteri A, Fontaneda A, Gil E, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. The effects of the Anesthetic agents on the oncologic progression. Review of literature. *SF J Surg.* 2017; 1:1
2. Malo-Manso A, **Raigon-Ponferrada A**, Diaz-Crespo J, Escalona-Belmonte JJ, Cruz-Mañas J, Guerrero-Orriach JL. Opioid Free Anaesthesia and Cancer. *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):3011-3019. doi: 10.2174/1381612825666190705183754.
3. **Raigon-Ponferrada A**, Recio MED, Guerrero-Orriach JL, Malo-Manso A, Escalona-Belmonte JJ, Aliaga MR, Fernández AR, García FJF, Conejo EA, Cruz-Mañas J. Breast Cancer and Anesthesia. *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):2998-3004. doi: 10.2174/1381612825666190712183436.
4. Orriach JLG, **Raigon-Ponferrada A**, Buggy DJ. Can Anaesthesia and Analgesia. Interventions During Cáncer Surgery Influence Recurrence or Metástasis? *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):2997. doi: 10.2174/138161282528191007155536.
5. Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Herrera Imbroda B, Escalona Belmonte JJ, Ramirez Aliaga M, Ramirez Fernandez A, Diaz Crespo J, Soriano Perez AM, Fontaneda Heredia A, Dominguez Recio ME, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia. *Oncology.* 2020;98(3):161-167. doi: 10.1159/000504807.

6. **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L. Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia – Beyond The Abstract. UroToday. <https://www.urotoday.com/recent-abstracts/urologic-oncology/bladdercancer/119934-anesthesia-in-combination-with-propofol-increases-disease-free-survival-in-bladder-cancer-patients-who-undergo-radical-tumor-cystectomy-as-compared-to-inhalational-anesthetics-and-opiate-based-analgesia-beyond-the-abstract.html>
7. **Raigon Ponferrada A**, Guerrero Orriach JL, Malo Manso A, Sepúlveda Haro E, Romero Molina S, Fontaneda Heredia A, Baena Lopez M, Cruz Mañas J. Anaesthesia and cancer: can anaesthetic drugs modify gene expression? *ecancer* 2020, 14:1080; www.ecancer.org; DOI: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1080>
8. Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Romero Molina S, Cruz Mañas J. Anaesthesia miRNA 145: The new cornerstone in oncologic therapy. Anesthetics implications. *Journal Current Pharmaceutical Design*. (Preceptado)

COMUNICACIONES A CONGRESOS

1. Ponente en la 64^a Reunión Anual de la Asociación Andaluza-Extremeña de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor. Mesa De Controversia Anestesia y su posible relación con el cancer.

OTRAS ACTIVIDADES RELACIONADAS

Estancia Internacional

Desarrollo de un Short-term Scientific Missions (STSM) durante un mes completo, realizado en el Mater Misericordiae University Hospital, Dublin. Trabajo tutorizado por Dr. Buggy, Donal J. Supervisado por Cost Action: European Cooperati3n in Science and Technology.

Estancia Nacional

Colaboradora en el estudio del papel del estrés oxidativo en situaciones de neurodegeneración y cáncer. Instituto de Biología y Genética Molecular de Valladolid. (160 horas).

Participación en Proyectos Competitivos

1. Co-Investigadora Principal en el siguiente estudio independiente: Variaciones del miRNA-145 dependiente del regimen anestésico intraoperatorio en cirugía laparoscópica de prostatectomía radical por cáncer de prostata. IP: Guerrero Orriach JL
2. Co-Investigadora Principal en el siguiente estudio independiente: Anaesthesia in combinación with propofol increases disease-free survival in bladder cáncer patients who undergo radical tumor cystectomy as compared to inhalatory anaesthetics and opiate-based analgesia. IP: Guerrero Orriach JL.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados, siendo las metástasis las principales responsables de estos fallecimientos [1]. La cirugía es uno de los factores relacionados con la diseminación metastásica a distancia ya que puede facilitar la liberación al torrente sanguíneo de células cancerosas durante la manipulación tumoral. Otro factor relacionado con la diseminación tumoral es la respuesta inflamatoria sistémica relacionada con el stress quirúrgico perioperatorio. Por lo tanto, la cirugía cumple con dos factores que se relacionan con la progresión metastásica: la presencia de células cancerígenas con posibilidad de diseminación y la existencia de un microambiente adecuado para el crecimiento de estas células. Dentro de los factores perioperatorios que podrían modificar la progresión metastásica de la célula tumoral se encuentra la técnica anestésica [2].

La técnica anestésica puede influir en las respuestas neuroendocrinas e inmunes del paciente durante la cirugía. El estrés quirúrgico puede suprimir la respuesta inmune antitumoral y estimular el eje hipotálamo-pituitario-adrenal, que, junto con la activación del sistema nervioso simpático, también regulan la respuesta inmune. La activación del eje HPA y SNS suprime la inmunidad celular (CMI) y la liberación de catecolaminas y prostaglandina E2 (PGE2) [3]. Estos factores, a su vez, aumentan la secreción de citoquinas inmunosupresoras como IL-4, IL-10, factor de crecimiento transformante beta [TGF- β], factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF]; y citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-8, que promueven la angiogénesis tumoral y favorecen el desarrollo de metástasis [4].

Los agentes anestésicos varían en su capacidad para inducir inmunomodulación y potenciación de los factores de crecimiento tumorales. Los opioides tanto pre- como postoperatorios, pueden inhibir la respuesta inmunitaria humoral y tener un efecto proangiogénico promoviendo el crecimiento de células tumorales [5,6].

Por otro lado, la anestesia regional preserva la CMI y disminuye la respuesta neuroendocrina inducida por la cirugía, atenuando la activación aferente de la transmisión neural del eje HPA y respuesta de SNS. Las técnicas anestésicas regionales se han asociado con menor tasa de recurrencia oncológica [7,8].

A continuación, resumiremos los últimos hallazgos sobre el papel de la cirugía y la anestesia en distintos aspectos de la recidiva tumoral.

1.1.- Estrés Quirúrgico

La cirugía sigue siendo el tratamiento principal para la mayoría de pacientes oncológicos, sin embargo, el estrés quirúrgico produce supresión inmune, permite la adhesión de las células tumorales, aumenta la liberación de metaloproteinasas y VEGF; estos factores aumentan la motilidad y la invasividad de las células cancerosas, incrementan la neovascularización, promueven la progresión del cáncer y la formación de metástasis.

La primera línea contra el desarrollo de tumores primarios y metástasis son las células natural-killers (NK) [9]. Los cambios en la actividad de las células NK dependen tanto de la intensidad del tratamiento quirúrgico como de la magnitud de la respuesta del organismo al estrés que activa el eje HPA y al SNS incrementando la liberación de catecolaminas y prostaglandinas [10]. Clínicamente, la cirugía disminuye la circulación NK y linfocitos T, a través de la inducción de apoptosis celular. El estrés quirúrgico aumenta los linfocitos Th2 y disminuye las células Th1, lo que disminuye la proporción Th1 / Th2, que finalmente, suprime CMI [11]. Además, se produce un descenso en los niveles de citoquinas inmunomoduladoras como IL-2, IL-12 e interferón- γ (IFN- γ), mientras que las citocinas antiinflamatorias tales como IL-10 se incrementan [12].

1.2.- Estrés oxidativo, inflamación y reguladores moleculares.

Dentro de los factores que influyen en el desarrollo, crecimiento y diseminación metastásica de tumores malignos, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria se encuentran entre los más importantes.

El estrés oxidativo de las células tumorales puede ser inducido por la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) debido a la baja regulación de la NADPH-oxidasa [13]. También puede ser inducida por la sobreexpresión de timidina fosforilasa que se ve en la mayoría de carcinomas [14].

Un tumor rápidamente supera su suministro de sangre, lo que lleva a la privación de glucosa e hipoxia. La carencia de glucosa induce estrés oxidativo que agota el piruvato intracelular de la célula oncológica, previniendo la descomposición de radicales endógenos de oxígeno [15]. Los radicales de oxígeno dañan el ADN, causando roturas de filamentos, alteraciones en bases de guanina, en bases de timina e intercambio de cromátida hermana. Esta inestabilidad genética debida al estrés oxidativo celular aumenta el potencial maligno del tumor. Además, el estrés oxidativo puede activar varios factores de transcripción, incluyendo NK-B, AP-1, p53 y HIF-1 α [16].

La expresión de HIF en las células tumorales promueve la proliferación celular e induce la secreción de factores angiogénicos, incluidos VEGF y angiopoyetina 2. Por lo tanto, la hipoxia está fuertemente asociada con la progresión tumoral y la diseminación metastásica [17]. En una revisión exhaustiva, Tavare et al. describió el efecto directo de los anestésicos sobre HIF-1 que está regulado al alza por anestésicos inhalados e inhibidos por propofol [18].

El estrés oxidativo y la inflamación están interrelacionados. El estrés oxidativo activa vías inflamatorias que conducen a la transformación de una célula normal a una célula tumoral, y potencia su supervivencia, proliferación, quimiorresistencia, radiorresistencia, capacidad de invasión, angiogénesis y supervivencia respecto a las células madre [19].

1.3.- Efecto de los agentes anestésicos sobre la función inmune y el desarrollo tumoral.

- Anestésicos Halogenados

Los estudios muestran que los anestésicos halogenados suprimen la actividad del sistema inmunitario. El impacto sobre la actividad de las células NK y los linfocitos T es dependiente de la dosis y del tiempo de exposición [20]. Los anestésicos volátiles también inhiben varias funciones linfocitarias como la proliferación y producción de citoquinas [21].

Se ha demostrado que el sevoflurano aumenta los niveles de citocinas pro-tumorales y MMP [22]. El isoflurano atenúa la actividad de las células NK, induce la apoptosis de linfocitos T y linfocitos B, y disminuye la relación Th1 / Th2 [23]. La exposición a sevoflurano, pero no a anestesia intravenosa total (TIVA), incrementa los niveles de proteínas como HIF-2 α citoplásmico y p38 nuclear, ambas relacionadas con un peor pronóstico en pacientes oncológicos [24].

El halotano disminuye la actividad de las células NK y aumenta la expresión del factor inducible por hipoxia 1 α (HIF-1 α) [25]. Por el contrario, la activación de HIF-1 α inducida por isoflurano es evitado por el propofol, lo que se asocia con una reducción parcial de las actividades malignas por las células cancerosas [26]. El isoflurano se asocia con niveles aumentados de HIF-1 α y aumento de la proliferación y migración de células oncológicas. El sevoflurano induce apoptosis en los linfocitos T y aumenta la expresión de HIF-1 α [27].

El isoflurano aumenta la malignidad de las células tumorales a través de la regulación positiva del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) -1 y su receptor IGF-1R, así como VEGF, angiopoyetina-1, MMP-2 y MMP-9. Además, la exposición al isoflurano conduce a resistencia apoptótica en células a través de un mecanismo dependiente de caveolina-1 [28].

El óxido nitroso (N₂O) altera la síntesis de ADN, purina y timidilato, que en sí mismo puede causar oncogénesis [29]. Un modelo in vivo ha demostrado que N₂O suprime la quimiotaxis, que puede ser el estimulador más potente de desarrollo de metástasis hepáticas y pulmonares posquirúrgicas [30].

- Anestésicos intravenosos; propofol, ketamina y tiopental

Los hipnóticos intravenosos producen múltiples efectos sobre los componentes del sistema inmunitario. A diferencia del propofol, la ketamina y el tiopental suprimen la actividad de las células NK [31]. Mientras que la ketamina induce apoptosis linfocitaria a través de una vía mitocondrial e inhibe la maduración funcional de las células dendríticas, el tiopental protege a los linfocitos T contra la apoptosis a través de la inducción de proteínas de choque térmico [32].

La ketamina disminuye la producción de citoquinas proinflamatorias tales como IL-6 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α); mientras que el tiopental inhibe la función de neutrófilos y suprime activación del factor nuclear kappa B (NF- κ B). Este NF- κ B se asocia con inhibición de la actividad del gen informador dirigido por NF- κ B, que incluye la activación de linfocitos T, así como secreción de IL-2, IL-6, IL-8 y sobreexpresión de IFN- γ [33].

El propofol parece exhibir un perfil diferente, ya que ejerce efectos protectores a través de diversos mecanismos, incluyendo un efecto antiinflamatorio, inhibición de COX-2 y reducción de PGE-2, aumenta la actividad CTL, y disminuye citocinas pro-inflamatorias [34]. El propofol no afecta a la proporción Th1 / Th2 [35] y presenta una débil unión al adrenoceptor β , ejerciendo un efecto betabloqueante que mejora la inmunidad antitumoral y preserva la función de las células NK [36]. Los pacientes que reciben β bloqueantes perioperatorios tienen una menor tasa de recurrencia de metástasis cáncer postoperatorio. [37].

Conjugados de propofol (propofol-docosahexaenoato y propofol-eicosapentaenoato) han demostrado que inhiben la adhesión y migración celular e inducen apoptosis en células tumorales [38]; el propofol reduce la concentración de citocinas (IL-1, TNF- α e IL-6) y estimula la secreción de óxido nítrico por neutrófilos [39]. Se encontró clínicamente relevante que las concentraciones de propofol (1–5 mg/ml) disminuyeron la capacidad de invasión de las células cancerosas. Además, la infusión continua de propofol inhibe el desarrollo de metástasis pulmonares.

Wigmore y col. [40] analizaron retrospectivamente la supervivencia a largo plazo para pacientes sometidos a anestesia general con halogenados versus anestesia general total IV para cirugía oncológica, concluyeron que existe una asociación entre el tipo de anestesia y supervivencia, siendo superior en el grupo tratado con TIVA. Enlund y col. [41] trabajando con esta hipótesis observaron que la supervivencia al año para pacientes operados de cáncer fue casi un 10% mayor después de la anestesia con propofol.

En contraste con estos hallazgos, un estudio retrospectivo reciente en pacientes con cáncer de pulmón no encontró ningún beneficio en el resultado después de TIVA en comparación con la anestesia por inhalación [42].

- Opioides

Los analgésicos opioides pueden afectar al desarrollo tumoral a través de la modulación de la proliferación y apoptosis celular.

La morfina suprime la actividad de las células NK y la diferenciación de las células T, promueve la apoptosis linfocitaria y disminuye toll-like receptor 4 (TLR4) expresados en la membrana de los macrófagos [43]. Asimismo, el fentanilo y el sufentanilo disminuyen la actividad de las células NK pero aumentan las células T reguladoras.

La morfina estimula la proliferación y angiogénesis de células endoteliales activando la fosforilación de MAPK / ERK [44,45] a través de receptores de proteína G acoplados a Gi / Go.

La promoción del crecimiento tumoral está mediada por AKT y señalización extracelular mediada por señal (ERK), mientras que los efectos promotores de la apoptosis celular están mediados a través de la inhibición de NF- κ B, aumento de la expresión de Fas, Estabilización de p53, activación de p38 y terminal c-jun-N quinasa (JNK) [46]. Los efectos incluyen la inhibición de la apoptosis a través de Activación de AKT y promoción de la progresión del ciclo celular a través del aumento de ciclina D1 [47].

El sufentanilo también inhibe la migración de leucocitos [48]. El alfentanilo disminuye la actividad de las células NK, y el remifentanilo suprime la actividad de las células NK y la proliferación de linfocitos en un modelo in vitro [49]. El fentanilo ha demostrado efectos antitumorales en células de cáncer colorrectal in vitro. Su uso está asociado con disminución de la migración e invasión de células tumorales por inhibición de la regulación negativa de la transformación E26-secuencia específica-1 en serina / treonina quinasa proteína quinasa B-raf (BRAF) - lncRNA activado [50].

Es probable que la proliferación celular inducida por opioides dependa de la concentración de opioides o duración de la exposición. Se produce estímulo del crecimiento tumoral con bajas concentraciones o dosis únicas de opioides, mientras que la inhibición del crecimiento ocurre con la exposición crónica a los opioides o a concentraciones de fármaco relativamente altas [51]. Adicionalmente, se ha demostrado que la morfina inhibe la expresión y secreción de MMP-2 y MMP-9 en células de cáncer de mama, dependiente del tiempo y de la concentración.

Otro estudio ha demostrado que fentanilo inhibe el crecimiento tumoral y la invasión celular en cáncer colorrectal mediante la regulación negativa de miR-182 y MMP-9 expresión utilizando β -catenina. Un estudio reciente mostró que el sufentanilo no afecta a la tasa de apoptosis celular ni a la distribución del ciclo de las células de cáncer de colon y pancreático en concentraciones clínicas in vitro. Esta actividad de MMP no es reversible con naloxona, lo que indica que la atenuación de la secreción de MMP por la morfina no es mediado por receptores opioides [52].

La sobreexpresión del receptor opioide μ (MOR), promueve el crecimiento tumoral y desarrollo de metástasis en varios tipos de células oncológicas [53]. La activación de AKT y mTOR se asocia a proliferación celular, y la capacidad de migración y a su vez, están relacionados con la sobreexpresión de MOR [54].

El tratamiento con metilnaltrexona (MNTX), un antagonista opioide, inhibe la invasión y el anclaje de células tumorales, mientras que la infusión continua de MNTX disminuye el crecimiento tumoral primario y formación de metástasis pulmón. Clínicamente, el tratamiento con MNTX se asocia con una mayor supervivencia general en pacientes con cáncer avanzado; este hallazgo apoya la hipótesis de que el receptor MOR esté involucrado en la progresión tumoral [55].

En el preoperatorio y postoperatorio el tratamiento con morfina en ratas reduce significativamente los corticoesteroides inducidos por el estrés [56]. Este descubrimiento sugiere que la morfina preoperatoria puede desempeñar un papel clave en la protección contra la metástasis inducida por cirugía [57].

- AINES. Inhibidores de la COX-2

La inducción de la COX-2, que se observa con frecuencia en patología oncológica, juega un papel en la resistencia inmune. Los inhibidores de COX-2 aumentan la citotoxicidad en las NK [58], además, combinado el antagonismo β -adrenérgico, se ha demostrado que disminuye las metástasis en modelos animales [59]. Un inhibidor selectivo de la COX-2 puede suprimir la liberación de PGE2 y promover respuestas inmunes contra células oncológicas [60].

Usar medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) en la medicación preoperatoria aumenta la actividad inmune celular en el tejido oncológico [61].

La prostaglandina E2, es un factor angiogénico derivado del tumor independiente de VEGF. La producción de PGE2 se controla por la expresión de COX-2, y la inhibición

de COX-2 bloquea al VEGF que inhibe inhibir la angiogénesis, el crecimiento tumoral, y la formación de metástasis [62].

El uso de ketorolaco (AINE) se ha asociado con una reducción de cinco veces la recaída del cáncer en los primeros años después de la cirugía de mama [63].

- Anestésicos locales

Los anestésicos locales bloquean los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC) y pueden inhibir el crecimiento tumoral. La lidocaína, ropivacaína y bupivacaína, inhiben la proliferación y diferenciación celular, son citotóxicos para las células del tallo mesenquimal (MSC) in vitro, y tienen funciones clave para el crecimiento tumoral y formación metastásica de células cancerosas [64].

La lidocaína administrada localmente inhibe el receptor del factor de crecimiento (EGFR), que es un objetivo de medicamentos contra el cáncer. Un estudio que evaluó el efecto directo de los anestésicos locales demostró que lidocaína y bupivacaína inducen apoptosis en el seno células cancerosas in vitro e in vivo, lo que sugiere un potencial beneficio para la cirugía de cáncer [65]. La lidocaína y tetracaína, que inhiben las proteínas motoras de la kinesina, reducen la formación y la actividad de microtentáculos de tubulina; por lo tanto, estos medicamentos pueden tener una nueva capacidad para disminuir la diseminación metastásica en el cáncer [66].

La lidocaína produce desmetilación del ADN en células de cáncer de mama in vitro [67]. Además, la lidocaína, ropivacaína y bupivacaína reducen la proliferación celular a concentraciones de 100 μ M, causando retraso del ciclo celular o detención en la fase G0 / Fase 1-S [68].

Un estudio reciente demostró que la lidocaína tópica aumenta la actividad de las células NK contra el cáncer in vitro a través de la liberación de gránulos líticos [69]. Los estudios de ciencias básicas indican un papel alentador de los anestésicos locales en la atenuación recurrencia tumoral [70].

1.4.- Anestesia e implicaciones genéticas.

La efectividad del tratamiento tradicional contra el cáncer depende de la propia respuesta del paciente, los tratamientos que pueden aplicarse con éxito para algunos pacientes pueden no ser efectivo para otros. Un enfoque emergente, conocido como medicina de precisión, se basa en el conocimiento del individuo desde el enfoque de la variabilidad genética y perfiles epigenéticos [71]. Esta teoría asume que una enfermedad es causada por genes o vías moleculares específicas.

Los cánceres están estrechamente asociados con las variaciones en los genes y las vías de señalización celulares. Identificar objetivos terapéuticos específicos en las células tumorales, que no afecten negativamente a las células normales, es un desafío considerable. El concepto tradicional de función genética en biología molecular es el dogma central que explica que los genes codifican proteínas (DNA → mRNA → proteína). Sin embargo, menos del 2% del genoma de los mamíferos codifica proteínas, por lo que > 90% representa ARN no codificante (ncRNA) [72].

La evidencia ha demostrado la importancia de los ncRNAs en la regulación de múltiples funciones biológicas; controlan el desarrollo, la diferenciación, el metabolismo, el crecimiento celular y la progresión tumoral [73]. En general, los ncRNA se clasifican en dos grupos según la longitud, designados como ncRNA pequeños y ARN de transferencia (tRNA) pequeños incluyen microRNA (miRNA), ARN de transferencia (tRNA) y algunas transcripciones de ARN ribosómico. Los patrones de interacción entre lncRNAs y miRNAs parecen ser eventos cruciales en la progresión del cáncer.

Los datos emergentes respaldan la participación de los lncRNA en la comunicación tumor-estroma, un evento potencialmente importante en la progresión del cáncer.

Recientemente, Sang et al. [74] demostró que lncRNA participa en la activación de la quinasa dependiente de calcio (CamK-A), que se encuentra sobreactivada en varios tipos de cáncer e involucrado en la regulación del microambiente tumoral mediante la

activación de calcio (Ca^{2+}), promoviendo el reclutamiento de macrófagos, la angiogénesis y la progresión del cáncer.

Se han identificado miRNAs en fluidos biológicos como orina y sangre [75], que actúan como biomarcadores potenciales en el diagnóstico y pronóstico de patología tumoral. Más recientemente, los lncRNA se han destacado como posibles biomarcadores y objetivos de medicina de precisión en cáncer debido a sus patrones de expresión específicos la célula tumoral [76].

Además, los lncRNA son detectables en fluidos biológicos de pacientes y pueden, por lo tanto, ser aplicado como marcadores no invasivos para el análisis clínico; se han involucrado en la resistencia a los medicamentos a través de la modulación de la expresión del transportador de drogas, y se han identificado vías de señalización de supervivencia oncogénicas, ciclo celular y apoptosis.

Los enfoques terapéuticos específicos de lncRNA apuntan a funciones y vías mediadas por lncRNA a través de silenciamiento génico y mecanismos de alteración de la estructura. De hecho, un solo lncRNA puede regular varios genes y vías de codificación de proteínas. En tales situaciones, manipulando los lncRNA individuales se puede modular múltiples genes y sus funciones.

La regulación de la expresión génica mediada por circRNAs a través de miRNAs relacionados con la enfermedad, forman una red compleja de miRNA-circRNA-ncRNA, que interactúan a nivel proteico e impacta en una amplia gama de enfermedades humanas, particularmente cáncer. Los CircRNA también tienen roles oncogénicos y protooncogénicos. La fusión de circRNAs (f-circRNA) se forman como resultado de translocaciones genómicas asociadas al cáncer y tienen propiedades promotoras de tumores como aumento de la viabilidad celular, incremento de la resistencia a la terapia oncológica y transformación celular en células leucémicas in vivo [77].

La expresión de CircRNA ha sido demostrada en varios tipos de células humanas [78], donde juegan importantes papeles fisiológicos regulando la proliferación celular y la hematopoyesis [79]. Los circARN se han implicado en la mediación de las respuestas inmunitarias. Por ejemplo, circRasGEF1B regula positivamente la expresión de ARNm maduro ICAM-1 inducido por TLR4 / LPS, controlando así las respuestas inmunes



innatas. Además, el mecanismo celular reconoce circRNA extraños a través de la identidad intrónica, que permite la detección de círculos propios y extraños dentro del citoplasma del huésped [80].

Los análisis retrospectivos sugieren que una técnica anestésico-analgésica durante la cirugía del cáncer puede afectar la recurrencia / metástasis. Esto podría implicar efectos directos en las células cancerosas. Un objetivo de investigación interesante es la modificación en expresión genética como diana de fármacos anestésico- analgésicos.

El propofol ejerce un efecto potencialmente antitumoral en parte debido a la regulación de la expresión y la transferencia de miRNAs; suprime la proliferación y la invasión de células de cáncer de páncreas, mediante la regulación positiva de la expresión del miRNA-133a [81]. Su y col. encontró que el propofol induce la regulación positiva de expresión de miARN let-7i e induce apoptosis de células de cáncer de ovario epitelial en in vitro [82].

El propofol aumenta la expresión del miRNA-218 y el miRNA-451, y disminuye la expresión de Proteína MMP-2 y la proliferación de células cancerosas in vitro [83]. Del mismo modo, Zhang et al. encontró que el propofol disminuye la invasividad del CHC en parte debido a la baja regulación de MMP-9 por el miRNA-199a [84]. La baja expresión de miRNA también contribuye al efecto antitumoral del propofol. El miRNA-21 se sobreexpresa en las primeras etapas del cáncer de páncreas [85]. Liu y col. describen como el propofol inhibe el miRNA-21 y suprime la invasión de las células de cáncer de páncreas. Los mecanismos propuestos para explicar este fenómeno es que el propofol inhibe la expresión del miRNA-21 y disminuye la expresión de Slug, lo que resulta en un aumento en PUMA dependiente de Slug (gen objetivo pro-apoptótico p53) y la expresión de E-cadherina [86].

La activación de PUMA y E-cadherina están involucradas en la inhibición de la apoptosis celular. Por lo tanto, el propofol induce apoptosis e inhibe la invasión de las células de cáncer de páncreas por vías de señalización miR-21 / Slug / E- cadherin y miR-21 / Slug / PUMA [87].

Los fármacos anestésicos pueden tener efecto sobre oncogenes que se sobreexpresan en ciertos tipos de cáncer. En las células de cáncer de próstata, el propofol inhibe la expresión del receptor de andrógenos in vitro, lo que indica un potencial efecto

beneficioso, ya que la estimulación androgénica está implicada en la progresión del cáncer de próstata.

Además, se ha demostrado que el propofol disminuye los niveles de HIF-1a en células cancerosas *in vitro* con posibles efectos inhibitorios sobre la angiogénesis y, por lo tanto, el crecimiento tumoral.

Se sabe que los anestésicos volátiles son protectores contra lesión por isquemia y perfusión en una variedad de contextos clínicos y sistemas de órganos. Esta protección está asociada con una expresión inducida del factor regulador de angiogénesis HIF-1a, un mecanismo que quizás sea protector en el contexto de lesión por reperfusión, pero en cirugía de cáncer promueve malignidad y recurrencia tumoral. Se ha encontrado que el isoflurano aumenta la expresión de HIF en próstata y células de carcinoma de células renales en estudios separados, relacionándose estos hallazgos con un aumento migración y proliferación de células cancerosas.

Los opioides pueden influir en la expresión génica. Se ha demostrado que una sola inyección de morfina puede alterar la expresión de grupos de genes. Análisis moleculares recientes han demostrado que la activación de un gen único, que afecta un proceso esencial para la metástasis, puede ser suficiente para inducir metástasis *in vitro* [88].

Uno de esos genes puede ser el gen NET1, que ha sido identificado a través del análisis en serie de la expresión génica (SAGE) como sobreexpresado en células de adenocarcinoma de mama y gástrico [89]; este gen tiene un papel clave en la organización del citoesqueleto de actina y, por lo tanto, en la capacidad de la célula cancerosa para migrar e invadir tejidos. Recientemente se ha demostrado que la expresión del gen NET1 puede ayudar a identificar el ganglio linfático positivo en pacientes con cáncer de mama con alto riesgo metastásico.

Existe evidencia que apoya que una dosis única de morfina puede alterar la expresión de dos grupos principales de genes: genes reguladores de proteínas involucradas en rutas mitocondriales y para proteínas relacionadas con el citoesqueleto [90], pero no se ha determinado si se modifica la función celular.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

En mi etapa como estudiante de Medicina participé como colaboradora en un estudio sobre el papel del Estrés Oxidativo en Situaciones de Neurodegeneración y Cáncer llevado a cabo por el Instituto de Biología y Genética Molecular de Valladolid. Desde entonces me interesé en estudiar el particular comportamiento de la célula oncológica. Posteriormente, como Médico Interno Residente en Anestesiología y Reanimación empecé a preocuparme por el efecto que los fármacos anestésicos y adyuvantes pudieran tener en las células tumorales, y, por lo tanto, en el paciente oncológico. Y por ello me he planteado este trabajo como tesis doctoral.

El cáncer de vejiga (BCa) es uno de los tumores de mayor frecuencia y gravedad en la actualidad [91]. Es el cuarto en importancia en varones con un 7% del total de los tumores. La cistectomía radical con resección de ganglios linfáticos pélvicos es el tratamiento estándar para pacientes con cáncer de vejiga infiltrante no metastásico (cT2-T4a, cN0-Nx, M0) y de alto riesgo [92]. A pesar del tratamiento quirúrgico radical, la supervivencia media es de 5 años [93]; los estadios avanzados del mismo se asocian con una supervivencia al año de un 5%; y las recidivas oncológicas en pacientes sin enfermedad metastásica clínicamente demostrada, se atribuye fundamentalmente a la presencia de micrometástasis que permanecen sin diagnosticar en el momento de la cirugía [94].

Los mecanismos celulares responsables de estos fenómenos se han visto relacionados con un grupo de macrófagos asociados a tumores (TAM), los cuales pueden ser inducidos por el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interferón- γ (IF- γ), interleucina (IL) -1 β , IL-6, IL-23, y muestran una acción inhibitoria en la iniciación y / o progresión del BCa [95]; también se correlacionan con las células T reguladoras (Tregs) que facilitan la progresión tumoral al suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales [96], y con las células asesinas naturales (NK) que desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmune innata contra células tumorales. Entre los posibles factores relacionados con la recidiva tumoral destaca la cirugía, el estrés quirúrgico y la anestesia, los cuales desarrollan sobre estas células una disminución de su actividad.



La manipulación quirúrgica da lugar a una liberación sistémica significativa de células tumorales. El hecho de que dichas células causen metástasis depende en gran parte del equilibrio entre la agresividad del tumor y la adaptabilidad del cuerpo. Distintos trabajos han demostrado que la cirugía disminuye la actividad de linfocitos T, B, y NK en el postoperatorio, favoreciendo la progresión tumoral. El estrés quirúrgico se relaciona con una elevación de distintas interleuquinas (IL), que participan en la progresión del cáncer. El incremento de IL-6 está relacionado con la angiogénesis y la progresión de BCa [97], la IL-8 se correlaciona con la recurrencia tumoral [98], y el TNF- α se ha visto relacionados con la evolución y diseminación tumoral.

Los fármacos anestésicos han sido objeto de estudio en múltiples procesos oncológicos, variando la recidiva de este tipo de tumores el tipo de fármaco hipnótico utilizado durante el intraoperatorio, así como las distintas técnicas analgésicas perioperatorias.

Durante el procedimiento anestésico, la administración de opioides se ha relacionado con una disminución en el número y actividad de las células NK, la producción de citocinas inmunoestimulantes como el interferón gamma, y la IL-2, menor proliferación y activación linfocitaria T y una menor producción de anticuerpos. Además, los opioides favorecen los procesos angiogénicos al activar, entre otras, las vías de señalización de ciclooxigenasa-2 [99]. La anestesia regional puede evitar los efectos inmunosupresores y procancerígenos directos de medicamentos sistémicos, a la vez que puede reducir los efectos inmunosupresores quirúrgicos a través del mantenimiento de la función de las células NK y la disminución de la respuesta al estrés quirúrgico.

Ante la evidencia sobre los efectos pro-oncogénicos de los opioides, parece probable que la administración de opiáceos durante la cirugía oncológica, pueda favorecer la diseminación tumoral. Además, el uso de hipnóticos halogenados se ha relacionado con una mayor recidiva tumoral en comparación con el uso de hipnóticos intravenosos como propofol [100]. Si bien cada línea tumoral podría tener una respuesta distinta a la exposición a los distintos fármacos anestésicos [101].

Actualmente no existe ningún trabajo que relacione el cáncer de vejiga, y su recidiva con la técnica anestésica.

Nuestra hipótesis plantea que, si existen variaciones en el tiempo de recidiva metastásica dependiendo de la técnica anestésica empleada, aumentando el periodo libre de recidiva, es necesario determinar cuál es la técnica anestésica que más retrasa la aparición de recidivas en este tipo de cáncer y que por tanto, mejora la evolución del paciente e incrementa su posibilidad de supervivencia. Iniciamos esta línea de estudio comparando la influencia del uso de técnicas combinadas (anestesia general + epidural) con la anestesia general y opiáceos en la duración de periodo libre de recidivas y la supervivencia en el cáncer de vejiga. Y, para ello, hemos estudiado todos los casos de cistectomía radical seguidos en los últimos 10 años de nuestro centro, centro especializado en la cirugía de este tipo de patología, con la intención de determinar si, realmente, existe relación entre la técnica anestésica intraoperatoria y el número de días libres de enfermedad.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

- 1. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica.**

- 2. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical, analizando la relación entre los agentes anestésicos utilizados y:**
 - a. La incidencia de recidivas oncológicas (número de días libres de enfermedad)**
 - b. La supervivencia de los pacientes.**

- 3. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer.**

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.- Objetivo Primero: Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica.

METODOLOGÍA DE LA REVISIÓN

Se realizaron búsquedas en las bases de datos Pubmed, Scielo, Scopus, Google Escolar y en las páginas web de las sociedades, Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Medicina del Dolor (<https://www.sedar.es/>) Sociedad Española del Dolor (<https://www.sedolor.es/>), Sociedad Española de Oncología Médica (<https://seom.org/>), American Society of Anesthesiologists (ASA) (<https://www.asahq.org/>), The American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine (ASRA) (<https://www.asra.com/>), y American Society of Clinical Oncology (<https://www.asco.org/>) desde Enero de 2000 hasta Enero de 2020 para identificar la literatura más relevante utilizando como términos de búsqueda “anestesia y metástasis”, “fármacos anestésicos y recurrencia oncológica”, “gen* y aneste*” "y" técnica anestésica y cáncer ". Y sus combinaciones con vesical cáncer.

4.2.- Objetivo Segundo: Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical:

- a. **Analizando la relación entre el hipnótico utilizado y la supervivencia oncológica**
- b. **Determinando la incidencia de recidivas oncológicas (número de días libres de enfermedad)**
- c. **Determinando la supervivencia de los pacientes.**

4.2.1. Consideraciones éticas

Se solicitó y se obtuvo de la Jefatura del Servicio de Anestesia, Reanimación y Medicina del Dolor y de la Dirección Médica del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, la autorización para utilizar los datos de las historias de los pacientes pertenecientes al estudio.

4.2.2. Diseño del estudio.

Estudio observacional retrospectivo de dos brazos realizado en 100 pacientes con cáncer de vejiga intervenidos de cistectomía radical seguidos durante el periodo intraoperatorio y postoperatorio, y hasta los 5 años del acto quirúrgico, en nuestro centro, el Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, centro especializado en la cirugía de este tipo de patología, entre 2004-2013.

4.2.3. Población y Criterios de inclusión y de exclusión

En el estudio han participado 100 pacientes, diagnosticados de cáncer vesical músculo-infiltrante intervenidos de cistectomía radical con reconstrucción tipo Bricker en el Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, y seguidos desde 2004 hasta 2013.

Los pacientes fueron seleccionados, según práctica clínica habitual, a todos los pacientes que cumplían los “criterios de inclusión”, y que hubieran otorgado el consentimiento informado correspondiente para participar en el estudio, recogiendo a partir de ese momento los datos retrospectivos de sus historias clínicas.

La N se ha calculado teniendo en cuenta un nivel de confianza del 95% y una precisión mínima del 5%, con la intención de encontrar variaciones de un 10% en la recidiva tumoral a los 6 meses.

Fueron divididos en dos grupos (N=50 cada uno) sometidos a la combinación anestesia general + epidural vs anestesia general con opioides intravenosos.

Los dos grupos de estudio considerados fueron:

- Técnica anestésica combinada general + epidural
 - Anestesia general con fentanilo intraoperatorio y cloruro mórfico en el postoperatorio, dosis ajustada por el anestesiólogo responsable para conseguir analgesia intra y postoperatoria. Con dos subgrupos
 - Inducción/mantenimiento con Propofol endovenoso
 - Inducción/mantenimiento con Sevoflurano inhalado
 - Anestesia local con lidocaína intraoperatoria al 2% y ropivacaína 0.2% en el postoperatorio mediante catéter epidural en espacio L2-L3, con volumen determinado por el anestesiólogo responsable para conseguir analgesia intra y postoperatoria.
- Técnica anestésica general
 - Anestesia general con fentanilo intraoperatorio y cloruro mórfico en el postoperatorio, dosis ajustada por el anestesiólogo responsable para conseguir analgesia intra y postoperatoria.
 - Inducción/mantenimiento con Propofol endovenoso
 - Inducción/mantenimiento con Sevoflurano inhalado

Criterios de inclusión

- Pacientes de cualquier género / hombres, raza y edad con cáncer de vejiga sometidos a cistectomía radical.
- Cirugía electiva de cistectomía radical con reconstrucción tipo Bricker en pacientes diagnosticados de cáncer vesical infiltrante.
- Grado de riesgo anestésico según la sociedad americana de anestesia (ASA) menor de 4 (paciente de riesgo anestésico moderado-alto).
- Que otorgue su consentimiento informado para participar.
- Más del 60% de datos especificados para la inclusión en el estudio recogidos en su historia clínica.

Criterios de exclusión

- Historia de reacción adversa a los distintos fármacos anestésicos.
- Enfermedad severa de cualquier órgano (pulmón, hígado, riñón), diagnóstica de manera preoperatoria (ASA IV).
- Necesidad de reintervención por sangrado.
- Coexistencia con otro tumor maligno.
- Menos del 60% de datos especificados para la inclusión en el estudio recogidos en su historia clínica.

Criterios de finalización

- No cumplimiento por parte del paciente y/o del investigador de los procedimientos y directrices del estudio.
- Retirada voluntaria o cualquier acontecimiento adverso significativo que comprometa la capacidad del paciente para participar en el estudio.
- La determinación del investigador de que continuar no va en el interés del paciente (por ejemplo, enfermedad o estado intercurrente que requiere el uso de fármacos o tratamiento prohibido).
- Todos los procedimientos de terminación del estudio deben realizarse en el momento del abandono.

4.2.4. Variables recogidas

Se establecieron cinco periodos de seguimiento:

1. Preoperatorio:

- a. Características epidemiológicas: Edad, sexo, índice de masa corporal.
- b. Antecedentes personales de HTA, Dislipemia, Diabetes Mellitus, Enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedad renal preexistente (tasa de filtración glomerular estimada), antecedentes de vasculopatía o cardiopatía, enfermedad neurológica.
- c. Clínica: Euroscore II.

- d. Tratamiento habitual: antihipertensivo, diabetes (tratamiento), enfermedad respiratoria crónica (tratamiento), insuficiencia renal crónica, arritmia (tratamiento), dislipemia (tratamiento), enfermedad neurológica (tratamiento).
- e. Tratamientos preoperatorios con: beta-bloqueantes, AINEs, AAS, corticoides, alfa 2-bloqueantes, estatinas.
- f. Analítica función renal: creatinina y urea, hemoglobina y necesidad de transfusión preoperatoria.

2. Intraoperatorio:

- a. Técnica anestésica: anestesia general con opiáceos vs anestesia combinada con anestesia regional.
- b. Tipo de fármaco anestésico general: inhalatorio vs intravenoso.
- c. Tipo de fármaco opiáceo: fentanilo, remifentanilo o cloruro mórfico (dosis total ajustada al peso).
- d. Si se realizó anestesia combinada: tipo de anestésico local y dosis total del mismo (mg).
- e. Necesidad de transfusión intraoperatoria (cuantificando el volumen y tipo de hemoderivado administrado).
- f. Necesidad de uso de fármacos inotrópicos y/o vasoactivos.
- g. Tiempo desde inicio hasta finalización de la intervención.
- h. Necesidad de transfusión intraoperatoria (sangre autóloga-heteróloga).
- i. Hemoglobina al terminar la cirugía.

3. URPA y Unidad de cuidados intensivos

- a. Temperatura a la llegada a la unidad de recuperación (hipotermia-temperatura menor de 35.5 grados).
- b. Necesidad de transfusión durante su ingreso en la unidad.
- c. Horas de sedación con fármacos hipnóticos (dosis ajustadas a peso), uso de opiáceos (tipo y dosis ajustadas a peso), uso de Aines (tipo y mg totales de cada uno de ellos).

- d. Parámetros de función renal: creatinina, urea, diuresis (ml/kg/h). Necesidad de terapia de sustitución renal. (al ingreso y alta de la UCI).
- e. Necesidad de drogas inotrópicas o vasoactivas: tipo, dosis y duración.
- f. Fallo orgánico: (número, si existe fallo respiratorio indicar si existe la necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva).

4. Datos urológicos y Oncológicos:

- a. Tipo de tumor vesical (histología y estadiaje TNM- pre).
- b. Tratamiento coadyuvante pre y/o postoperatorio (tipo).
- c. Estadio patológico: afectación linfática, existencia de hidronefrosis preoperatoria, invasión linfovascular, márgenes quirúrgicos libre de enfermedad.

5. Postoperatorio con seguimiento hasta 5 años tras el acto quirúrgico:

- a. Complicaciones.
- b. Número de días libres de enfermedad: 6 meses, 1 año.
- c. Supervivencia.

4.2.5. Análisis estadístico

Se consideraron como end-point del estudio los días libres de recidiva y la existencia de éxitus.

En el caso de las variables cuantitativas todos los datos aparecen expresados como los valores medios más/menos el error estándar de la media (media \pm sem) o como los valores medios más/menos la desviación estándar de la media (media \pm DE) de N valores, o mediana (rango intercuartílico [RIQ], p25-p75). En el caso de las variables cualitativas los valores aparecen expresados como el número de casos (n), y el porcentaje (%).

Inicialmente se realizó un análisis descriptivo de la población estudiada. Para determinar si las variables se distribuían de una manera normal se usó la prueba de Shapiro-Wilk.

La comparación entre grupos se realizó aplicando los tests de:

- Test de “t” de Student
- Análisis de la varianza ANOVA de una y de varias vías
- Análisis de medidas repetidas
- Test de Chi cuadrado (χ^2)
- Correlaciones bivariadas
- Regresiones lineales y logísticas

La prueba t de Student se utilizó para evaluar las diferencias entre variables cualitativas continuas en dos grupos independientes (con disfunción recurrente, S / N) para dos muestras independientes, siempre que la normalidad de los datos se hubiese confirmado. En caso de que no se pueda aceptar la normalidad se aplicará la correspondiente prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

Las variables cualitativas se analizaron mediante la prueba de χ^2 . La prueba exacta de Fisher fue realizada cuando el porcentaje de valores esperados <5 excedió el 20%. La prueba de Kaplan-Meier fue usada para evaluar las diferencias en la supervivencia entre los pacientes tratados con anestesia general y los tratados con anestesia combinada.

Con el objetivo de evaluar los distintos factores que pueden ser causar variación en la recidiva del cáncer vesical avanzado, se realizó un análisis bivariado de cada factor de riesgo para determinar los factores que explican las variaciones en la recaída del cáncer de vejiga avanzado.

Se consideró en todos los casos la existencia de diferencias estadísticamente significativas cuando la $p < 0,05$. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS 24, SPSS Inc., 2018.

4.3.- Objetivo Tercero: Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer como el de mama.

Hemos revisado la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica en el cáncer de mama y los hemos relacionado con los datos de nuestro segundo objetivo.

METODOLOGÍA DE LA REVISIÓN

Se realizaron búsquedas en las bases de datos Pubmed, Scielo, Scopus, Google Escolar y en las páginas web de las sociedades, Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Medicina del Dolor (<https://www.sedar.es/>) Sociedad Española del Dolor (<https://www.sedolor.es/>), Sociedad Española de Oncología Médica (<https://seom.org/>), American Society of Anesthesiologists (ASA) (<https://www.asahq.org/>), The American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine (ASRA) (<https://www.asra.com/>), y American Society of Clinical Oncology (<https://www.asco.org/>) desde enero de 2000 hasta enero de 2020 para identificar la literatura más relevante utilizando como términos de búsqueda “anestesia y metástasis”, “fármacos anestésicos y recurrencia oncológica”, “gen* y aneste*” "y" técnica anestésica y cáncer ". Y sus combinaciones con Breast cancer.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN GENERAL

La posible influencia de la técnica anestésica en la recidiva oncológica ha sido motivo de estudio en los últimos años.

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados siendo las metástasis las principales responsables de estos fallecimientos [102]. La diseminación metastásica se relaciona fundamentalmente con 2 factores: La presencia de células cancerígenas con posibilidad de diseminación y la existencia de un microambiente adecuado para el crecimiento de estas células. El crecimiento tumoral genera zonas hipóxicas que secretan factores angiogénicos (VEGF) y terminan formando una red capilar alrededor del tumor. Algunas células oncológicas tienen la capacidad de migrar a través de la circulación sistémica por lo que terminan diseminándose por el organismo. El sistema inmune intenta contener esta diseminación y elimina la mayoría de estas, quedando las supervivientes atrapadas en capilares donde, si existe un microambiente propicio, las células tumorales se extravasarán, desarrollarán y terminarán produciendo una micrometástasis con su propio potencial metastásico.

5.2. OBJETIVO 1. REVISAR LA LITERATURA DISPONIBLE PARA DETERMINAR EL POTENCIAL EFECTO DE LOS AGENTES ANESTÉSICOS EN LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD ONCOLÓGICA

Resumimos a continuación los principales hallazgos recogidos de la literatura:

5.2.1. Papel de la respuesta inmune perioperatoria en la recidiva oncológica

La cirugía se relaciona con una situación de inmunodepresión perioperatoria que a su vez podría tener consecuencias sobre la diseminación tumoral. El papel del acto anestésico es la disminución de la respuesta a la agresión quirúrgica, que, a su vez, atenúa la inmunosupresión creada por el mismo [103]. La inmunidad celular (CMI) puede reconocer las células cancerosas como "extrañas" e inducirles apoptosis. La CMI consiste en dos tipos de respuesta inmune: La respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa; ambas trabajan conjuntamente para detectar la presencia de una célula tumoral y eliminarla antes de que se convierta en enfermedad [104].

Sistema Inmune Innato:

El sistema inmune innato, es un sistema inespecífico compuesto por células natural killer (NK), macrófagos y células dendríticas [105], que combate ciertas infecciones microbianas y neoplasias con sensibilización previa y, como tal, puede responder al estímulo de las células tumorales inmediatamente; es la primera línea de defensa contra la progresión del cáncer.

- Las células NK son un componente crucial de la inmunidad innata, y juegan un papel importante en la destrucción del tumor. Estudios recientes han demostrado que los niveles bajos de células NK se asocian a una disminución de la resistencia a la metástasis del cáncer y aumenta el desarrollo de neoplasias malignas [106]. Además, en los pacientes con una baja actividad de células NK se ha evidenciado una mayor incidencia de cáncer.

Por el contrario, los pacientes con alta actividad de células NK en sangre periférica tienen significativamente más tiempo de supervivencia [107] sin recurrencia que aquellos con células NK bajas actividad.

Sin embargo, el efecto de la técnica anestésica sobre la actividad de los NK ha sido valorado recientemente en un metaanálisis en el cual no se evidencia diferencias significativas [108].

- Los macrófagos son otro componente importante del sistema inmune innato, sin embargo, en la mayoría de tumores sólidos, la existencia de macrófagos conocidos como los asociados a tumores (TAM) promueven el crecimiento tumoral y la formación de metástasis.

Los TAM pueden ser inducidos por el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interferón- γ (IF- γ), interleucina (IL) 1β , IL-6, IL-23, y muestran una acción inhibitoria en la iniciación y / o progresión de células tumorales.

Los macrófagos están polarizados en dos líneas (M1 y M2), que reflejan las células Th1 y Th2 teniendo funciones duales en su interacción con células neoplásicas; en la fase temprana de tumor progresivo predominan los macrófagos M1, estimulados por patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS), IL-12 e IFN- γ . Estos provocan respuestas inmunes adaptativas específicas, y en general, respuestas antitumorales mediadas por la expresión de factores proinflamatorios como IL- 1β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (NOS), además de niveles elevados del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) clase I y II.

Sin embargo, en el cáncer establecido, predominan los macrófagos M2, estimulados por IL-4, IL-13, IL-21 e IL-33, complejos inmunitarios, activina A y glucocorticoides; promoviendo supresión de la inmunidad adaptativa, además de promocionar angiogénesis y remodelación del tejido, promoviendo así el crecimiento tumoral mediante la expresión de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, arginasa 1, antagonista del receptor de IL-1, molécula CD-163, y CD-206 [109].

Sistema Inmune Adaptativo:

La inmunidad tumoral depende también de la mediación del sistema inmunitario adaptativo. Inicialmente las células tumorales son débilmente antigénicas, pero al mutar e irse diferenciando aumenta la antigenicidad, lo que permite al sistema inmune identificarlas y eliminarlas.

Está bien establecido que la inmunidad mediada por células (CMI) puede reconocer las células cancerosas como "extrañas" (a través de la expresión de complejo mayor de

histocompatibilidad tipo II) e inducirles apoptosis.

Las células inmunitarias específicas del antígeno, como los linfocitos T citotóxicos CD8+ (CTLs) reconocen a las células tumorales como "no propias" y las destruyen de manera específica. En estudios clínicos recientes, la acumulación de CTLs dentro del tumor se asoció con una mejor supervivencia del paciente con cáncer de ovario epitelial, colorrectal y melanoma [110].

Hay que destacar el papel de la interleucina IL-10 en la respuesta antitumoral. Esta IL es producida por linfocitos Th2, que participan en la inhibición de citoquinas pro-inflamatorias y sirve para regular la respuesta inmune, estimulando la actividad NK e inhibiendo la respuesta inflamatoria mediada por las células dendríticas y los macrófagos, así como para reducir las respuestas adaptativas de las células T CD4+ [111].

Respuesta inmune y perioperatorio:

La disfunción del sistema inmune se ha relacionado a nivel preoperatorio con el estrés y el uso de medicación ansiolítica. En el acto quirúrgico la manipulación del tumor puede provocar la diseminación sanguínea, linfática o tisular [112]. En él, existe un aumento de los factores proangiogénicos que facilitan la cicatrización y favorecen el crecimiento tumoral, fundamental para el desarrollo de masas de más de 2mms.

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) aumenta postoperatoriamente tras la resección tumoral y su sobreexpresión se ha correlacionado con un aumento de la capacidad invasiva y metastásica del tumor [113].

Por otro lado, el dolor agudo, incluido el dolor postoperatorio, suprime la actividad de las células NK. Se ha demostrado que un adecuado manejo del dolor postoperatorio conserva la actividad antitumoral de este grupo celular en modelos animales. El dolor, junto con el estrés quirúrgico, activa el eje hipotalámico-hipófiso-suprarrenal (HPA) y activa al sistema nervioso simpático, favoreciendo la inmunosupresión a través de los receptores adrenérgicos beta de las células NK. La activación del sistema HPA provoca cambios metabólicos que duran desde el inicio de la cirugía hasta 3 ó 4 días tras la misma. Existe un aumento de la secreción de ACTH y cortisol con aumento de glucocorticoides. Se ha constatado el descenso de células NK en relación con el aplanamiento de la curva de cortisol, siendo las catecolaminas plasmáticas los biomarcadores clave en la relación del estrés con la progresión tumoral [115,116].

La activación del sistema simpático ejerce un efecto inmunosupresor a través de su efecto sobre los órganos linfoides, los cuales inerva; y actúa sobre los receptores adrenérgicos que presentan la mayoría de los leucocitos. El bloqueo simpático, atenúa la respuesta inmunosupresora de estrés a la cirugía, por lo que la anestesia espinal preserva la función de las células NK y TH1 / TH2 [114].

La respuesta inflamatoria que aparece tras el acto quirúrgico lleva aparejada la secreción de citocinas proinflamatorias como IL1b, IL6, IL12, IL15, IL18, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IF γ). Tras esto, aparece una respuesta antiinflamatoria que conlleva también la secreción de mediadores como el factor transformador de crecimiento beta, prostaglandina E2, glucocorticoides, hormona estimuladora de los melanocitos alfa (α -MSH), antagonistas de los receptores de IL1 (IL-1Ra), receptores del FNT solubles y las interleucinas IL4, IL6, IL 10, IL 11 e IL13 [117].

La inflamación juega un papel fundamental en la inmunosupresión y en la progresión de la enfermedad oncológica, la disminución del trauma quirúrgico y del dolor asociado a él se relaciona con una mayor preservación de la función inmune perioperatoria [118]. Otros factores perioperatorios, como la hipotermia pueden disminuir la quimiotaxis y la fagocitosis de los granulocitos y es posible, que puedan tener relación con la recidiva tumoral, aunque no se ha conseguido demostrar.

Durante el postoperatorio existe un aumento de neutrófilos y, una disminución en el número y actividad de los linfocitos (a excepción de los B). Los monocitos, si bien no tienen variaciones a nivel cuantitativo, disminuyen la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (CMH-II), lo que parece indicar una menor capacidad de presentar antígenos. Los linfocitos T colaboradores (LTh 4), que predominan durante la cirugía son los LTh tipo 2, que disminuyen la inmunidad celular y la capacidad de los linfocitos T citotóxicos de luchar contra las células tumorales.

5.2.2. Efectos de la anestesia sobre la progresión oncológica

La capacidad de progresión local y desarrollo de metástasis de los tumores depende del equilibrio entre el potencial de crecimiento metastásico del tumor y los factores de defensa antitumorales del huésped. El principal mecanismo antimetastásico es el sistema inmune; en él, los linfocitos T citotóxicos, las células mononucleares, las células dendríticas y especialmente las células natural-killer (NK), son las células encargadas de la acción antimetastásica, a través de la liberación de:

- Factor de crecimiento endotelial (VEGF): es un potente impulso para el desarrollo de angiogénesis, a la vez que estimula la proliferación y la migración de células endoteliales, incrementa la permeabilidad vascular y regula la actividad de los linfocitos T.
- Metaloproteinasas de la matriz (MMPs): degradan porciones de la matriz extracelular y pueden dar como resultado la angiogénesis. Se ha demostrado que tienen actividad tanto para promover y para inhibir la apoptosis.
- Factor de necrosis tumoral alfa: media las MMPs y contribuye a la angiogénesis.
- Factor de transformación y crecimiento beta: es una citoquina implicada en la diferenciación del crecimiento celular.

En las células sanas detiene la proliferación, promueve la diferenciación e induce la apoptosis. En las células tumorales la vía de señalización se altera y causa la pérdida de control sobre la proliferación celular.

Además, la célula tumoral puede elevar la concentración de ciclooxigenasa y favorecer la síntesis de prostaglandinas. La prostaglandina E2 es crucial para la fagocitosis y para limitar la función de los linfocitos citotóxicos. Por lo tanto, favorece la progresión del cáncer, inhibiendo la apoptosis y estimulando la angiogénesis.

5.2.3. Fármacos anestésicos y recidiva oncológica

Desde que Shapiro et al. reveló que los anestésicos están involucrados en la progresión del cáncer y el desarrollo de metástasis [119], se han publicado numerosos estudios sobre la relación entre la anestesia y cáncer [120,121]. La evidencia experimental actual



sugiere que el uso de algunos agentes anestésico-analgésicos se asocian con una reducción de la metástasis del cáncer (por ejemplo, anestésicos locales, propofol) [122], mientras que otros pueden estar asociados con un mayor riesgo de diseminación oncológica (por ejemplo, agentes volátiles, opioides) [123,124].

5.2.3.1. Hipnóticos

5.2.3.1.1. Agentes anestésicos inhalatorios

Aunque muchos estudios describen el papel inmunosupresor de los halogenados, en la práctica clínica no se ha corroborado. En macrófagos expuestos a halotano, isoflurano, enflurano y desflurano (CAM 0.25-2.0) se observa una disminución de la producción de óxido nítrico y de la expresión de óxido nítrico sintetasa inducible.

El sevoflurano in vitro modifica la respuesta celular linfocitaria (elevación de citocinas, ILK 1, factor beta y factor de necrosis tumoral alfa). El preacondicionamiento con este halogenado promueve el crecimiento y la proliferación de células madre progenitoras de endotelio (efecto proangiogénico), lo cual podría promover el crecimiento tumoral y/o la teratogenicidad. Goto et al [125] en cirugía de cataratas, comprobaron que concentraciones clínicamente relevantes de sevoflurano no influían en la apoptosis, número de neutrófilos o concentración de citocinas en sangre.

Kvolik et al [126] investigaron los efectos citotóxicos y antiproliferativos del sevoflurano en diferentes tipos de cáncer humano in vitro. Existieron diferentes respuestas al fármaco según el tipo de cáncer, la capacidad apoptótica aumentó significativamente 24 horas después de la anestesia gracias a la sobreexpresión de los genes de p53 y caspasa 3 en las células de cáncer de colon, a diferencia de lo que sucedía en el cáncer de laringe.

Halotano, isoflurano y óxido nítrico pueden estar relacionados con un aumento en la incidencia de metástasis tumorales (melanoma, y cáncer de pulmón); según diversos trabajos realizados en ciencias básicas. Sus efectos se basan en el aumento de la concentración de VEGF and MMPs, y la secreción de los factores inducibles por hipoxia (relacionados con la angiogénesis, crecimiento y recidiva tumoral).

El óxido nítrico interfiere en la síntesis de ADN, a través de la inhibición selectiva de la metionina sintasa, disminuye y altera la respuesta inmune ante el avance tumoral. En ratones, está asociado a una aceleración en el desarrollo de metástasis pulmonares y hepáticas, siendo el más potente estimulador de metástasis hepáticas de los anestésicos estudiados. Sin embargo, en pacientes operados de cáncer colorrectal, no se detectaron diferencias en relación a la recurrencia tumoral entre los pacientes anestesiados con óxido nítrico al 65% y los que no.

La administración de xenón, en las células del adenocarcinoma de mama en condiciones *in vitro*, se asoció con la disminución de la secreción de citocinas pro angiogénicas RANTES / CCL5; además, podría unirse al receptor Kir6.2; Subunidad del canal de potasio dependiente de trifosfato de adenosina, causando cambios en el citoesqueleto implicados en el origen y desarrollo de la célula tumoral.

Existe controversia respecto al papel de los agentes volátiles, la mayoría de los estudios *in vitro*, sugieren que estos agentes se asocian con mayor expresión de marcadores tumorales, así como con la proliferación y la migración de células cancerígenas [127]. En macrófagos expuestos a halotano, isoflurano, enflurano y desflurano se observó una disminución de la producción de óxido nítrico y de la expresión de óxido nítrico sintetasa inducible.

Disminuir el uso de fármacos hipnóticos y analgésicos se relaciona con la recidiva oncológica. El halotano, isoflurano y óxido nítrico pueden estar relacionados con un aumento en la incidencia de metástasis tumorales (melanoma, y cáncer de pulmón); según diversos trabajos realizados en ciencias básicas. Sus efectos se basan en el aumento de la concentración de VEGF and metaloproteinasas de la matriz, y la secreción de los factores inducibles por hipoxia (relacionados con la angiogénesis, crecimiento y recidiva tumoral).

5.2.3.1.2. Agentes anestésicos intravenosos

El propofol, parece tener efectos beneficiosos en la regulación de citocinas inflamatorias y preservación de actividad Nk, inhibiendo la propagación del tumor [128]. Además, suprime la secreción de factores inducidos por hipoxia. Melamed et al [129] publicaron un estudio en ratas a las que le administraron células tumorales de cáncer de mama, manteniéndose anestesiadas (sin cirugía) con ketamina, tiopental, halotano o propofol. Observaron una reducción de la actividad natural killer, y un incremento del número de metástasis pulmonares, con todos los anestésicos excepto con propofol. La ketamina era el fármaco que reducía de manera más potente la actividad y el número de NK. Estos efectos protumorales eran atenuados por la coadministración de un bloqueante beta (Nadolol), el débil mecanismo antagonista beta adrenérgico del propofol puede estar involucrado en su protección antitumoral.

Se ha observado que el propofol diluido en triglicéridos de cadena larga produce una disminución en la actividad de los neutrófilos, pero no, cuando es diluido en triglicéridos de cadena larga y media. Se deduce que las preparaciones de los fármacos también pueden influir en la actividad de los neutrófilos.

Se ha descrito un descenso del número de células CD3+, CD4+, y CD8+, de la expresión de HLA-DR y de los marcadores de activación CD 25+, CD 26+, y CD 69+, cuando es utilizada anestesia inhalatoria en vez de intravenosa pura con propofol-sufentanilo. Inada et al [130] hipotetizaron que el propofol promueve la activación y la diferenciación de las células Th periféricas, con lo que se salvaguardaría la inmunidad celular antimetastásica perioperatoria.

Deegan et al. [131] observaron que la aplicación de una técnica anestésica combinada basada en propofol y bloqueo paravertebral torácico, en comparación con sevoflurano más bloqueo paravertebral torácico; en pacientes intervenidas de cáncer de mama, producía una inhibición de la proliferación celular, pero no de su migración. Ke y su grupo [132] observaron que la anestesia intravenosa (remifentanilo más propofol) atenuaba en mayor proporción la respuesta inflamatoria frente a la inhalatoria (isoflurano), disminuyendo los factores relacionados con el crecimiento y migración tumoral.

5.2.3.2. Opiáceos

La administración de opioides se ha relacionado con una disminución en el número y actividad de las células NK, en la producción de citocinas inmunoestimulantes como el interferón gamma, y la ILK-2, menor proliferación y activación linfocitaria T, así como con una menor producción de anticuerpos.

Sin embargo, en el estudio realizado por Gupta, el uso de opioides se relacionó con un aumento de la angiogénesis tumoral que podría facilitar la progresión del cáncer [133]. Además, los opioides parecen mediar una respuesta inmunosupresora facilitadora de la diseminación tumoral [134]. Distintos estudios asocian la utilización de opioides con una peor evolución oncológica en cáncer de colon y próstata [135] en humanos. Incluso se ha descrito como las dosis bajas de opioides pueden generar resistencia a algunos quimioterápicos.

Janku compara el número de días libre de enfermedad en pacientes oncológicos con enfermedad avanzada tratados con metilnaltrexona o placebo, con un aumento en la supervivencia en aquellos a los que se les administró metilnaltrexona, lo que indica el posible papel que podría tener el receptor μ (MOR) en la progresión tumoral [136].

Existe evidencia que demuestra que los opiáceos inhiben la función de las células asesinas naturales (NK) y pueden estimular el crecimiento de las células cancerosas, favoreciendo la proliferación a través de efectos sobre la angiogénesis y diseminación tumoral [137].

Además, la administración de opioides se ha relacionado con una disminución en el número y actividad de las células NK, en la producción de citocinas inmunoestimulantes como el interferón gamma, y la ILK-2, menor proliferación y activación linfocitaria T, así como con una menor producción de anticuerpos. Gupta et al. demostró que la morfina, simula el VEGF y favorece la proliferación celular [138].

Lennon et al. describió que los opioides sintéticos estimulaban al endotelio, facilitaban la migración y la proliferación celular a la vez que potenciaban la angiogénesis con un incremento en la secreción de VEGF [139]. La administración intraoperatoria de fentanilo y su relación con la recidiva metastásica es controvertido; aunque su exposición parece suprimir la citotoxicidad mediada por células NK, no existen evidencias concluyentes sobre su efecto final a nivel oncológico.

Existen trabajos que relacionan el estado del receptor opioide μ (MOR) a la evolución del cáncer, de hecho, ha sido descrita la asociación entre sobreexpresión de la proteína μ

receptor opioide (MOR) y la mayor incidencia de metástasis de cáncer de pulmón [140]. La sobreexpresión de receptores MOR en el cáncer de pulmón no microcítico duplicó las tasas de crecimiento de tumor primario en ratones y favoreció el desarrollo de metástasis en comparación con el grupo control. La administración intraoperatoria de fentanilo y su relación con la recidiva metastásica es controvertido; aunque su exposición parece suprimir la citotoxicidad mediada por células NK, no existen evidencias concluyentes sobre su efecto final a nivel oncológico.

El polimorfismo genético A118G común en el MOR está asociado con una reducción de la respuesta analgésica [141]; una alta expresión de receptores MOR y delta se han asociado con mayor desarrollo de metástasis.

La interacción de los opioides con el sistema inmune se produce de manera indirecta a través del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal y de manera directa a través de receptores específicos como el μ_3 , y el OGF α (receptor del factor crecimiento opioide). Martín-Kleiner et al [142], observaron que la morfina es capaz de unirse a estos receptores, mientras que la unión de otros opioides sintéticos como el fentanilo, u opioides endógenos se produce con mucha menos afinidad.

A pesar de no poseer datos concluyentes en humanos como para conocer de forma precisa la relevancia clínica de los efectos prooncogénicos de los opioides, parece probable que la administración aguda de opioides en altas dosis en un contexto quirúrgico puede favorecer la diseminación tumoral en los casos de cirugía oncológica a través de varios mecanismos inhiben la respuesta inmune [143].

Se ha evidenciado, la variación del receptor MOR (A118G), asociado con una disminución de la unión y respuesta al opioide, se ha relacionado con un descenso de la mortalidad asociada al cáncer de mama en estadios avanzados. Sin embargo, la exposición crónica a morfina en células de cáncer de mama humanas, parece atenuar el crecimiento celular e incrementa la apoptosis.

Las Beta-endorfinas tienen efectos sobre el sistema inmune, y ante una respuesta de estrés provocada por cirugía pueden convertirse en agente antineoplásicos: aumentan la citotoxicidad de los NK y atenúan la respuesta al estrés de la cirugía; a diferencia de los exógenos parecen predominar sus efectos antitumorales. La razón no está clara, ya que tanto los opiáceos endógenos como los exógenos actúan sobre el receptor MOR.

El estrés y el dolor favorecen la diseminación oncológica inhibiendo la acción de los NK. Desde el trabajo de Page que evidenció cómo el dolor producía un aumento de la diseminación tumoral en roedores que se atenuaba con la utilización de opiáceos intravenosos y el uso de anestesia intratecal [144], múltiples trabajos intentaron relacionar el uso de opiáceos con un efecto protector sobre la diseminación metastásica, a través de una disminución de la progresión oncológica una mayor apoptosis de células cancerígenas y epiteliales vasculares.

En conclusión, si bien un buen control del dolor postoperatorio es claramente beneficioso, el rol tradicional de los opioides como piedra angular del tratamiento en los pacientes oncológicos es cuestionable. Son necesarios más estudios para aclarar el papel

del uso de opioides y su influencia en la recidiva tumoral, en el perioperatorio de cirugía tumoral.

5.2.3.3. Anestesia regional

La anestesia regional puede evitar los efectos inmunosupresores y procancerígenos directos de medicamentos sistémicos. La anestesia regional puede reducir los efectos inmunosupresores quirúrgicos a través de la inhibición de la función de las células Nk y minimizando la respuesta al estrés quirúrgico y sus efectos adversos sobre el sistema inmune [145].

En cirugía oncológica de mama, la realización de bloqueo epidural torácico se relacionó con unos niveles menores de ILK-1 beta, e ILK-8, y un aumento de ILK-10, en comparación a la anestesia general. La ILK-10 se ha relacionado con efectos antiproliferativos tumorales y disminución de las metástasis, una menor concentración de VEGF y un aumento de los niveles de factor de crecimiento transformante beta.

La resección del melanoma con anestesia local en comparación con anestesia general, fue descrita como un factor de aumento de la supervivencia en pacientes con esta enfermedad (recurrencia de melanoma 40% mayor con anestesia general) [146].

En el cáncer de mama, la realización de una anestesia general con analgesia intravenosa basada en opioides en comparación con la técnica paravertebral, demostró multiplicar por 4 las recidivas tumorales y disminución de la supervivencia.

En 2013 Merquiol et al [147], realizó un estudio retrospectivo sobre cirugía de cáncer de laringe o hipofaringe, con 2 grupos de 65 pacientes; uno en los que se realizó una técnica combinada con anestesia general y epidural cervical vs otro en el que la técnica analgésica se realizó con opiáceos intravenosos observó una supervivencia libre de cáncer de 68% a los 5 años en el primer grupo, en comparación con el 37% para el segundo de ellos.

Sin embargo, Tsui et al [148] realizaron un estudio en pacientes intervenidos de prostatectomía radical bajo anestesia general con y sin anestesia epidural. La recidiva del cáncer de próstata se determinó después de una revisión de seguimiento a largo plazo no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad en el seguimiento medio de 4,5 años. Lai et al, [149] encontraron una asociación negativa con la anestesia epidural en pacientes que se sometieron a ablación percutánea de radiofrecuencia para carcinoma hepatocelular, sin embargo, la mortalidad global entre los dos grupos no fue diferente.

Day et al [150] realizaron un estudio retrospectivo en pacientes sometidos a resección colorrectal laparoscópica para adenocarcinoma con analgesia epidural, espinal o con morfina intravenosa para analgesia postoperatoria, no hubo diferencias en la supervivencia global o el tiempo libre de enfermedad a los 5 años entre los 3 grupos.

5.2.3.4. Anestésicos locales

Los anestésicos locales parecen proteger frente al crecimiento tumoral y las metástasis. Actúan por diferentes mecanismos: la inducción de apoptosis, inhibición de la

proliferación, migración e invasión celular. Además, modulan la expresión génica mediante metilaciones sobre ácidos nucleicos. Se ha propuesto que los anestésicos locales per se, reducen la incidencia de recurrencia del cáncer, también a través de su acción antiinflamatoria [151]. La lidocaína y la ropivacaína tienen efectos antiproliferativos sobre las células oncológicas in vitro. La bupivacaína y la lidocaína causan apoptosis en células del neuroblastoma, cáncer de mama y de tiroides.

Chang et al. demostraron que el tratamiento del cáncer de mama con lidocaína y bupivacaína inducía las caspasas 7, 8, 9 y la apoptosis [152]. Yoon et al. demostró que la tetracaína y la lidocaína dificultaban la agregación de células tumorales [153].

Mammoto et al [154] demostró que la infiltración anestésica con lidocaína, inhibe la invasión de células cancerosas in vitro, a través de la modulación del desdoblamiento de ectodominio de HB-EGF en la superficie celular modulando la capacidad invasiva desde la superficie celular durante la manipulación quirúrgica del tumor primario. Las células tumorales presentan factor de crecimiento similar al factor (HBEGF) en la superficie celular, hecho que incrementa su capacidad invasiva. Este equipo observó que infiltrando con lidocaína alrededor del sitio de inoculación de células tumorales, se inhibía la incidencia de metástasis sin afectar el crecimiento del tumor.

La lidocaína podría evitar la incidencia de metástasis mediante la inhibición de invasión inoculándola en el lugar de proliferación o manipulación tumoral, lo que sugiere que podría utilizarse lidocaína eficazmente como anestesia de infiltración para biopsia y resección del cáncer [155,156]

La lidocaína suprime la proliferación cancerígena en tumores de estirpe epitelial a través de una inhibición directa del receptor del factor de crecimiento epidérmico, que es un receptor de tirosin quinasa esencial para la proliferación y diferenciación de células epiteliales. La lidocaína produce una desmetilación de ADN en las células del cáncer de mama, que se asocia a una disminución de la progresión del tumor a través de la activación de genes supresores oncológicos [157].

5.2.4. Evidencias en cirugía oncológica urológica

El cáncer de próstata es el cáncer de órgano sólido más común en los hombres y la prostatectomía retropúbica radical (RRP) sigue siendo un tratamiento eficaz para la enfermedad localizada. Sin embargo, el cáncer recidiva en el 25% de los pacientes. Tres factores perioperatorios afectan las defensas del huésped contra el cáncer. La influencia de anestésicos sistémicos en el Sistema Inmunitario, la respuesta al estrés quirúrgico y la administración de opioides sistémicos fundamentalmente.

Scavonetto y su equipo [158] utilizaron la base de datos de prostatectomía de la Clínica Mayo para examinar el papel del manejo anestésico en los resultados oncológicos. Querían demostrar la hipótesis de que la combinación de anestesia general y neuraxial reduce la recurrencia del cáncer, la progresión del cáncer sistémico y la mortalidad en este grupo de pacientes.

Este estudio incluyó 1642 pacientes en cada grupo, y concluyeron que la asociación de la anestesia general con la analgesia neuroaxial en comparación con la analgesia

intravenosa en la prostatectomía retropúbica abierta, la tasa de progresión tumoral sistémica se redujo significativamente y la supervivencia mejoró. Sus conclusiones, sin embargo, no pueden utilizarse para determinar qué elemento del manejo anestésico (por ejemplo, opiáceos intratecal, anestésicos locales) o mecanismo (reducción de la respuesta al estrés, o reducción de los opioides sistémicos) contribuyó de manera fundamental a estos resultados.

Huang et al [159] estudiaron células de cáncer de próstata (PC3) expuestas a isoflurano y propofol, valorando potencial maligno a través de expresión del factor inducible de hipoxia-1 α (HIF-1 α) y sus efectores sobre la proliferación y migración celular, así como el desarrollo de quimiorresistencia. Observaron que el isoflurano activa la expresión de HIF-1 α de una manera independiente del oxígeno que, a su vez, mejora la proliferación y migración de las células cancerosas y aumenta la resistencia a la quimioterapia. El propofol, no tuvo efecto sobre la expresión de HIF-1 α en células PC3 cuando se usó solo, pero era capaz de inhibir la acción inducida por productos químicos o isoflurano sobre la expresión de HIF-1 α .

La activación del HIF-1 α en el cáncer se correlaciona con el crecimiento tumoral, vascularización, metástasis y, por tanto, mal pronóstico. Además, suprimió el aumento de VEGF y Ki67 que se habían observado después de la exposición al isoflurano. Estos hallazgos apoyan a la creciente evidencia de que el propofol presenta ventajas frente a actividades malignas de las células cancerosas.

El isoflurano incrementa HIF-1 α en células de cáncer de próstata a través de la vía PI3K / AKT / mTOR, junto con un aumento concomitante de marcadores y mediadores de angiogénesis, proliferación y quimiorresistencia. Mientras tanto, la adición de propofol al tratamiento con isoflurano suprime todos los efectos adversos y parece hacerlo antagonizando la fosforilación de Akt.

El estudio de la asociación entre diferentes anestésicos y técnicas anestésicas y el pronóstico de cáncer de vejiga es menos frecuente. Dale Jang et al [160] fueron los primeros que investigaron el efecto de la anestesia sobre el pronóstico de los pacientes con cáncer de vejiga no metastásico. Aunque la correlación parcial del análisis demuestra que la supervivencia a cinco años tiende a ser mayor en los pacientes sometidos a anestesia regional frente a anestesia general, la asociación no fue significativa.

Weingarten [161] y su equipo querían probar la hipótesis de que la anestesia general con analgesia espinal en pacientes con cáncer de vejiga sometidos a cistectomía radical reduciría el uso sistémico de opiáceos y mejoraría los resultados oncológicos.

Dado que las transfusiones de sangre también inducen inmunosupresión, un objetivo secundario fue evaluar el efecto de las transfusiones perioperatorias sobre los resultados oncológicos. Reportaron que en los pacientes sometidos a cistectomía radical, el efecto de ahorro de opioides con anestesia espinal no se asoció con mejores resultados oncológicos, mientras que la transfusión de sangre se asoció con un aumento de la mortalidad.

Podemos concluir que, aunque hay datos alentadores sobre la anestesia regional frente a anestesia general con opiáceos intravenosos en su relación a la progresión oncológica, muchos efectos han sido observados in vitro, no presentando en ocasiones efectos clínicos relevantes, no contando actualmente con la suficiente evidencia científica como para que una técnica prevalezca sobre cualquier otra.

En relación con este primer objetivo, resumir que, aunque se precisa de estudios clínicos de calidad capaces de demostrar con evidencias clínicas claras, todos estos puntos, parece que Propofol y Lidocaína son los agentes anestésicos que podrían reducir la producción de metástasis:

- Los agentes anestésicos inhalatorios como halotano, isoflurano, enflurano y desflurano se asocian con una mayor expresión de marcadores tumorales, proliferación y la migración de células cancerígenas y un aumento en la incidencia de metástasis tumorales, debido al aumento de la concentración de VEGF y

metaloproteinasas de la matriz, junto con el incremento en la secreción de los factores inducibles por hipoxia (relacionados con la angiogénesis, crecimiento y recidiva tumoral).

- Reducir el uso de analgésicos opioides se relaciona con la recidiva oncológica. La administración aguda de dosis altas de opioides en el contexto quirúrgico puede favorecer la diseminación tumoral en los casos de cirugía oncológica al inhibir la respuesta inmune.
- Propofol, parece inhibir la propagación del tumor al tener efectos beneficiosos en la regulación de citocinas inflamatorias y preservación de actividad Nk. Y, Además, asociado a remifentanilo (IV) reduce en mayor proporción los factores relacionados con el crecimiento y migración tumoral y la respuesta inflamatoria que la asociación remifentanilo + isoflurano.
- La lidocaína podría evitar la incidencia de metástasis mediante la inhibición de invasión inoculándola en el lugar de proliferación o manipulación tumoral.

Suprime la proliferación cancerígena en tumores de estirpe epitelial a través de una inhibición directa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (receptor de tirosin quinasa esencial para la proliferación y diferenciación de células epiteliales), y desmetila el ADN en las células del cáncer de mama, hechos todos que se asocian a una disminución de la progresión del tumor a través de la activación de genes supresores oncológicos.

Por ello seleccionamos como grupos de comparación en nuestro primer ensayo clínico:

1. La anestésica general balanceada con opioides intravenosos: Usando en la anestesia general Fentanilo intraoperatorio/Cloruro mórfico postoperatorio (inducción/mantenimiento con Propofol o Sevoflurano).
2. La anestesia general combinada con anestesia regional: Usando lidocaína intraoperatoria/Ropivacaína postoperatoria. (inducción/mantenimiento con Propofol o Sevoflurano)

5.3.- Objetivo 2. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical

5.3.1. Análisis de la literatura

El cáncer de vejiga (BCa) es el cuarto cáncer más frecuente en hombres y el noveno general en el mundo [162]. Los hombres son más propensos a desarrollar BCa que las mujeres. Muchos factores de riesgo contribuyen a la malignidad y la progresión del BCa, incluyendo fumar, consumo excesivo de alcohol, entre otros [163].

Recientemente, la inflamación crónica se ha reconocido como factor de riesgo para BCa [164]. La cistectomía radical con resección de ganglios linfáticos pélvicos es el tratamiento estándar para pacientes con cáncer de vejiga infiltrante no metastásico (cT2-T4a, cN0-Nx, M0) y para pacientes con cáncer de vejiga de alto riesgo [165]. A pesar del tratamiento quirúrgico radical, la supervivencia general es de 5 años de media [166]; la incidencia de recaída en pacientes sin enfermedad metastásica clínicamente demostrada, se atribuye fundamentalmente a la presencia de micrometástasis que permanecen sin diagnosticar en el momento de la cirugía [167].

La manipulación quirúrgica da lugar a una liberación sistémica significativa de células tumorales. El hecho de que dichas células causen metástasis depende en gran parte del equilibrio entre la agresividad de las células tumorales y la adaptabilidad del cuerpo.

El estrés quirúrgico per se, los agentes anestésicos, y la administración de opioides de forma perioperatoria pueden comprometer la función inmunitaria, y podrían perturbar el equilibrio, dando lugar a la progresión de una enfermedad residual mínima.

Existe evidencia directa de que los macrófagos asociados a tumores (TAM) pueden ser inducidos por el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interferón- γ (IF- γ), interleucina (IL) 1β , IL-6, IL-23, y muestran una acción inhibitoria en la iniciación y / o progresión de BCa [168].

Recientes estudios apoyan la idea de que las células T reguladoras (Tregs) pueden promover la progresión tumoral al suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales o expresar citoquinas inflamatorias [169].

Las células asesinas naturales (NK) son linfocitos CD32+ CD56 + y desempeñan un papel importante en la respuesta inmune innata contra células tumorales, siendo células que disminuyen su actividad tanto por exposición a anestésicos como por estrés quirúrgico. Ensayos clínicos han demostrado que la cirugía disminuye la actividad de linfocitos T, B, y NK durante días después de la cirugía, favoreciendo la progresión tumoral.

Las interleuquinas (IL) participan en la iniciación y progresión del cáncer. El incremento de IL-6 está relacionado con la angiogénesis y la progresión de BCa [170]. El incremento de IL-8 también se correlaciona con la recurrencia tumoral y mal pronóstico [171].

El nivel sérico de TNF- α está notablemente elevado en pacientes con Bca, además, se observa un mayor nivel de TNF- α en pacientes en estadiaje avanzado T3 y T4 respecto a pacientes en estadio temprano T1 y T2, lo que indica que el nivel de TNF- α puede contribuir a la progresión de Bca [172]. En el microambiente inflamatorio tumoral el TNF- α incrementa la secreción de las proteasas favoreciendo de nuevo crecimiento tumoral, invasión y angiogénesis.

La administración de opioides se ha relacionado con una disminución en el número y actividad de las células NK, en la producción de citocinas inmunoestimulantes como el interferón gamma, y la ILK-2, menor proliferación y activación linfocitaria T, así como con una menor producción de anticuerpos. Además, los opioides favorecen los procesos angiogénicos al activar las vías de señalización de ciclooxigenasa-2 [173].

La anestesia regional puede evitar los efectos inmunosupresores y procancerígenos directos de medicamentos sistémicos, a la vez puede reducir los efectos inmunosupresores quirúrgicos a través del mantenimiento de la función de las células Nk y minimizar la respuesta al estrés quirúrgico y sus efectos adversos sobre el sistema inmune. Estudios anteriores han demostrado mayor supervivencia libre de cáncer en grupos expuestos a anestesia combinada (general y epidural) con respecto al grupo en el que se usó analgesia con opioides [174,175].

Ensayos clínicos compararon la concentración en plasma de cortisol, beta endorfinas y epinefrina en pacientes expuestos a anestesia general con opioides y pacientes con anestesia general más epidural y observaron que el grupo epidural demostró tener mayor número de linfocitos B y linfocitos T, preservaron interferón gamma, y normalizaban mediadores de inflamación TH1/TH2 [176].

Ante la evidencia sobre los efectos prooncogénicos de los opioides, parece probable que la administración aguda de opioides en altas dosis en un contexto quirúrgico pueda

favorecer la diseminación tumoral en los casos de cirugía oncológica. Por lo tanto, resulta necesario definir el papel de la anestesia regional y general en este tipo de cirugías.

Para abordar esa necesidad, hemos realizado un estudio observacional retrospectivo recogiendo los pacientes intervenidos de cistectomía radical durante 8 años en nuestro hospital y hemos analizado los días libres de enfermedad en el grupo que recibió anestesia general con opioides intra y postoperatorios y el que recibió anestesia general junto con analgesia epidural.

5.3.2. Análisis de los resultados del ensayo clínico prospectivo

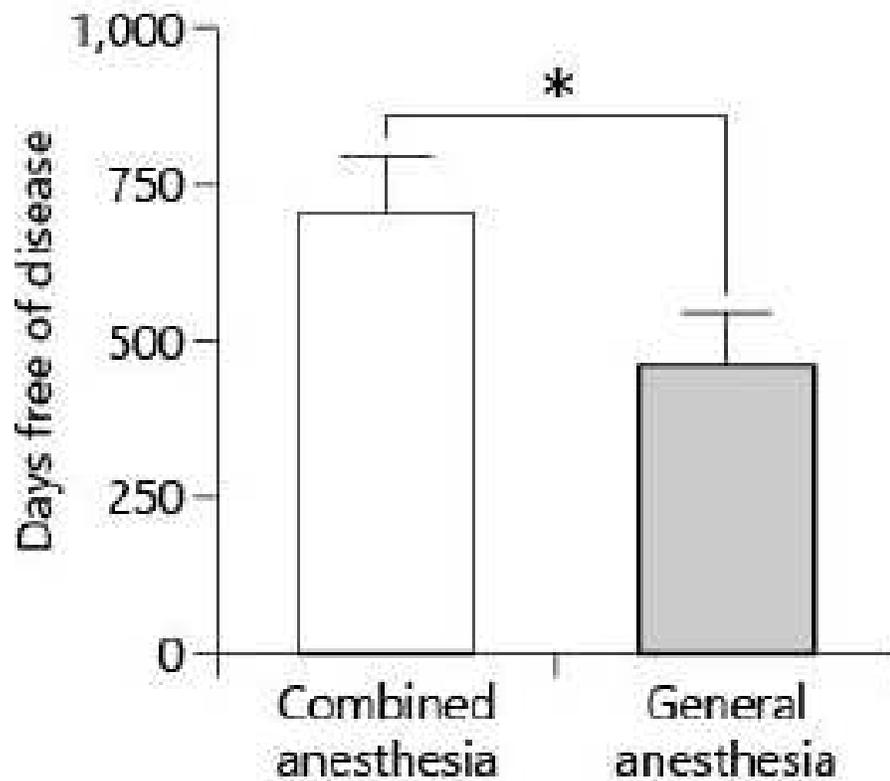
Los datos epidemiológicos de los pacientes y de los estadios tumorales de los pacientes están descritos en la Tabla 1. Un total de 100 pacientes fueron evaluados en nuestro estudio. No se observaron variaciones significativas entre los grupos.

Tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos en los factores perioperatorios y tumorales ($p > 0.05$). RBCC, sangre roja concentrado celular; GP, gemcitabina y cisplatino; MVAC, metotrexato, doxorubicina, vinblastina y cisplatino.

<!-- Col Count:4-->		Combination therapy
Intraoperative transfusion	No	31.60%
	1 RBCC	17.50%
	2 RBCC	33.30%
	≥3 RBCC	17.60%
Temperature at arrival at the postanesthesia care unit	<35°C	43.20%
	35–35.5°C	32.40%
	≥35.5°C	24.30%
Postoperative transfusion	No	80.70%
	1 RBCC	12.30%
	2 RBCC	5.30%
	≥3 RBCC	1.70%
Perioperative use of NSAIDs	No	0.00%
	Yes	100.00%
Presurgical tumor stage	T2	76.40%
	T3	10.50%
	T4	1.90%
	T2N+	7.50%
	T4N+	1.80%
	T+CIS	1.90%
Histology	0	59.50%
	GI	2.70%
	GII	16.20%
	GIIIa	8.10%
	GIIIb	2.70%
	GIVa	5.40%
	GV	5.40%
Neoadjuvant treatment	No	68.40%

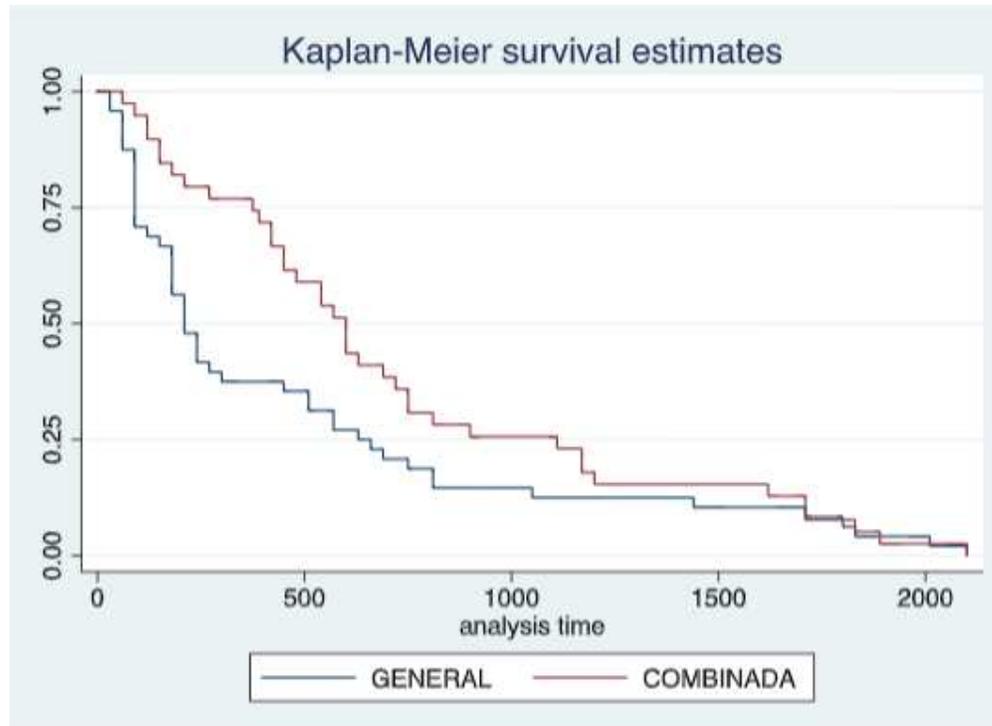
<!-- Col Count:4-->		Combination therapy
	Yes	31.60%
	GP	94.70%
	MVAC	5.30%
Lymph node involvement	No	65.50%
	1–3 nodes +	16.40%
	>3 nodes +	18.10%
Preoperative hydronephrosis	No	58.60%
	Yes	41.40%
Lymphovascular invasion	No	42.90%
	Yes	57.10%

Los pacientes a los que se les realizó una anestesia combinada tuvieron 704 días libres de enfermedad (± 570 días), los pacientes con anestesia no combinada tuvieron 464 días libres de enfermedad (± 566 días). Existiendo diferencia significativa entre ambos grupos $p=0.01$ (Figura 1).



Diferencias en días libres de enfermedad entre el grupo de anestesia general y el grupo combinado de anestesia. La mediana de supervivencia libre de enfermedad de los pacientes que recibieron anestesia combinada fue 585 (240–1,005) días versus 210 (90–645) días en el otro grupo. $p = 0.01$

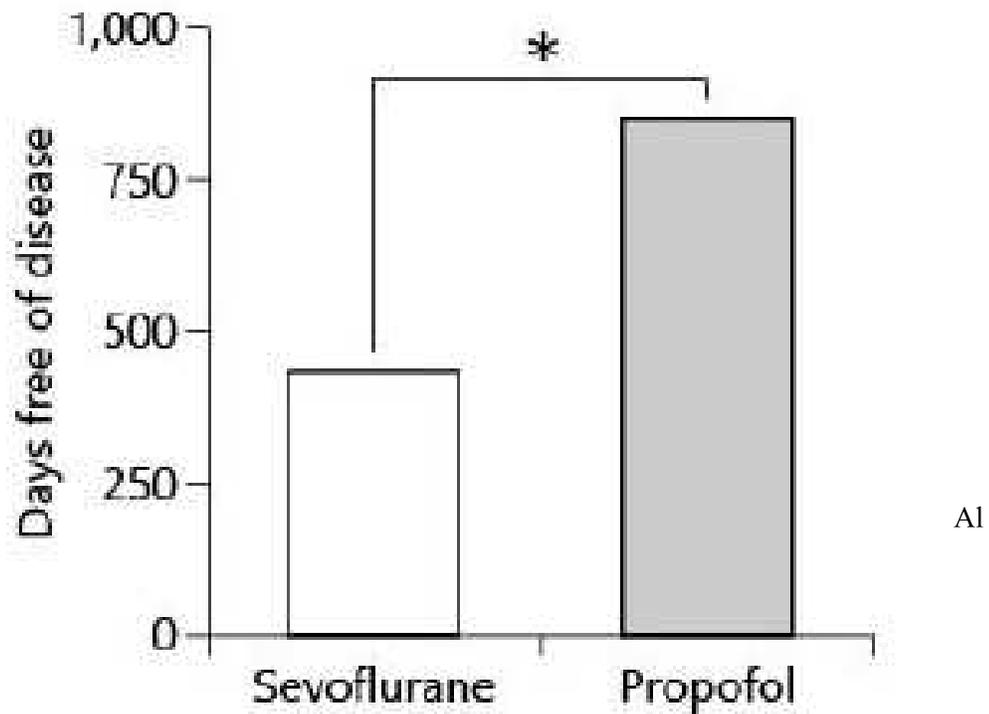
En cuanto a la técnica anestésica, los pacientes anestesiados con sevoflurano tuvieron 434 días libres de enfermedad (+/- 465 días), y aquellos en los que el hipnótico de elección fue el propofol 852 días (+/-749). Existiendo diferencia significativa entre ambos grupos $p=0.02$. (Figura 2).



Dentro del grupo de los pacientes anestesiados con sevoflurano, existieron diferencias significativas entre aquellos en los que se utilizó técnica combinada (507 +/-317 días libres de enfermedad) y aquellos que no (357 +/-501 días libres de enfermedad). $P=0.03$.

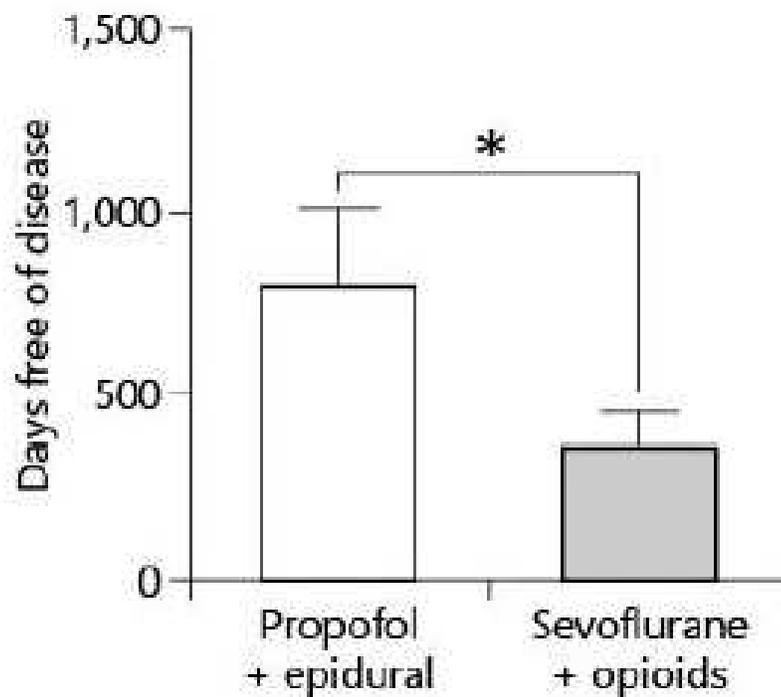
Entre los pacientes anestesiados con propofol no existieron variaciones significativas entre los grupos en los que se realizó una técnica combinada 799 +/-701 días libres de enfermedad, y los que no 912 +/-833 días libres de enfermedad. $P=0.80$.

Al realizar el análisis combinado de todos los grupos, existieron variaciones significativas en los días libres de enfermedad entre los pacientes en los que se usó una técnica combinada con propofol como hipnótico y aquellos en los que se utilizó sevoflurano y opiáceos como técnica anestésica. $P=0.02$. (Figura 3).



AI

realizar el análisis combinado de todos los grupos, existieron variaciones significativas en la supervivencia entre los pacientes en los que se usó una técnica combinada con propofol como hipnótico y aquellos en los que se utilizó sevoflurano y opiáceos como técnica anestésica. $P=0.02$. (Figura 4).



77

Hemos comparado los pacientes con cáncer vesical infiltrante, en los que se realizó una cistectomía radical, como técnica quirúrgica, y una anestesia combinada con el uso de propofol como agente hipnótico, y anestésico local como fármaco analgésico; el número de días libres de enfermedad fue mayor que en aquellos en los que los fármacos elegidos fueron el sevoflurano y los opiáceos intravasculares para su manejo perioperatorio.

En los pacientes intervenidos de cistectomía radical, el tiempo libre de enfermedad es mayor en aquellos en los que la técnica anestésica se realiza con propofol y sin el uso de opiáceos, sino con analgesia por catéter epidural con anestésicos locales.

El tiempo libre de enfermedad tumoral está relacionado con la capacidad de las células tumorales para mantener su supervivencia; gracias a un aporte continuo de sangre que perpetúa su desarrollo y crecimiento, así como la diseminación a través de la angiogénesis; y por otro lado a la inmunosupresión provocada por el tumor, que evita la lisis tumoral gracias a las condiciones inducidas sobre la inmunidad celular.

Existen otros factores que se han relacionado con la extensión tumoral, entre los que destacan la cirugía y la técnica anestésica [177]. Durante la resección tumoral se pueden producir liberación de células tumorales inicialmente latentes, y que posteriormente pueden pasar a activarse, no de manera inmediata, sino tras un intervalo libre de enfermedad, lo que conlleva la diseminación tumoral [178].

El sistema inmune juega un papel fundamental para evitar la extensión del tumor y su recidiva, a través de múltiples mediadores entre los que destacan las células NK como elementos iniciales de defensa del organismo ante la agresión tumoral; estas células producen un ataque directo de las células oncológicas de manera precoz ; posteriormente se expresará la respuesta linfocitaria, aunque se ha evidenciado con múltiples trabajos como existen distintos tumores que consiguen la colaboración de determinados linfocitos o macrófagos reprogramados por las células tumorales que contribuyen a su extensión. La cirugía per se, puede alterar estos mecanismos defensivos a favor de la diseminación tumoral al producir un estado de inmunosupresión asociado a una respuesta inflamatoria sistémica; con afectación de la actividad de las células NK [179]; en nuestro trabajo la técnica quirúrgica fue similar en todos los pacientes y realizada por los mismos cirujanos, con lo que no existieron diferencias entre grupos en el tratamiento quirúrgico y las posibilidades de diseminación tumoral, al ser igual en todos ellos.

El otro factor, motivo de nuestro estudio, que puede tener un papel fundamental en la recidiva oncológica es el procedimiento anestésico, ya que se realiza en el momento de mayor riesgo de diseminación, la manipulación quirúrgica del tumor. El acto anestésico se ha relacionado con la disfunción de múltiples mecanismos celulares de control de la diseminación tumoral, como son las células NK, linfocitos o macrófagos.

El uso de opiáceos y la estimulación del receptor μ parece tener una posible relación con un aumento de la recidiva oncológica. Estos fármacos disminuyen la respuesta de la inmunidad celular y humoral [180]; debido a ello se han propuesto el uso de técnicas alternativas al uso de opiáceos como tratamiento analgésico en cirugía oncológica.

Los mecanismos que se desencadenan tras la activación del receptor μ , por parte de los opiáceos exógenos, pueden relacionarse con la diseminación tumoral, y un menor número de días libres de enfermedad; la razón de este efecto deletéreo parece implicar distintos mecanismos, entre los que podemos destacar la modulación génica (gen NET1), la influencia sobre el sistema adrenérgico (de manera indirecta a través del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal y de manera directa a través de receptores específicos como el μ_3 , y el OGF α (receptor del factor crecimiento opioide) [181] y el efecto inmunosupresor sobre las células y mediadores relacionados con la apoptosis tumoral (células NK, linfocitos e interleukinas) [182].

Un ejemplo del efecto descrito, lo produce la morfina, en el tratamiento con doxirrubicina en el neuroblastoma (líneas celulares), donde la lisis celular es disminuida si se expone al opiáceo. Sin embargo, aunque se han conseguido relacionar las dosis bajas o medias de opiáceos con la recidiva oncológica en tumores de elevada incidencia e importancia en la población, como es el de mama, la administración de elevadas dosis de opiáceos parece tener efectos contrarios, aunque no suelen ser de uso habitual en el periodo perioperatorio.

Por otra parte, las beta-endorfinas parecen tener una acción contraria a la de los opiáceos sintéticos, favoreciendo la actividad de las células NK entre otros, esto hace que sea difícil explicar los mecanismos por los que se produce el efecto deletéreo de los opiáceos exógenos; ya que varía según quien, y en que concentración produzca la activación del receptor μ . Múltiples trabajos han relacionado el uso de los opiáceos con una mayor recidiva oncológica.

En un estudio reciente realizado en pacientes con cáncer de mama, se aleatorizaron las enfermas entre dos grupos según el manejo anestésico intraoperatorio, en el primero de ellos el agente hipnótico fue el propofol y la técnica analgésica que se realizó fue un bloqueo paravertebral; en el segundo grupo de pacientes, se usó como anestésico el sevoflurano, y la analgesia se consiguió gracias a la administración de opiáceos; tras la extracción y exposición del suero de las pacientes a una línea de células tumorales de mama de elevada agresividad se evidenció una mayor apoptosis de células oncológicas en el grupo en el que se expusieron al suero de las pacientes en las que se realizó la técnica combinada; otro trabajo previo evaluó el beneficio de esta técnica anestésica en patología oncológica, y sus conclusiones fueron que tenía la capacidad de disminuir las concentraciones de mediadores protumorales y aumentar las antioncogénicas [183,184,185].

En nuestro estudio una de las posibles causas por las que los días libre de enfermedad es mayor en el grupo de pacientes en el que se usó propofol y una técnica analgésica basada en anestésicos locales, en comparación con el uso de sevoflurano y opiáceos, similar a estos trabajos, podría estar relacionado con la preservación del efecto sobre las células NK, y los mediadores pro y antitumorales similar a estos trabajos ya que los grupos estudiados fueron parecidos en el manejo anestésico.

Si bien nuevos estudios están siendo realizados con la intención de confirmar estos hallazgos; los resultados de nuestro trabajo son consistentes con esta hipótesis. En nuestro estudio la combinación de una técnica neuroaxial, con el uso de propofol fue la técnica que mostró mayor número de días libres de enfermedad.

El tratamiento del dolor con anestésicos locales en vez de opiáceos, se ha visto relacionado también con un efecto antineoplásico; el uso de la anestesia neuroaxial se ha relacionado con una mejor función de las células NK y una disminución de la diseminación tumoral; y por lo tanto con un aumento en el número de días libres de enfermedad como encontramos en nuestro estudio. La causa por la que la administración de los anestésicos locales y la anestesia neuroaxial, pueden disminuir la recidiva tumoral y el tiempo libre de enfermedad, puede deberse a una disminución de la respuesta de estrés, del consumo de opiáceos y el efecto sobre las endorfinas endógenas.

Además, los anestésicos locales tienen efectos antiproliferativos sobre las células oncológicas, a través del oncogen Src, entre otros, distinto a su acción sobre los canales de sodio. Estudios en ciencias básicas han asociado el uso de las técnicas neuroaxiales (espinal), con una disminución de metástasis de cáncer de mama.

En pacientes con prostatectomía retropúbica la anestesia general que no asociaba anestesia neuroaxial como coadyuvante tenía una mayor tasa de recidiva en comparación con aquel en el que se realizó la técnica quirúrgica con analgesia epidural. Sin embargo, se han realizado un número elevado de trabajos en clínica valorando en distintos tipos de tumores la incidencia de la anestesia combinada o neuroaxial sobre la recidiva oncológica con resultados diversos [186].

Por lo tanto, son necesarios estudios prospectivos multicéntricos que aclaren esta posible asociación.

En nuestro trabajo evidenciamos un aumento en el número de días libres de enfermedad con el uso de la analgesia epidural.

*En cuanto al uso del agente hipnótico, los anestésicos volátiles se han relacionado con un aumento de la mitogénesis, angiogénesis, metástasis y tumores [187]. El isoflurano se ha asociado con un aumento de la proliferación tumoral, y de la angiogénesis oncológica en el cáncer de ovario y colon, en comparación con aquellos en los que se usó propofol como hipnótico.

Uno de los mecanismos propuestos como responsable de esta acción por parte de los agentes halogenados es el aumento del factor inducible de hipoxia (FIH), favorecedor de la diseminación tumoral; sin embargo, existen trabajos que evidencian la posibilidad de que esta relación sea dependiente del tipo de tumor [188].

En resumen, en relación con este objetivo, destacar que nuestro trabajo confirma que en los pacientes con cáncer vesical sometidos a cistectomía radical, la anestesia combinada con el uso de propofol como agente hipnótico, y un anestésico local como fármaco analgésico incrementó el número de días libres de enfermedad y de la supervivencia en los pacientes frente a los que se usó sevoflurano como anestésico y los opiáceos intravasculares para su manejo perioperatorio.

5.4.- Objetivo 3. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer, como el cáncer de mama

5.4.1. Situación actual sobre la relación de la técnica anestésica e influencia en la recidiva del cáncer de mama

Muchos estudios se ajustan a la hipótesis de que las técnicas regionales y evitar el uso de agentes volátiles y opioides podrían contribuir a la reducción de la enfermedad residual perioperatoria. Jaura et al. estudiaron el suero de pacientes a los que se administró anestesia con sevoflurano y opioides para el tratamiento quirúrgico primario de cáncer de mama y describieron una disminución de la apoptosis en células tumorales de mama ER-negativo respecto al suero de pacientes a los que se les administró

propofol y anestesia paravertebral [189]. Aristomenis K Exadaktylos et al. basándose en la hipótesis de que los pacientes con cáncer de mama sometidos a cirugía con anestesia general y analgesia paravertebral combinada tienen una incidencia menor de recurrencia del cáncer o metástasis que los pacientes sometidos a cirugía con anestesia general y analgesia con opioides, realizaron un análisis retrospectivo que concluyó que la anestesia paravertebral y la analgesia sin opioides, para la cirugía del cáncer de mama, reduce el riesgo de recurrencia o metástasis durante los primeros años de seguimiento [190].

Ecimovic et al. investigaron los efectos del sevoflurano en el receptor de estrógeno positivo (ER+) y receptor de estrógeno negativo (ER-) en células de cáncer de mama. En este modelo in vitro de la función celular del cáncer de mama, el sevoflurano aumentó la proliferación, migración e invasión en células ER-positivas y aumentó de la proliferación, y migración, pero no invasión en células ER-negativas [191].

Actualmente se sigue evaluando la posibilidad de que la elección del anestésico se correlacione con un aumento de la supervivencia del paciente oncológico o de disminución de recidiva tras cirugía. En estudios se ha demostrado que el propofol no produce inmunosupresión, además de regular la liberación de citocinas inflamatorias y regular la actividad NK, inhibiendo la propagación del tumor [192].

Tres estudios retrospectivos han comparado el propofol con los anestésicos volátiles en pacientes con cáncer de mama; el primero, publicado en 2014 por Enlund et al. observó diferencias en las tasas de supervivencia global (propofol vs sevoflurano) a los 5 años, a favor del propofol [193]. En el segundo no observaron ninguna diferencia en la supervivencia a los 5 años, aunque el grupo de propofol tuvo una menor tasa de recurrencia de cáncer [194].

El tercer estudio no observó diferencias ni en términos de supervivencia ni en recurrencia oncológica [195]. Sus principales limitaciones son que se trata de estudios retrospectivos que no estandarizan el tratamiento y no aleatorizan los grupos de pacientes, por lo tanto, los efectos de los factores de confusión y el sesgo de selección pueden llevar a conclusiones erróneas. Por otro lado, el estudio de Lee et al. usó una muestra poblacional pequeña [196] y en el de Kim et al. existió una gran heterogeneidad entre grupos [197].

Para obtener evidencia sólida de una relación causal entre los anestésicos y los resultados en el cáncer se necesitan ensayos controlados aleatorios; hay seis ensayos clínicos prospectivos aleatorizados registrados actualmente en los que se compara el papel de los anestésicos volátiles y del propofol en cirugía oncológica [198].

Es relevante el papel de la IL-10 como inhibidor de metástasis tumorales a través de un papel NK-dependiente. La interleucina IL-10 es producida por linfocitos Th2, que participan en la inhibición de citoquinas pro-inflamatorias y sirve para regular la respuesta inmune, estimulando la actividad NK e inhibiendo la respuesta inflamatoria mediada por las células dendríticas y los macrófagos, así como reducir las respuestas adaptativas de las células T CD4+. Sultan et al. en un ensayo con 33 pacientes de cirugía de cáncer de mama que recibieron sevoflurano y opioide exhibieron un IL10

sérico significativamente más bajo en proporción a los que recibieron propofol y anestesia paravertebral [199].

A. Buckley et al. observaron que en pacientes sometidos a anestesia general se produce una disminución de IL-10. Anteriores estudios *in vitro* de cáncer de mama y ovario encontraron aumentos de IL-10 en el suero de pacientes sometidas a técnicas de anestesia regional [200].

La variación del receptor MOR (A118G), relacionada con una disminución de la unión y respuesta al opioide, se ha asociado con un descenso de la mortalidad en el cáncer de mama en estadios avanzados. Sin embargo, la exposición crónica a morfina en células de cáncer de mama humanas, parece atenuar el crecimiento celular e incrementa la apoptosis [201].

En cirugía oncológica de mama, la realización de bloqueo epidural torácico se relacionó con unos niveles menores de ILK-1 beta, e ILK-8, y un aumento de ILK-10, en comparación a la anestesia general. En un ensayo clínico llevado a cabo con 32 mujeres sometidas a cirugía primaria de cáncer de mama, se estudió el uso de propofol y anestesia paravertebral, demostrando disminución de IL-1b, MMP-3 y MMP-9, y un aumento significativo de IL-10, en comparación con sevoflurano y morfina [202]. Esta influencia antiinflamatoria de la anestesia regional puede apoyar un efecto beneficioso sobre el huésped.

La cirugía, con indudable potencial curativo, se asocia con la liberación al torrente sanguíneo de células tumorales con potencial metastásico. El estrés quirúrgico genera un estado de inmunosupresión que puede favorecer la aparición de recidiva tumoral. Actualmente existe una creciente evidencia de que la técnica anestésica, así como los fármacos anestésicos, pueden tener una implicación significativa a largo plazo en la diseminación tumoral y recidiva oncológica.

La utilización de técnicas anestésicas/analgésicas que protejan la respuesta inmune antimetastásica del organismo en un periodo de máxima susceptibilidad protumoral puede reflejarse en una menor progresión tumoral. Una limitación importante de la evidencia disponible es el hecho de que la mayoría de estudios reflejan condiciones *in vitro* que no reproducen fielmente las condiciones de la biología oncológica *in vivo*.

Aunque se requieren ensayos clínicos aleatorizados que puedan responder a la pregunta de si las técnicas y fármacos anestésicos pueden verdaderamente reducir la recurrencia del cáncer de mama y aumentar la supervivencia de estos pacientes oncológicos, parece que la anestesia general con propofol asociada a técnicas regionales como la analgesia paravertebral o la epidural y evitar el uso de agentes volátiles como sevoflurano y los opioides podrían contribuir a la reducción de la enfermedad residual perioperatoria en el cáncer de mama.

6.1 LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y POSIBILIDADES DE FUTURO

Limitación	Posibles soluciones
------------	---------------------

No existencia de ensayos clínicos de calidad	Desarrollar ensayos de calidad, prospectivos, aleatorizados, controlados, con brazos de estudio predeterminados en base a los conocimientos adquiridos de la literatura
Población limitada	Desarrollar ensayos multicéntricos de calidad
Escasas evidencias sobre el mecanismo por el cual algunos anestésicos son protectores y otros facilitadores de la recidiva	Incorporar analíticas generales y específicas y estudios de biomarcadores a los ensayos clínicos

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

Del análisis pormenorizado de los resultados obtenidos hemos extraído las siguientes conclusiones:

Respecto al primer objetivo. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica.

Aunque se precisa de estudios clínicos de calidad capaces de demostrar con evidencias clínicas claras, concluimos que:

1. Los anestésicos inhalatorios y opiáceos podrían favorecer la recurrencia y progresión del cáncer porque:
 - a. Los agentes anestésicos inhalatorios como halotano, isoflurano, enflurano y desflurano se asocian con una mayor expresión de marcadores tumorales, proliferación y la migración de células cancerígenas y un aumento en la incidencia de metástasis tumorales debido al aumento de la concentración de VEGF y de metaloproteinasas de la matriz, junto con el incremento en la secreción de factores inducibles por hipoxia relacionados con la angiogénesis, crecimiento y recidiva tumoral.
 - b. La administración aguda de dosis altas de opioides en el contexto quirúrgico puede favorecer la diseminación tumoral en los casos de cirugía oncológica al inhibir la respuesta inmune y reducir el uso de analgésicos opioides se relaciona con la recidiva oncológica.
2. Mientras que propofol y lidocaína son los agentes anestésicos y analgésicos que podrían reducir la recurrencia y progresión del cáncer porque:
 - a. Propofol, parece inhibir las citocinas inflamatorias y preservar la actividad Nk. Además, asociado a remifentanilo IV reduce en mayor proporción los factores relacionados con el crecimiento y migración tumoral y la respuesta inflamatoria que la asociación remifentanilo + isoflurano.
 - b. La lidocaína podría inhibir el receptor del factor de crecimiento epidérmico (receptor de tirosin quinasa esencial para la proliferación y diferenciación de células epiteliales), y desmetilar el ADN en las células del cáncer de mama, hechos asociados la activación de genes supresores oncológicos y a la disminución de la progresión del tumor.

Respecto al segundo objetivo. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia general basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante



sometidos a cistectomía radical analizando la relación entre los agentes anestésicos y la incidencia de recidivas oncológicas (número de días libres de enfermedad) y la supervivencia.

3. En los pacientes con cáncer vesical infiltrante, en los que se realizó una cistectomía radical con reconstrucción vesical tipo Bricker, como técnica quirúrgica, y una anestesia combinada con el uso de propofol como agente hipnótico, y anestésico local como fármaco analgésico; el número de días libres de enfermedad fue mayor que en aquellos en los que los fármacos elegidos fueron el sevoflurano y los opiáceos intravasculares para su manejo perioperatorio.

Respecto al tercer objetivo. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer como el de mama.

4. Aunque se requieren ensayos clínicos aleatorizados que puedan responder a la pregunta de si las técnicas y fármacos anestésicos pueden verdaderamente reducir la recurrencia del cáncer de mama y aumentar la supervivencia de estos pacientes oncológicos, parece que la anestesia general con propofol asociada a técnicas regionales como la analgesia paravertebral o la epidural y evitar el uso de agentes volátiles como sevoflurano y los opioides podrían contribuir a la reducción de la enfermedad residual perioperatoria en el cáncer de mama.

RELACIÓN DE LOS OBJETIVOS Y CONCLUSIONES DE LA TESIS CON LAS PUBLICACIONES AVAL

Los principales resultados obtenidos en el primer objetivo. Revisar la literatura disponible para determinar el potencial efecto de los agentes anestésicos en la progresión de la enfermedad oncológica han sido objeto de estas dos publicaciones:

- **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L, Baena López M, Malo Manso A, Fernandez Ramirez A, Ramirez Fernandez M, Loras P, Gallego M, Bermudez L, Biteri A, Fontaneda A, Gil E, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. *The effects of the Anesthetic agents on the oncologic progression*. Review of literature. SF J Surg. 2017; 1:1
- Malo-Manso A, **Raigon-Ponferrada A**, Diaz-Crespo J, Escalona-Belmonte JJ, Cruz-Mañas J, Guerrero-Orriach JL. *Opioid Free Anaesthesia and Cancer*. Curr Pharm Des. 2019;25(28):3011-3019. doi: 10.2174/1381612825666190705183754.

Los principales resultados obtenidos en el segundo objetivo. Comparar el efecto de la anestesia combinada versus analgesia basada en opiáceos en pacientes con cáncer vesical infiltrante sometidos a cistectomía radical: Analizar la relación entre el hipnótico utilizado y la supervivencia oncológica. La incidencia de recidivas oncológicas (número de días libres de enfermedad). Y la supervivencia. Han sido objeto de estas dos publicaciones

- Orriach JLG, **Raigon-Ponferrada A**, Buggy DJ. *Can Anaesthesia and Analgesia. Interventions During Cáncer Surgery Influence Recurrence or Metástasis?* Curr Pharm Des. 2019;25(28):2997. doi: 10.2174/138161282528191007155536.
- Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Herrera Imbroda B, Escalona Belmonte JJ, Ramirez Aliaga M, Ramirez Fernandez A, Diaz Crespo J, Soriano Perez AM, Fontaneda Heredia A, Dominguez Recio ME, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. *Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia*. Oncology. 2020;98(3):161-167. doi: 10.1159/000504807.
- **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L. *Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia – Beyond The Abstract*. UroToday. <https://www.urotoday.com/recentabstracts/urologiconcology/bladdercancer/119934-anesthesia-in-combination-with-propofol-increases-disease-free-survival-in-bladder-cancer-patients-who-undergo-radical-tumor-cystectomy-as-compared-to-inhalational-anesthetics-and-opiate-based-analgesia-beyond-the-abstract.html>

- Comunicación oral: 64 Reunión anual de la asociación Andaluza-Extremeña de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del dolor. Mesa de Controversia: "Anestesia y su posible relación con el cáncer".

Los principales resultados obtenidos en el tercer objetivo. Valorar si los datos obtenidos se pueden extender a otros tipos de cáncer como el de mama. Han sido objeto de esta publicación:

- **Raigon-Ponferrada A**, Recio MED, Guerrero-Orriach JL, Malo-Manso A, Escalona-Belmonte JJ, Aliaga MR, Fernández AR, García FJF, Conejo EA, Cruz-Mañas J. *Breast Cancer and Anesthesia*. *Curr Pharm Des*. 2019;25(28):2998-3004. doi: 10.2174/1381612825666190712183436.

Y puedo aportar estas dos publicaciones nuevas, la primera recientemente publicada y la segunda submitida y en revisión:

- **Raigon Ponferrada A**, Guerrero Orriach JL, Malo Manso A, Sepúlveda Haro E, Romero Molina S, Fontaneda Heredia A, Baena Lopez M, Cruz Mañas J. *Anaesthesia and cancer: can anaesthetic drugs modify gene expression?* *ecancer* 2020, 14:1080; www.ecancer.org; DOI: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1080>
- Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Romero Molina S, and Cruz Mañas. *Anaesthesia miRNA 145: The new cornerstone in oncologic therapy. Anesthetics implications*. *Journal Current Pharmaceutical Design*. (Preceptado)

Y, respecto a la propuesta de desarrollar estudios clínicos futuros con mayor nivel de evidencia que puedan esclarecer el papel de los fármacos anestésicos y adyuvantes en el paciente oncológico en el periodo perioperatorio, indicar que disponemos de la financiación de este par de proyectos concedidos en convocatorias competitivas:

- Co-Investigadora Principal en el siguiente estudio independiente: "Variaciones del miRNA-145 dependiente del régimen anestésico intraoperatorio en cirugía laparoscópica de prostatectomía radical por cáncer de próstata". IP: Guerrero Orriach JL (en Comité Ético)
- Co-Investigadora Principal en el siguiente estudio independiente: "Factores perioperatorios relacionados con las diferencias en recidiva del cáncer de mama". IP: Guerrero Orriach JL (en Comité Ético)

SIGLAS

8. SIGLAS

AAS	Ácido acetil salicílico
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASRA	The American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine
ncRNA	ARN no codificante
tRNA	ARN de transferencia
tRNA	ARN de transferencia
Bca	Cáncer de vejiga
CircRNA	ARN circular
CamK-A	Quinasa dependiente de calcio
CAM	La mínima fracción de gas anestésico presente en la mezcla de gases (que componen el llamado gas alveolar) necesaria para impedir movimiento frente a un estímulo quirúrgico en el 50% de los individuos.
CHC	Carcinoma hepatocelular
CTLs	Linfocitos T citotóxicos CD8+
CEIm	Comité de Ética de la Investigación provincial de Málaga
CMI	Inmunidad celular
COX-2	Ciclo oxigenasa 2
EVA	Escala Visual Analógica
HPA	Eje hipotalámico-hipófiso-suprarrenal
IL	Interleucina
IF-γ	Interferón- γ
IV	Intravenoso
MMP	Metaloproteinasas
MNTX	Metilnaltrexona
MOR	Receptor opioide μ

MSC	Células del tallo mesenquimal
N2O	Óxido nitroso
NBPC	Normas de Buena Práctica Clínica
NMIBC	Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer
NK	Natural Killer
PGE2	Prostaglandina E2
PUMA	The p53 up regulated modulator of apoptosis
RRP	Prostatectomía retropúbica radical
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SAGE	Análisis en serie de la expresión génica
SNS	Sistema nervioso simpático
TAM	Macrófagos asociados a tumores
TIVA	Anestesia intravenosa total
TLR4	Toll-like receptor 4
Tregs	Células T reguladoras
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta
TNF -α	Factor de necrosis tumoral- α
URPA	Unidad de recuperación postanestésica
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VBSC	Canales de sodio dependientes de voltaje

BIBLIOGRAFIA

9. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Pilleron S, Sarfati D, Janssen-Heijnen M, et al. Global cancer incidence in older adults, 2012 and 2035: a population-based study. *Int J cancer*. 2019;144: 49e58.
- 2.- Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331:1565–70.
- 3.- Reijmen E., Vannucci L., De Coucke M., De Grève J., Gidron Y. Therapeutic potential of the vagus nerve in cancer. *Immunology Letters*. 2018;202:38-43.
- 4.- Baum M, Demicheli R, Hrushesky W, et al. Does surgery unfavourably perturb the “natural history” of early breast cancer by accelerating the appearance of distant metastases? *Eur J cancer*. 2005;41(4):508–15.
- 5.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res*. 2002; 62:4491-4498.
- 6.- Lennon FE, Moss J, Singleton PA. The mu-opioid receptor in cancer progression: is there a direct effect? *Anesthesiology*. 2012; 116:940-945.
- 7.- Jaura AI, Flood G, Gallagher HC, Buggy DJ. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113(1):9.
- 8.-Conrick-Martin I, Kell MR, Buggy DJ. Meta-analysis of the effect of central neuraxial regional anesthesia compared with general anesthesia on postoperative natural killer T lymphocyte function. *J Clin Anesth*. 2012;24:3–7.
- 9.- Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331:1565–70.
- 10.- Buckley A, McQuaid S, Johnson P, Buggy DJ. Effect of anaesthetic technique on the natural killer cell anti-tumour activity of serum from women undergoing breast cancer surgery: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i56–i62.
- 11.- Wang YC, He F, Feng F, Liu XW, Dong GY, et al. Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses. *Cancer Res*. 2010;70:4840–9.
- 12.- Deegan CA, Murray D, Doran P, Moriarty DC, et al. Anesthetic technique and the cytokine and matrix metalloproteinase response to primary breast cancer surgery. *Reg Anesth Pain Med*. 2010;35:490–5.
- 13.- Heaney A, Buggy DJ: Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis? *Br J Anaesth*. 2012;109 Suppl 1:i17-i28.
- 14.- Patricia Ecimovic, Blaithnaid Mchugh, David Murray, Peter Doran, Buggy DJ. Effects of Sevoflurane on Breast cancer Cell Function In Vitro. *Anticancer Research*. 2013;33: 4255-4260.
- 15.- F. Jeroen Vogelaar, Daan J. Lips, Frank R.C. van Dorsten, et al. Impact of anaesthetic technique on survival in colon cancer: a review of the literature. *Gastroenterology Report*. 2016; 4(1), 30–34.
- 16.- T. Wall, A. Sherwin, D. J. Buggy. Influence of perioperative anaesthetic and analgesic interventions on oncological outcomes: a narrative review. *Br. J. Anaesth*. 2019;123(2): 135e150.
- 17.- Brand L, Munding J, Pox CP, et al. ss-catenin, Cox-2 and p53 immunostaining in colorectal adenomas to predict recurrence after endoscopic polypectomy. *Int J Colorectal*. 2013;28(8):1091–8.
- 18.- Tavare AN, Perry NJ, Benzonana LL, Takata M, Ma D. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J Cancer*. 2012;130(6):1237-50.

- 19.- Retsky M, Rogers R, Demicheli R, Hrushesky WJ, et al. NSAID analgesic ketorolac used perioperatively may suppress early breast cancer relapse: particular relevance to triple negative subgroup. *Breast cancer Res Treat.* 2012;134: 881-8.
- 20.- Kvolik S, Dobrosevic B, Marczi S, Prlic L, Glavas-Obrovac L. Different apoptosis ratios and gene expressions in two human cell lines after sevoflurane anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2009;53:1192-9.
- 21.- Huitink JM, Heimerikxs M, Nieuwland M, et al. Volatile anesthetics modulate gene expression in breast and brain tumor cells. *Anesth Analg.* 2010;111(6):1411-5.
- 22.- Benzonana LL, Perry NJS, Watts HR, Yang B, et al. Isoflurane, a commonly used volatile anesthetic, enhances renal cancer growth and malignant potential via the hypoxia inducible factor cellular signalling pathway in vitro. *Anesthesiology.* 2013;119:593-605.
- 23.- Huang H, Benzonana LL, Zhao H, Watts HR, NJS Perry, et al. Prostate cancer cell malignancy via modulation of HIF-1 α pathway with isoflurane and propofol alone and in combination. *Br J Cancer.* 2014;111:1338-49.
- 24.- Melamed R, Bar-Yosef S, Shakhar G, Shakhar K, Ben-Eliyahu S. Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg.* 2003;97: 1331-1339.
- 25.- Wigmore TJ, Mohammed K, Jhanji S. Long-term survival for patients undergoing volatile versus iv anesthesia for cancer surgery: a retrospective analysis. *Anesthesiology.* 2016;124(1):69-79.
- 26.- Lee JH, Kang SH, Kim Y, Kim HA, Kim BS. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on recurrence and overall survival in patients after modified radical mastectomy: a retrospective study. *Korean J Anesthesiol.* 2016;69(2):126-32.
- 27.- Jun IJ, Jo JY, Kim JI, et al. Impact of anesthetic agents on overall and recurrence-free survival in patients undergoing esophageal cancer surgery: A retrospective observational study. *Sci Rep.* 2017;7(1):14020.
- 28.- Soltanizadeh S, Degett TH, Gögenur I. Outcomes of cancer surgery after inhalational and intravenous anesthesia: A systematic review. *J Clin Anesth.* 2017;42:19-25.
- 29.- Zheng X, Wang Y, Dong L, et al. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on gastric cancer: a retrospective study. *Onco Targets Ther.* 2018;11:1141-1148.
- 30.- Oh TK, Kim K, Jheon S, et al. Long-term oncologic outcomes for patients undergoing volatile versus intravenous anesthesia for non-small cell lung cancer surgery: a retrospective propensity matching analysis. *Cancer Control.* 2018;25(1):1073274818775360.
- 31.- Byrne K, Levins KJ, Buggy DJ. Can anesthetic-analgesic technique during primary cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Can J Anesth.* 2016;63 (2):184-192.
- 32.- Lee JH, Kang SH, Kim Y, Kim HA, Kim BS. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on recurrence and overall survival in patients after modified radical mastectomy: a retrospective study. *Korean J Anesthesiol.* 2016;69(2):126-32.
- 33.- Huang H, Benzonana LL, Zhao H, Watts HR, et al. Prostate cancer cell malignancy via modulation of HIF-1 α pathway with isoflurane and propofol alone and in combination. *Br J Cancer.* 2014;111:1338-49.
- 34.- Carlijn R. Hooijmansa, Florentine J. Geessinkb, Merel Ritskes-Hoitingaa, et al. A systematic review and meta-analysis of the ability of analgesic drugs to reduce metastasis in experimental cancer models. *Pain.* 2015;156:1835-1844.

- 35.- Wada H, Seki S, Takahashi T, et al. Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving TH1/TH2 cytokine balance. *Anesthesiology*. 2007;106: 499–506.
- 36.- Xiaobei Zhang, Fangxuan Li, et al. Propofol Reduced Mammosphere Formation of Breast cancer Stem Cells via PD-L1/Nanog In Vitro. Volume 2019, Article ID 9078209, 9 pages.
- 37.- K. Tatsumi, A. Hirotsu, H. Daijo, T. Matsuyama, et al. “Effect of propofol on androgen receptor activity in prostate cancer cells,” *European Journal of Pharmacology*, vol. 809, pp. 242–252, 2017.
- 38.- A. I. Jaura, G. Flood, H. C. Gallagher, D. J. Buggy. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br. J. Anaesth.* 2014;113 (S1): i63–i67.
- 39.- H. Zhao, X. Zhang, Y. Zheng et al. Propofol protects rat cardiomyocytes from anthracycline-induced apoptosis by regulating MicroRNA-181a in vitro and in vivo. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2018, Article ID 2109216, 11 pages.
- 40.- Wigmore TJ1, Mohammed K, Jhanji S. Long-term Survival for Patients Undergoing Volatile versus IV Anesthesia for cancer Surgery: A Retrospective Analysis. *Anesthesiology*. 2016;124(1):69-79.
- 41.- Enlund M, Berglund A, Andreasson K, et al. The choice of anaesthetic--sevoflurane or propofol--and outcome from cancer surgery: a retrospective analysis. *Ups J Med Sci*. 2014;119(3):251-61.
- 42.- Soltanizadeh S, Degett TH, Gögenur I. Outcomes of cancer surgery after inhalational and intravenous anesthesia: A systematic review. *J Clin Anesth.* 2017;42:19-25.
- 43.- Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariev B, et al. Overexpression of the mu-opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes Akt and mTOR activation, tumor growth, and metastasis. *Anesthesiology*. 2012;116(4):857–67.
- 44.- Singleton PA, Mirzapioazova T, Hasina R, Salgia R, Moss J. Increased μ -opioid receptor expression in metastatic lung cancer. *Br J Anaesth.* 2014;113 Suppl 1:i103-8.
- 45.- Cieślińska A, Sienkiewicz-Szopka E, Kostyra E, Fiedorowicz E, et al. M-Opioid receptor gene (OPRM1) polymorphism in patients with breast cancer. *Tumour Biol.* 2015;36:4655± 4660.
- 46.- Nguyen J, Luk K, Vang D, et al. Morphine stimulates cancer progression and mast cell activation and impairs survival in transgenic mice with breast cancer. *Br J Anaesth.* 2014;113 Suppl 1:i4-13.
- 47.- Heaney A, Buggy DJ: Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis? *Br J Anaesth.* 2012;109 Suppl 1:i17-i28.
- 48.- Jaura AI, Flood G, Gallagher HC, Buggy DJ. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth.* 2014;113(1):9.
- 49.- Cosinella F, Prieto I, del Olmo M, Rivas S, Strichartz GR. Cancer surgery: how may anaesthesia influence outcome? *J Clin Anaesth.* 2015;27:262-72.
- 50.- Y. Zhu, X. Zhang, Y. Liu et al. Antitumor effect of the mTOR inhibitor everolimus in combination with trastuzumab on human breast cancer stem cells in vitro and in vivo. *Tumour Biology*. 2012;vol. 33, no. 5, pp. 1349–1362.
- 51.- Kanupriya Kumar, Meghan A. Kirksey, et al. A Review of Opioid-Sparing Modalities in Perioperative Pain Management: Methods to Decrease Opioid Use Postoperatively. *Anesth Analg.* 2017;125(5): 1749-1760.

- 52.- Y. Liu, X. Zhang, J. Liu, G. Hou, S. Zhang, J. Zhang. Everolimus in combination with letrozole inhibit human breast cancer MCF-7/Aro stem cells via PI3K/mTOR pathway: an experimental study. *Tumour Biology*. 2014;vol. 35, no. 2, pp. 1275–1286.
- 53.- Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariev B, et al. Overexpression of the mu-opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes AKT and mTOR activation, tumor growth and metastasis. *Anaesthesiology*. 2012;116(4):857-67.
- 54.- Deegan CA, Murray D, Doran P, Moriarty DC, et al. Anesthetic technique and the cytokine and matrix metalloproteinase response to primary breast cancer surgery. *Reg Anesth Pain Med*. 2010;35:490–5
- 55.- Janku F, Johnson LK, Karp DD, Atkins JT, Singleton PA, Moss J. Treatment with methylnaltrexone is associated with increased survival in patients with advanced cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(11):2032-2038.
- 56.- C. Connolly¹, S. F. Madden, D. J. Buggy, H. C. Gallagher. Expression of anaesthetic and analgesic drug target genes in excised breast tumour tissue: Association with clinical disease recurrence or metastasis. 2017.PLoS ONE 12(5):e0177105.
- 57.- Mulier J, De Kock M. Opioid free general anesthesia, a new paradigm?. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2017;31(4):441-443.
- 58.- Farooqui M, Li Y, Rogers T, et al. COX-2 inhibitor celecoxib prevents chronic morphine-induced promotion of angiogenesis, tumour growth, metastasis and mortality, without compromising analgesia. *Br J cancer*. 2007;97(11):1523–31.
- 59.- Brand L, Munding J, Pox CP, et al. ss-catenin, Cox-2 and p53 immunostaining in colorectal adenomas to predict recurrence after endoscopic polypectomy. *Int J Colorectal*. 2013;28(8):1091–8.
- 60.- Lee JY, Myung SK, Song YS. Prognostic role of cyclooxygenase-2 in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis of observational studies. *Gynecol Oncol*. 2013;129(3):613–9.
- 61.- Desmedt C, Demicheli R, Fornili M, Bachir I, Duca M, et al. Potential Benefit of Intra-operative Administration of Ketorolac on Breast cancer Recurrence According to the Patient's Body Mass Index. *J Natl cancer Inst*. 2018.
- 62.- Forget P, Berlière M, Maanen AV, et al. Ketorolac in Breast cancer trial (KBCtrial) group. Perioperative ketorolac in high risk breast cancer patients. Rationale, feasibility and methodology of prospective randomized placebo-controlled trial. *Med Hypotheses*. 2013.
- 63.- Harprit Kaur Madan et al. Comparison of Intravenous Lignocaine, Tramadol and Ketorolac for Attenuation of Propofol Injection Pain. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016; Vol-10(7): UC05-UC08.
- 64.- D'Agostino G, Saporito A, Cecchinato V, et al. Lidocaine inhibits cytoskeletal remodelling and human breast cancer cell migration. *BJA*. 2018;Volume 121, Issue 4, Pag 962-968.
- 65.- Jiang Y, Gou H, Zhu J, Tian S, Yu L. Lidocaine inhibits the invasion and migration of TRPV6-expressing cancer cells by TRPV6 downregulation. *Oncology Letters*. 2016;12:1164-1170.
- 66.- Mohammed Tiouririne et al. IV Lidocaine for Patients Undergoing Primary Breast cancer Surgery: Effects on Postoperative Recovery and cancer Recurrence. *ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01204242*
- 67.- Wall, T., Sherwin, A., Ma, D., Buggy, D. J. Influence of perioperative anaesthetic and analgesic interventions on oncological outcomes: a narrative review. *British journal of anaesthesia*. 2019.

- 68.- Missair, A., Cata, J. P., Votta-Velis, G., et al. Impact of perioperative pain management on cancer recurrence: an ASRA/ESRA special article. *Reg Anesth Pain Med.* 2019;44(1), 13-28.
- 69.- Chamaroux-Tran, T. N., Mathelin, C., Aprahamian, M., et al. Antitumor effects of lidocaine on human breast cancer cells: an in vitro and in vivo experimental trial. *Anticancer research*, 2018;38(1), 95-105.
- 70.- Aird J, Baird AM, Lim MC, McDermott R, et al. Carcinogenesis in prostate cancer: the role of long noncoding RNAs. *Non-coding RNA Res.* 2018;3 29–38.
- 71.- J. G. Azofoifa, M. A. Allen, J. R. Hendrix, T. Read, J. D. Rubin, and R. D. Dowell, “Enhancer RNA profiling predicts transcription factor activity,” *Genome Research*, vol. 28, no. 3, pp. 334–344, 2018.
- 72.- Yang Guo, Jiechao Yang, Qiang Huang, et al. Circular RNAs and their roles in head and neck cancers. *Molecular Cancer.* 2019;18:44.
- 73- Yuhan Liu ,1 Mengting Ding, et al. Current Advances on the Important Roles of Enhancer RNAs in Gene Regulation and Cancer. Volume 2018, Article ID 2405351, 6 pages.
- 74.- Yi Sang, JianjunTang, Siwei Li, Liping Li1, XiaoFengTang, et al. LncRNA PANDAR regulates the G1/S transition of breast cancer cells by suppressing p16INK4A expresión. *Sci Rep.* 2016;6: 22366.
- 75.- B. Kolendowski, H. Hassan, M. Krstic et al. Genome-wide analysis reveals a role for TDG in estrogen receptor-mediated enhancer RNA transcription and 3-dimensional reorganization. *Epigenetics & Chromatin.* 2018;vol. 11, no. 1, article 5.
- 76.- B. P. Sweeney. Do genes influence outcome from anaesthesia? Editorial IV.
- 77.- Yang-Hsiang Lin 1,2, Meng-HanWu 1, et al. Long Non-Coding RNAs as Mediators of Tumor Microenvironment and Liver cancer Cell Communication. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19, 3742.
- 78.- Sufang Jiang, Ya Liu, Lining Huang. Effects of propofol on cancer development and chemotherapy: Potential mechanisms. 2018;Volume 831,Pages 46-51.
- 79.- Yuan, Y.; Jiang, Y.C.; Sun, C.K.; Chen, Q.M. Role of the tumor microenvironment in tumor progression and the clinical applications (Review). *Oncol. Rep.* 2016; 35, 2499–2515
- 80.- He, M.; Xu, Z.; Ding, T.; Kuang, D.M.; Zheng, L. MicroRNA-155 regulates inflammatory cytokine production in tumor-associated macrophages via targeting C/EBPbeta. *Cell. Mol. Immunol.* 2009; 6, 343–352.
- 81.- Chai, Z.T.; Zhu, X.D.; Ao, J.Y.; Wang, et al. microRNA-26a suppresses recruitment of macrophages by down-regulating macrophage colony-stimulating factor expression through the PI3K/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *J. Hematol. Oncol.* 2015; 8,56.
- 82.- Z. Su, Q.P Wen, X.K. How. Propofol induces apoptosis of epithelial ovarian cancer cells by upregulation of microRNA let-7i expression. *European journal of gynaecological oncology.* 2014;35(6):688-91.
- 83.- Xu S1, Lou F, Wu Y, et al. Circulating tumor DNA identified by targeted sequencing in advanced-stage non-small cell lung cancer patients. *Cancer Lett.* 2016;28;370(2):324-31.
- 84.- Zhang,Y, Lixing Yang,Melanie Kucherlapati,et al. A Pan-Cancer Compendium of Genes Deregulated by Somatic Genomic Rearrangement across More Than 1,400 Cases. *Cell Rep.* 2018; 24(2): 515–527.
- 85.- Radhika Nair, Wee Siang Teo, Vivek Mittal. ID Proteins Regulate Diverse Aspects of cancer Progression and Provide Novel Therapeutic Opportunities. *Mol Ther.* 2014; 22(8):1407–1415.

- 86.- Zimin Liu, Jian Zhang, Guangchen Hong, Jinping Quan, Lin Zhang, et al. Propofol inhibits growth and invasion of pancreatic cancer cells through regulation of the miR-21/Slug signaling pathway. *Am J Transl Res.* 2016;8(10): 4120–4133.
- 87.- Liu Z1, Zhang J2, Hong G3, Quan J2, et al. Propofol inhibits growth and invasion of pancreatic cancer cells through regulation of the miR-21/Slug signaling pathway. *American Journal of Translational Research.* 2016;8(10):4120-4133.
- 88.- Cai Q, Wang Z, Wang S, Weng M, Zhou D, Li C, et al. Long non-coding RNA LINC00152 promotes gallbladder cancer metastasis and epithelial–mesenchymal transition by regulating HIF-1 α via miR-138. *Open Biol.* 2014;7: 160247.
- 89.- Tao, L.; Huang, G.; Song, H.; Chen, Y.; Chen, L. Cancer associated fibroblasts: An essential role in the tumor microenvironment. *Oncol. Lett.* 2017;14, 2611–2620.
- 90.- Wu, Y.; Ding, J.; Sun, Q.; Zhou, K.; et al. Long noncoding RNA hypoxia-inducible factor 1 alpha-antisense RNA 1 promotes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis through caspase 3 in Kupffer cells. *Medicine.* 2018;97, e9483.
- 91.- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. *CA cancer J Clin.* 2016; 66:7-30.
- 92.- Alfred Witjes J, Lebret T, Compérat EM, et al. Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol.* 2016.
- 93.- Ploussard G, Shariat SF, Dragomir A, et al. Conditional survival after radical cystectomy for bladder cancer: evidence for a patient changing risk profile over time. *Eur Urol.* 2014;66:361-70.
- 94.- Bruins HM, Veskimäe E, Hernandez V, et al. The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol.* 2014;66:1065-77.
- 95.- Rodriguez D, Silvera R, Carrio R, Nadji M, et al. Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-associated macrophages are two very different subpopulations. *Cell Immunol.* 2013; 283:51-60.
- 96.- Chen X, Du Y, Lin X, Qian Y, Zhou T, Huang Z. CD4+CD25+ regulatory T cells in tumor immunity. *Int Immunopharmacol.* 2016; 34:244-249.
- 97.- Chen MF, Lin PY, Wu CF, Chen WC, Wu CT. IL-6 expression regulates tumorigenicity and correlates with prognosis in bladder cancer. *PLoS One.* 2013; 8:e61901.
- 98.- Reis ST, Leite KR, Piovesan LF, Pontes-Junior J, et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer. *BMC Urol.* 2012; 12:18.
- 99.- Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariyev B et al. Overexpression of the mu-opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes AKT and mTOR activation, tumor growth and metastasis. *Anaesthesiology.* 2012;116(4):857-67.
- 100.- A. Buckley, S. McQuaid, P. Johnson, D. J. Buggy. Effect of anaesthetic technique on the natural killer cell anti- tumour activity of serum from women undergoing breast cancer surgery: a pilot study. *Br. J. Anaesth.* 2014;113 (S1): i56–i62.
- 101.- Forget P, Collet V, Lavand’homme P, De Kock M. Does analgesia and condition influence immunity after surgery? Effects of fentanyl, ketamine and clonidine on natural killer activity at different ages. *Eur J Anaesthesiol.* 2010;27: 233–40.
- 102.- H.D. Orozco, I. Garutti, F.J.G. Moraga, G. Sánchez-Pedros. Diseminación tumoral perioperatoria. 1. Influencia de los factores perioperatorios. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2012;59(5):259-266.
- 103.- Cassinello F, Prieto I, del Olmo M, Rivas S, Strichartz GR. Cancer surgery: how may anesthesia influence outcome? *J Clin Anesth.* 2015;27(3):262–72.
- 104.- Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity’s roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331:1565–70.

- 105.- Chen X, Du Y, Lin X, Qian Y, Zhou T, Huang Z. CD4+CD25+ regulatory T cells in tumor immunity. *Int. Immunopharmacol.* 2016;34:244–9.
- 106.- Heaney A, DJ Buggy. Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis? *Br J Anaesth.* 2012;109(S1): i17-i28.
- 107.- Conrick-Martin I, Kell MR, Buggy DJ. Meta-analysis of the effect of central neuraxial regional anesthesia compared with general anesthesia on postoperative natural killer T lymphocyte function. *J Clin Anesth.* 2012;24:3–7.
- 108.- Aguilar LK, Guzik BW, Aguilar-Cordova E. Cytotoxic immunotherapy strategies for cancer: mechanisms and clinical development. *J Cell Biochem.* 2011;112:1969–77.
- 109.- Wang YC, He F, Feng F, Liu XW, et al. Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses. *Cancer Res.* 2010;70:4840–9.
- 110.- Rodríguez D, Silvera R, Carrio R, Nadji M, Caso R, Rodríguez G, et al. Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-associated macrophages are two very different subpopulations. *Cell Imm.* 2013;283(1–2):51–60.
- 111.- Aguilar LK, Guzik BW, Aguilar-Cordova E. Cytotoxic immunotherapy strategies for cancer: mechanisms and clinical development. *J Cell Biochem.* 2011;112:1969–77.
- 112.- Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331:1565–70.
- 113.- Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197–216.
- 114.- Wada H, Seki S, Takahashi T, et al. Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving TH1/TH2 cytokine balance. *Anesthesiology* 2007;106: 499–506.
- 115.- Page GG, Blakely WP, Ben-Eliyahu S. Evidence that postoperative pain is a mediator of the tumor-promoting effects of surgery in rats. *Pain.* 2001;90:191–9.
- 116.- Tavare AN, Perry NJ, Benzonana LL, et al. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J cancer.* 2012;130(6):1237-50.
- 117.- Cata JP, Keerty V, Keerty D, et al. A retrospective analysis of the effect of intraoperative opioid dose on cancer recurrence after non-small cell lung cancer resection. *Cancer Med.* 2014;3:900–908.
- 118.- Cassinello F, Prieto I, del Olmo M, Rivas S, Strichartz GR. Cancer surgery: how may anesthesia influence outcome? *J Clin Anesth.* 2015;27(3):262–72
- 119.- Shapiro J, Jersky J, Katzav S, Feldman M, Segal S. Anesthetic drugs accelerate the progression of postoperative metastases of mouse tumors. *J Clin Invest.* 1981;68(3):678–85.
- 120.- Stollings LM, Jia LJ, Tang P, Dou H, Lu B, Xu Y. Immune modulation by volatile anesthetics. *Anesthesiology.* 2016;125(2):399–411.
- 121.- Fodale V, D'Arrigo MG, Triolo S, Mondello S, La Torre D. Anesthetic techniques and cancer recurrence after surgery. *Sci World J.* 2014;6:328513.
122. Luchinetti E, Awad AE, Rahman M, Feng J, et al. Antiproliferative effects of local anaesthetics on mesenchymal stem cells: potential implications for tumour spreading and wound healing *Anesthesiology.* 2012;116:841±846.
123. Kawaraguchi Y, Horikawa YT, Murphy AN, Murray F, Miyahara A, Ali SS, et al. Volatile anaesthetics protect cancer cells against tumour necrosis factor related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis via caveolins. *Anesthesiology.* 2011; 115:499±508.

124. Ecimovic P, Murray D, Doran P, McDonald J, Lambert DG, Buggy DJ, et al. Direct effect of morphine on breast cancer cell function in vitro: the role of the NET1 gene. *Br J Anaesth.* 2011;107:916±923.
- 125.- Goto Y, Ho SL, McAdoo J, Fanning NF, Wang J, Redmond HP, et al. General versus regional anaesthesia for cataract surgery: effects on neutrophil apoptosis and the postoperative pro-inflammatory state. *Eur J Anaesthesiol.* 2000;17:474-80.
- 126.- Kvolik S, Dobrosevic B, Marczy S, Prlic L, Glavas-Obrovac L. Different apoptosis ratios and gene expressions in two human cell lines after sevoflurane anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2009;53:1192-9.
- 127.- Singleton PA, Mirzapoiazova T, Hasina R, Salgia R, Moss J. Increased μ opioid receptor expression in metastatic lung cancer. *Br J Anaesth.* 2014;113 Suppl 1:i103±108.
- 128.- Melamed R, Bar-Yosef S, Shakhar G, Shakhar K, Ben-Eliyahu S. Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg.* 2003;97: 1331–1339.
- 129.- Melamed R, Rosenne E, Shakhar K, Schwartz Y, Abudarham N, Ben-Eliyahu S. Marginating pulmonary-NK activity and resistance to experimental tumor metastasis: suppression by surgery and the prophylactic use of a β -adrenergic antagonist and a prostaglandin synthesis inhibitor. *Brain Behav Immun.* 2005;19:114- 26.
- 130.- Inada T, Yamanouchi Y, Jomura S, Sakamoto S, Takahashi M, Kambara T, et al. Effect of propofol and isoflurane anaesthesia on the immune response to surgery. *Anaesthesia.* 2004;59:954-9.
- 131.- Deegan CA, Murray D, Doran P, Ecimovic P, Moriarty DC, Buggy DJ. Effect of anaesthetic technique on oestrogen receptor-negative breast cancer cell function in vitro. *Br J Anaesth.* 2009;103:685-90.
- 132.- Ke JJ, Zhan J, Feng XB, Wu Y, Rao Y, Wang YL. A comparison of the effect of total intravenous anaesthesia with propofol and remifentanyl and inhalational anaesthesia with isoflurane on the release of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing open cholecystectomy. *Anaesth Intensive Care.* 2008;36:74-78.
- 133.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res* 2002; 62:4491-4498.
- 134.- Chipollini J, Alford B, Boulware DC, Forget P, et al. Epidural anesthesia and cancer outcomes in bladder cancer patients: is it the technique or the medication? A matched-cohort analysis from a tertiary referral center. *BMC Anesthesiol.* 2018;18(1):157.
- 135.- Wuethrich PY, Hsu Schmitz SF, Kessler TM, et al. Potential influence of the anesthetic technique used during open radical prostatectomy on prostate cancer-related outcome: A retrospective study. *Anesthesiology* 2010;113:570-6.
- 136.- Janku F, Johnson LK, Karp DD, Atkins JT, Singleton PA, Moss J. Treatment with methylnaltrexone is associated with increased survival in patients with advanced cancer. *Ann Oncol.* 2016;27(11):2032-2038.
- 137.- Ash SA, Buggy DJ. Does regional anaesthesia and analgesia or opioid analgesia influence recurrence after primary cancer surgery? An update of available evidence. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2013; 27: 441-56.
- 138.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res.* 2002; 62:4491-4498.

- 139.- Lennon FE, Moss J, Singleton PA. The mu-opioid receptor in cancer progression: is there a direct effect? *Anesthesiology*. 2012;116:940-945.
- 140.- Cieślińska A, Sienkiewicz-Szøapka E, Kostyra E, Fiedorowicz E, Snarska J, Wronski K, et al. M-Opioid receptor gene (OPRM1) polymorphism in patients with breast cancer. *Tumour Biol* 2015; 36:4655± 4660.
- 141.- Kanupriya Kumar, Meghan A. Kirksey, Silvia Duong, et al. A Review of Opioid-Sparing Modalities in Perioperative Pain Management: Methods to Decrease Opioid Use Postoperatively. *Anesth Analg*. 2017;125(5): 1749-1760.
- 142.- Martin-Kleiner I, Balog T, Gabrilovac J. Signal transduction induced by opioids in immune cells: a review. *Neuroimmuno-modulation*. 2006;13:1-7.
- 143.- Loveridge R, Santosh Patel S. Systemic non-opioid adjuvant analgesics: Their role in acute postoperative pain in adults. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*. 2014;4: 10-18.
- 144.- Page GG, Ben-Eliyahu S, Yirmiya R, Liebeskind JC. Morphine attenuates surgery-induced enhancement of metastatic colonization in rats. *Pain*. 1993; 54:21-8.
- 145.- Ash SA, Buggy DJ. Does regional anaesthesia and analgesia or opioid analgesia influence recurrence after primary cancer surgery? An update of available evidence. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2013;27:441-56.
- 146.- A. I. Jaura, Flood H., C. Gallagher, D. J. Buggy. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i63–i67.
- 147.- Merquiol F, Montelimard AS, Nourissat A, et al. Cervical epidural anesthesia is associated with increased cancer-free survival in laryngeal and hypopharyngeal cancer surgery: a retrospective propensity-matched analysis. *Reg Anesth Pain Med* 2013;38(5):398-402.
- 148.- Tsui BC, Rashid S, Schopflocher D, et al. Epidural anesthesia and cancer recurrence rates after radical prostatectomy. *Can J Anaesth*. 2010;57(2):107-12.
- 149.- Lai R, Peng Z, Chen D, et al. The effects of anesthetic technique on cancer recurrence in percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma. *Anesth Analg*. 2012;114(2):290-6.
- 150.- Day A, Smith R, Jourdan I, et al. Retrospective analysis of the effect of postoperative analgesia on survival in patients after laparoscopic resection of colorectal cancer. *Br J Anaesth*. 2012;109(2):185-90.
- 151.- P. Lirk, M. W. Hollmann, M. Fleischer, N. C. Weber, H. Fiegl. Lidocaine and ropivacaine, but not bupivacaine, demethylate deoxyribonucleic acid in breast cancer cells in vitro. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i32–i38.
- 152.- Chang YC, Liu CL, Chen MJ, et al. Local anesthetics induce apoptosis in human breast tumor cells. *Anesth Analg* 2014;118:116-24.
- 153.- Yoon JR, Whipple RA, Balzer EM, et al. Local anesthetics inhibit kinesin motility and microtentacle protrusions in human epithelial and breast tumor cells. *Breast cancer Res Treat*. 2011;129:691-701.
- 154.- Mammoto T, Higashiyama S, Mukai M, et al. Infiltration anesthetic lidocaine inhibits cancer cell invasion by modulating ectodomain shedding of heparin-binding of epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF). *J Cell Physiol*. 2002;192:351-8.
- 155.- Scavonetto F, Yeoh TY, Umbreit EC, et al. Association between neuraxial analgesia, cancer progression and mortality after radical prostatectomy: a large, retrospective matched cohort study. *Br J Anaesth*. 2014;113(S1):i95-i102.
- 156.- P. Lirk, M. W. Hollmann, M. Fleischer, et al. Lidocaine and ropivacaine, but not bupivacaine, demethylate deoxyribonucleic acid in breast cancer cells in vitro. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i32–i38.

- 157.- C. Connolly, S. F. Madden, D. J. Buggy, H. C. Gallagher. Expression of anaesthetic and analgesic drug target genes in excised breast tumour tissue: Association with clinical disease recurrence or metastasis. *PLoS ONE*. 2017;12(5):e0177105.
- 158.- Scavonetto F, Yeoh TY, Umbreit EC, et al. Association between neuraxial analgesia, cancer progression and mortality after radical prostatectomy: a large, retrospective matched cohort study. *Br J Anaesth*. 2014;113(S1):i95-i102.
- 159.- Huang H, Benzonana L, Zhao H, et al. Prostate cancer cell malignancy via modulation of HIF-1 α pathway with isoflurane and propofol alone and in combination. *Br J cancer*. 2014;111:1338-1349.
- 160.- Jang D, Lim CS, Shin YS, et al. A comparison of regional and general anesthesia effects on 5 year survival and cancer recurrence after transurethral resection of the bladder tumor: a retrospective analysis. *BMC Anesthesiol*. 2016;63(5):584-95.
- 161.- Weingarten TN, Taccolini AM, Ahle ST, et al. Perioperative management and oncological outcomes following radical cystectomy for bladder cancer: a matches retrospective cohort study. *Can J Anaesth*. 2016; 63(5):584-95.
- 162.- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics. *CA cancer J Clin*. 2016; 66(1):7–30.
163. - Witjes JA, Lebet T, Compérat EM, Cowan NC, De Santis M, Bruins HM, et al. Updated 2016 EAU Guidelines on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2017 Mar;71(3):462.
164. - Ploussard G, Shariat SF, Dragomir A, Kluth LA, Xylinas E, et al. Conditional survival after radical cystectomy for bladder cancer: evidence for a patient changing risk profile over time. *Eur Urol*. 2014;66(2):361-70.
165. - Bruins HM, Veskimae E, Hernandez V, Imamura M, Neuberger MM, Dahm P, et al. The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol*. 2014;66(6):1065–77.
166. - Rodríguez D, Silvera R, Carrio R, Nadji M, Caso R, Rodríguez G, et al. Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-associated macrophages are two very different subpopulations. *Cell Imm*. 2013;283(1–2):51–60.
167. - Chen X, Du Y, Lin X, Qian Y, Zhou T, Huang Z. CD4+CD25+ regulatory T cells in tumor immunity. *Int. Immunopharmacol*. 2016;34:244–9.
168. - Chen MF, Lin PY, Wu CF, Chen WC, Wu CT (2016) Correction: IL-6 Expression Regulates Tumorigenicity and Correlates with Prognosis in Bladder Cancer. *PLOS ONE* 11(5): e0155774.
169. - Reis ST, Leite KR, Piovesan LF, Pontes-Junior J, Viana NI, Abe DK, et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer. *BMC Urol*. 2012;12:18.
170. - Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariev B, Salgia R, Moss J, Singleton PA. Overexpression of the μ -opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes AKT and mTOR activation, tumor growth, and metastasis. *Anesthesiology*. 2012;116(4):857–67.
171. - Buckley A, McQuaid S, Johnson P, Buggy DJ. Effect of anaesthetic technique on the natural killer cell anti-tumour activity of serum from women undergoing breast cancer surgery: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 Suppl 1:i56–i62.
172. - Forget P, Collet V, Lavand'homme P, De Kock M. Does analgesia and condition influence immunity after surgery? Effects of fentanyl, ketamine and clonidine on natural killer activity at different ages. *Eur J Anaesth*. 2010;27(3):233–40.

- 173.- Tavaré AN, Perry NJ, Benzonana LL, Takata M, Ma D. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J Cancer*. 2012;130(6):1237–50.
- 174.- Snyder GL, Greenberg S. Effect of anaesthetic technique and other perioperative factors on cancer recurrence. *Br J Anaesth*. 2010;105(2):106–15.
- 175.- Melamed R, Rosenne E, Shakhar K, Schwartz Y, et al. Marginating pulmonary-NK activity and resistance to experimental tumor metastasis: suppression by surgery and the prophylactic use of a β -adrenergic antagonist and a prostaglandin synthesis inhibitor. *Brain Behav. Immun*. 2005;19(2):114–26.
- 176.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, Schwartz R, Law PY, Yee D, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res*. 2002;62(15):4491–8.
- 177.- Tavaré AN, Perry NJ, Benzonana LL, et al. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J cancer*. 2012;130(6):1237-50.
- 178.- Synder GL, Greenberg S. Effect of anaesthetic technique and other perioperative factors on cancer recurrence. *Br J Anaesth*. 1010.105(2):106-15.
- 179.- Melamed R, Rosenne E, Shakhar K, Schwartz Y, et al. Marginating pulmonary-NK activity and resistance to experimental tumor metastasis: suppression by surgery and the prophylactic use of a β -adrenergic antagonist and a prostaglandin synthesis inhibitor. *Brain Behav Immun*. 2005;19:114- 26.
- 180.- Gupta K, Kshirsagar S, Chang L, et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival -promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res*. 2002; 62:4491-8.
- 181.- Lennon FE, Mirzapioazova T, Mambetsariev B et al. Overexpression of the mu-opioid receptor in human non-small cell lung cancer promotes AKT and mTOR activation, tumor growth and metastasis. *Anaesthesiology*. 2012;116(4):857-67.
- 182.- Colvin LA, Fallon MT, Buggy DJ. Cancer biology, analgesics, and anaesthetics: is there a link?. *Br J Anaesth*. 2012;109(2):140-3.
- 183.- Jaura AI, Flood G, Gallagher HC, Buggy DJ. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 Suppl 1:i63-7.
- 184.- Deegan, CA, Murray, D, Doran, P et al. Anesthetic technique and the cytokine and matrix metalloproteinase response to primary breast cancer surgery. *Reg Anesth Pain Med*. 2010;35: 490– 495.
- 185.- Looney, M, Doran, P, and Buggy, DJ. Effect of anesthetic technique on serum vascular endothelial growth factor C and transforming growth factor β in women undergoing anesthesia and surgery for breast cancer. *Anesthesiology*. 2010;113:1118–1125.
- 186.- Ash SA, Buggy DJ. Does regional anaesthesia and analgesia or opioid analgesia influence recurrence after primary cancer surgery? An update of available evidence. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2013;27(4):441-56.
- 187.- Tavaré AN, Perry NJ, Benzonana LL, Takata M, Ma D. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents. *Int J Cancer*. 2012;130(6):1237-50.
- 188.- Müller-Edenborn B, Roth-Z'graggen B, Bartnicka K, et al. Volatile anesthetics reduce invasion of colorectal cancer cells through down-regulation of matrix metalloproteinase-9. *Anesthesiology*. 2012;117(2):293-301.
- 189.- A. I. Jaura, Flood H., C. Gallagher, D. J. Buggy. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i63–i67.

- 190.- Aristomenis K Exadaktylos, Donal J Buggy, et al. Can anesthetic technique for primary breast cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Anesthesiology*. 2006; 105(4): 660–664.
- 191.- Ecimovic P, McHugh B, Murray D, Doran P, Buggy DJ. Effects of sevoflurane on breast cancer cell function in vitro. *Anticancer Res*. 2013;33(10):4255–4260.
- 192.- Lee JH, Kang SH, Kim Y, Kim HA, Kim BS. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on recurrence and overall survival in patients after modified radical mastectomy: a retrospective study. *Korean J Anesthesiol*. 2016;69(2):126–32.
- 193.-Enlund M, Berglund A, Andreasson K, Cicek C, Enlund A, Bergkvist L. The choice of anaesthetic sevoflurane or propofol and outcome from cancer surgery: a retrospective analysis. *Ups J Med Sci*. 2014;119(3):251–61.
- 194.- C. Connolly, S. F. Madden, D. J. Buggy, H. C. Gallagher. Expression of anaesthetic and analgesic drug target genes in excised breast tumour tissue: Association with clinical disease recurrence or metastasis . *PLoS ONE*. 2017; 12(5):e0177105.
- 195.- Zhang T, Fan Y, Liu K, Wang Y. Effects of different general anaesthetic techniques on immune responses in patients undergoing surgery for tongue cancer. *Anaesth Intensive Care*. 2014;42(2):220–7.
- 196.- Lee JH, Kang SH, Kim Y, Kim HA, Kim BS. Effects of propofol-based total intravenous anesthesia on recurrence and overall survival in patients after modified radical mastectomy: a retrospective study. *Korean J Anesthesiol*. 2016;69(2):126–32.
- 197.- Kim DW, Kim JH, Lee KY, Park S, Yoo YC. Does the type of anesthesia really affect the recurrence-free survival after breast cancer surgery? *Oncotarget*. 2017;8(52):90477–87.
- 198.- Jaura AI, Flood G, Gallagher HC, Buggy DJ. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113(1):9.
- 199.- Sultan SS. Paravertebral block can attenuate cytokine response when it replaces general anesthesia for cancer breast surgeries. *Saudi J Anaesth*. 2013; 7:373–7.
- 200.- A. Buckley, S. McQuaid, P. Johnson, D. J. Buggy. Effect of anaesthetic technique on the natural killer cell anti-tumour activity of serum from women undergoing breast cancer surgery: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2014;113 (S1): i56–i62.
- 201.- C. Connolly¹, S. F. Madden, D. J. Buggy, H. C. Gallagher. Expression of anaesthetic and analgesic drug target genes in excised breast tumour tissue: Association with clinical disease recurrence or metastasis. *PLoS ONE*. 2017;12(5):e0177105.
- 202.- Ru Li, Hengrui Liu, James P. Dilger, Jun Lin. Effect of Propofol on breast cancer cell, the immune system, and patient outcome. *BMC Anesthesiol*. 2018;18:77.

PUBLICACIONES QUE AVALAN LA TESIS

10. PUBLICACIONES QUE AVALAN LA TESIS

1. **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L, Baena López M, Malo Manso A, Fernandez Ramirez A, Ramirez Fernandez M, Loras P, Gallego M, Bermudez L, Biteri A, Fontaneda A, Gil E, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. The effects of the Anesthetic agents on the oncologic progression. Review of literature. *SF J Surg*. 2017; 1:1
2. Malo-Manso A, **Raigon-Ponferrada A**, Diaz-Crespo J, Escalona-Belmonte JJ, Cruz-Mañas J, Guerrero-Orriach JL. Opioid Free Anaesthesia and Cancer. *Curr Pharm Des*. 2019;25(28):3011-3019. doi: 10.2174/1381612825666190705183754.
3. **Raigon-Ponferrada A**, Recio MED, Guerrero-Orriach JL, Malo-Manso A, Escalona-Belmonte JJ, Aliaga MR, Fernández AR, García FJF, Conejo EA, Cruz-Mañas J. Breast Cancer and Anesthesia. *Curr Pharm Des*. 2019;25(28):2998-3004. doi: 10.2174/1381612825666190712183436.
4. Orriach JLG, **Raigon-Ponferrada A**, Buggy DJ. Can Anaesthesia and Analgesia. Interventions During cancer Surgery Influence Recurrence or Metástasis? *Curr Pharm Des*. 2019;25(28):2997. doi: 10.2174/138161282528191007155536.
5. Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Herrera Imbroda B, Escalona Belmonte JJ, Ramirez Aliaga M, Ramirez Fernandez A, Diaz Crespo J, Soriano Perez AM, Fontaneda Heredia A, Dominguez Recio ME, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia. *Oncology*. 2020;98(3):161-167. doi: 10.1159/000504807.
6. **Raigon Ponferrada A**, Guerrero Orriach JL, Malo Manso A, Sepúlveda Haro E, Romero Molina S, Fontaneda Heredia A, Baena Lopez M, Cruz Mañas J. Anaesthesia and cancer: can anaesthetic drugs modify gene expression? *Ecancer*. 2020. 14:1080; www.ecancer.org; DOI: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1080>
7. Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Romero Molina S, and Cruz Mañas. Anaesthesia miRNA 145: The new cornerstone in oncologic therapy. Anesthetics implications. *Journal Current Pharmaceutical Design*. (Preceptado)

1. **Raigón Ponferrada A**, Guerrero Orriach Jose L, Baena López M, Malo Manso A, Fernandez Ramirez A, Ramirez Fernandez M, Loras P, Gallego M, Bermudez L, Biteri A, Fontaneda A, Gil E, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. The effects of the Anesthetic agents on the oncologic progression. Review of literature. SF J Surg. 2017; 1:1

The Effects of the Anesthetic Agents on the Oncologic Progression- Review of Literature

*Raigon Ponferrada A, Guerrero Orriach Jose L, Baena López M, Malo Manso A, Fernandez Ramirez A, Ramirez

Fernandez M, Loras P, Gallego M, Bermudez L, Biteri A, Fontaneda A, Gil E, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J

*Hospital Virgen de la Victoria, Campus Universitario Teatinos C.P. 29010, Malaga, Spain

Introduction

The ability of local progression and development of metastases of tumors depends on the balance between the metastatic growth potential of the tumor and the host antitumor defense factors. The major antimetastatic mechanism is the immune system. Initially the tumor cells are weakly antigenic, presenting this stage of proliferation and cellular mutation little presence of immune response. As the cells are mutated, they become more antigenic and initiate an immune response of immunovigilance, in which the immune system specifically identifies and destroys the cancer cells. This same process can generate a selection of immunoresistant cells that develop escape mechanisms and evade the immune system. Cytotoxic T lymphocytes, mononuclear cells, dendritic cells and especially natural killer (NK) cells, are components of immunity that have been attributed to antimetastatic action.

Our review tries to put light about the modulation of patient's immune response to metastatic cells with the different types of anesthetics.

1. General Anesthesia

1.1 Inhalation Anesthetic Agents

Although many studies describe the immunosuppressive role of halogenates, it has not been corroborated in clinical practice. In macrophages exposed to halothane, isoflurane, enflurane and desflurane (CAM 0.25-2.0) is observed a decrease in the production of nitric oxide and the expression of inducible nitric oxide synthetase. Sevoflurane in vitro alters the elevation of cytokines, Il 1, beta factor and tumor necrosis factor alpha, but not Il 2 nor in NK cells. In addition, preconditioning with this halogenate promotes the growth and proliferation of endothelial progenitor stem cells (proangiogenic effect), which could promote tumor growth and/or teratogenicity. In cataract surgery Goto et al. [1] found that clinically

relevant concentrations of sevoflurane had no influence on apoptosis and neutrophil number, nor on the concentration of cytokines in blood.

Kvolik et al. [2] investigated the cytotoxic and antiproliferative effects of sevoflurane at clinically relevant concentrations and duration of exposure in different human cancer cell lines in vitro. They found that apoptotic capacity had increased significantly 24 hours after anesthesia and was associated with increased gene expression of p53 and caspase 3 in colon cancer cells. However, it did not occur similarly in laryngeal cancer cells, suggesting any potentially beneficial effect of this volatile agent to increase apoptosis of cancer cells may be dependent on the tumor cell line.

Halothane and isoflurane increase the risk of melanoma, halothane and nitric oxide metastases accelerate in the post-operative growth of lung cancer metastases in mice. Several studies have found that they increase the concentration of VEGF and MMPs, furthermore stimulate angiogenesis, and increase the migration of tumor cells in vitro. Volatile agents have been shown to promote the secretion of hypoxia-inducible factors involved in increased tumorigenesis and metastasis influencing angiogenesis, energy metabolism, cell proliferation, apoptosis, and cell migration.

*Corresponding author: Raigon Ponferrada A, Hospital Virgen de la Victoria, Campus Universitario Teatinos C.P. 29010, Malaga, Spain. E-mail: guerrerorriach@terra.com

Received June 30,2017; Accepted Aug 01,2017; Published Aug 14,2017

Citation: Raigon Ponferrada A (2017) The Effects of the Anesthetic Agents on the Oncologic Progression-Review of Literature. SF J Surg 1:1.

Copyright: © 2017 Raigon Ponferrada A. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

2. Malo-Manso A, Raigon-Ponferrada A, Diaz-Crespo J, Escalona-Belmonte JJ, Cruz-Mañas J, Guerrero-Oriach JL. Opioid Free Anaesthesia and Cancer. *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):3011-3019. doi: 10.2174/1381612825666190705183754.

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Current Pharmaceutical Design, 2019, 25, 1-9

1

REVIEW ARTICLE

Opioid Free Anaesthesia and Cancer

A. Malo Manso^{1,2}, A. Raigon Ponferrada, J. Diaz Crespo³, J.J. Escalona Belmonte^{1,2}, J. Cruz Mañas^{1,2} and J.L. Guerrero Oriach^{1,3,4}

¹Institute of Biomedical Research in Malaga (IBIMA), Malaga, Spain; ²Department of Anaesthesiology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain; ³Department of Pharmacology and Pediatrics, School of Medicine, University of Malaga, Malaga, Spain; ⁴Member of COST Action 15204

ARTICLE HISTORY

Received: April 30, 2019
Accepted: June 23, 2019

DOI:
10.2174/1381612825666190705183754

Abstract: Opioid-free anaesthesia is revolutionizing anaesthetic practices for its potential benefits in selected patients. Opioid-free anaesthesia represents a step forward in anaesthetic practice as it has been suggested to provide potential clinical benefits for selected patients. Opioid-free anaesthesia spares the use of opioids and involves the administration of multiple adjuvant anaesthetics, which may have an impact on cancer progression. All this have added to the growing interest in the immune response to anaesthetics, making opioid-free anaesthesia a promising avenue for future research.

Assessing the role of anaesthetics in immunomodulation in the surgical setting is challenging, and results are often contradictory. Indeed, there is a scarcity of data of studies on humans, which hinder the interpretation of results. However, promising evidence has been published that cancer progression can be delayed by the administration of specific anaesthetic agents.

Keywords: Opioid free anaesthesia, cancer, opioids, anaesthesia, metastases, recurrence, oncology, surgery.

1. INTRODUCTION

The potential role of anaesthesia in cancer relapse has been the object of research in recent years.

Cancer is the second leading cause of mortality in developed countries, with metastasis as the primary cause of cancer-related deaths (1).

Metastatic dissemination is related to two factors: The presence of carcinogenic cells with metastatic potential, and the formation of a microenvironment that favors tumor-cell proliferation.

Tumor growth generates hypoxic areas that produce angiogenic factors (VEGF) that elicit the sprouting of new small blood vessels around the tumor. Some cancer cells use the circulatory system to migrate and form secondary tumors in distant organs. The immune system tries to control the spread of cancer cells by destroying most of these cells. However, some can survive in small vessels, migrate and spread, thereby causing micrometastases with metastatic potential.

2. PERIOPERATIVE FACTORS WITH EFFECTS ON CANCER PROGRESSION.

Initially, cancer cells have modest antigenic effects. However, as they mutate and differentiate, their antigenic potential increases, thereby activating the immune response.

It is well-established that cell-mediated immunity (CMI) can recognize cancer cells as foreign invaders (through the expression of major histocompatibility complex class II) and induce apoptosis in them. CMI rests on two major pillars: Innate and adaptive immunity. These two systems work closely together to detect the presence of tumor cells and destroy them before they proliferate to generate a malignant disease (2).

2.1. Innate Immune System

The innate immune system is an unspecific system composed of macrophages, natural killer cells (NK), and dendritic cells (3). These immune cells fight against microbial infections and neoplasms without prior sensitization. Therefore, the innate immune system can respond rapidly to the presence of tumor cells. It is the first line of defense against cancer progression.

NK cells are a key component of innate immunity and play a major role in the defense against the tumor. Recent studies demonstrate that reduced NK levels are associated with a poorer response to metastasis and increased development of malignant neoplasms (4). In line with this finding, the incidence of cancer has proven to be higher in patients with low NK cell activity. In contrast, survival is significantly higher in patients with high NK activity in peripheral blood (5).

Macrophages are another relevant component of the innate immune system. Surprisingly, the presence of tumor-associated macrophages (TAM) promotes tumor growth and metastasis in solid tumors. TAM can be induced by tumor necrosis factor (TNF)- α , interferon- γ (IF- γ), interleukin (IL)-1 β , IL-6, and IL-23 and inhibit the development and/or progression of tumor cells. Macrophages are polarized into two phenotypes (M1 and M2) which are activated via the Th1 and Th2 immune pathway, with a two-fold function in interaction with neoplastic cells (6). M1 macrophages predominate in early progression and are stimulated by pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), IL-12 and IFN- γ . M1 induce specific adaptive immune and antitumor responses mediated by the expression of proinflammatory factors such as IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, and IL-23, alpha tumor necrosis factor (TNF- α), oxygen reactive species (ROS) and nitrogen reactive species (NOS), and elevated MHC class I and II levels. In contrast, M2 macrophages predominate in established cancer. M2 are stimulated by IL-4, IL-13, IL-21, IL-33, immune complexes, activin A, and glucocorticoids. These elements mediate adaptive immunity suppression and promote angiogenesis and tissue remodeling, thereby favoring tumor growth via the expression of IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13,

*Address correspondence to these authors at the C/ Salitre 26 2º A, 29002, Malaga, Spain; Tel: 0034-634030147; E-mail: alfredomalomanso@gmail.com
Ayda de la Obisidiana 10b, portal 3 3º C, 29631, Bazaalhadana- Arroyo de la Miel, Malaga, Spain; Tel: 0034-684084791; E-mail: aidaraigon@gmail.com

1381-6128/19 \$58.00+00

© 2019 Bentham Science Publishers

3. **Raigon-Ponferrada A**, Recio MED, Guerrero-Oriach JL, Malo-Manso A, Escalona-Belmonte JJ, Aliaga MR, Fernández AR, García FJF, Conejo EA, Cruz-Mañas J. Breast Cancer and Anesthesia. *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):2998-3004. doi: 10.2174/1381612825666190712183436.

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Current Pharmaceutical Design, 2019, 25, 1-7

1

REVIEW ARTICLE

Breast Cancer and Anesthesia

Aida Raigon Ponferrada^{1,2,3}, María Emilia Domínguez Recio^{1,4,*}, Jose Luis Guerrero-Oriach^{1,2,3,5,*}, Alfredo Malo Manso^{1,2}, Juan José Escalona Belmonte^{1,2}, Marta Ramirez Aliaga^{1,2}, Alicia Ramirez Fernández^{1,2}, Fernandez García FJ⁶, Alba Emilio Alba Conejo⁴ and Jose Cruz Mañas^{1,2}

¹Institute of Biomedical Research in Malaga [IBIMA], Malaga, Spain; ²Department of Anaesthesiology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain; ³Department of Pharmacology and Pediatrics, School of Medicine, University of Malaga, Malaga, Spain; ⁴Department of Oncology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain; ⁵Member of COST Action 15204; ⁶Department of General Surgery, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

ARTICLE HISTORY

Received: April 30, 2019
Accepted: June 27, 2019

DOI:

10.2174/1381612825666190712183436

Abstract: Breast cancer is a complex heterogeneous disease that is categorized into several histological and genomic subtypes with relevant prognostic and therapeutic implications. Such diversity requires a multidisciplinary approach for a comprehensive treatment that will involve surgeons, radiotherapists and medical oncologists.

Breast cancer is classified as either local (or locoregional), which stands for 90-95% of cases, or metastatic, representing 5% of cases.

The management of breast cancer will be determined by the stage of the disease. The treatment of local breast cancer is based on surgery and/or radiotherapy. Systemic breast cancer requires chemotherapy and/or endocrine and/or biological therapy.

Keywords: Anesthetic drugs and techniques, opioids, propofol, volatile agent, breast cancer, cancer recurrence, immune cells, natural killer cells.

1. INTRODUCTION

Relapse after surgery is a major concern for physicians and patients. Metastatic recurrence is the leading cause of mortality in breast cancer patients. It is estimated that 30 to 40% of patients will die from metastatic cancer despite resection of the primary tumor and the administration of radiotherapy and other adjuvant therapies [1]. Risk factors associated with cancer relapse include postoperative residual cancer cells, disease-free margin, cancer cell characteristics, and immune function. The manipulation of the tumor during surgery may promote metastatic dissemination [2]. Other factors involved in tumor relapse are anesthetics, anesthetic technique, use of analgesics for acute pain control, and the administration of opioids [3].

The hypothesis that anesthetic drugs and techniques play a role in cancer relapse is based on several studies that have demonstrated their association with relapse in breast cancer [4]. Some perioperative factors of anesthesia may promote or inhibit tumor dissemination, at least partially, by causing transient immune deterioration. These factors can be modified by the selection of the anesthetic technique [5,6].

2. STATE OF AFFAIRS IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF BREAST CANCER

Breast cancer staging is based on baseline differences:

2.1. TNM CLASSIFICATION

The TNM (Tumor Node Metastasis) system is the most widely used system for staging and establishing a prognosis in breast cancer. Since its earliest editions, the TNM system has been based on anatomical factors such as tumor size, lymph node involvement and

the presence of metastasis. However, in the latest edition of the TNM [7], advances in molecular and genomic medicine have led experts to include new biomarkers for an enhanced classification of prognostic subgroups, including: hormone receptor (estrogen receptor and progesterone receptor) and HER2 (human epidermal growth factor receptor) status.

2.2. Histopathological Classification

Histopathological examination of the tumor is essential to therapeutic decision-making and the data obtained will provide crucial prognostic information. The histopathological characteristics of the tumor have predictive potential and help design individualized quality therapies. Histopathological reports should detail, but not limited to:

A.-Histological Type: The type of breast cancer with the highest incidence is infiltrating ductal carcinoma (70-80%), followed by infiltrating lobular carcinoma.

B.-Estrogen receptor and progesterone receptor expression: Measured by immunohistochemistry. A tumor is estrogen-receptor or progesterone-receptor positive if these receptors are expressed in at least 1% of tumor cells.

C.-HER2 Status: Evaluated by immunohistochemistry or by HER2 gene amplification by FISH (fluorescence in-situ hybridization). A tumor will be HER2-positive when this gene is expressed in more than 30% of tumor cells.

D.-Histological degree of tumour differentiation: Determined by immunohistochemistry based on a combination of cytologic characteristics (tubule formation, nuclear pleomorphism, and mitotic activity), it is divided into three differentiation grades [8].

E.-KI67: Related to cellular proliferation. It is identified by immunohistochemistry of the KI-67 nuclear antigen. Although evidence has been published on its prognostic potential [9], conclusive evidence has not yet been provided.

*Address correspondence to this author at the Hospital Virgen de la Victoria, University Campus Teatinos C.P. 29010, Malaga, Spain;
E-mails: guemerooriach@gmail.com; emilia.dominguez@hotmail.com



4. Orriach JLG, Raigon-Ponferrada A, Buggy DJ. Can Anaesthesia and Analgesia Interventions During cancer Surgery Influence Recurrence or Metástasis? *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):2997. doi: 10.2174/138161282528191007155536.

Anaesthesia and Analgesia Interventions During Cancer Surgery

Current Pharmaceutical Design, 2019, Vol. 25, No. 28 2997

Editorial

Can Anaesthesia and Analgesia Interventions During Cáncer Surgery Influence Recurrence or Metástasis?

Jose Luis Guerrero Orriach^{1,2,3,4}, Aida Raigon-Ponferrada^{1,2} and D.J. Buggy^{4,5}

¹Institute of Biomedical Research in Malaga [IBIMA], Malaga, Spain; ²Department of Anaesthesiology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain; ³Department of Pharmacology and Pediatrics, School of Medicine, University of Malaga, Malaga, Spain; ⁴EU COST (European Cooperation in Science & Technology) Action 15204, Brussels, Belgium; ⁵Mater University Hospital, School of Medicine, University College Dublin, Ireland

Cancer is becoming the leading cause of mortality in some parts of the world and its incidence is increasing. Mortality from cancer usually results from recurrence or metastases, rather than the primary tumour itself. Surgical removal of the primary tumour is the basis of treatment, but despite optimum surgical technique, some minimal residual cancer remains, including Circulating Tumour Cells which may be inadvertently dispersed into the blood and lymphatic systems. In addition, surgery itself induces a systemic stress response and transiently inhibits the immune system [1]. The fate of the minimal residual cancer cells depends on the balance of a number of perioperative factors promoting or resisting tumour survival and growth, including surgery itself, some anaesthetic drugs themselves, acute postoperative pain and opioid analgesics and the perioperative immune status of the patient [2]. Preclinical and clinical studies suggest that the anaesthetics and adjuvants given in the perioperative period might affect cancer recurrence and survival, perhaps tipping the balance in some instances to determine whether cancer progresses or regresses [3-5]. These reviews, written by members of Furo-Periscope, an EU-funded COST Action (15204) network of clinicians and scientists working in this field, summarise available evidence from experimental cell culture studies, live animal data and clinical retrospective studies. Taken together, current data are sufficient only to generate a hypothesis that anaesthetic or analgesic and the first and largest such trial (NCT00418457) will be published this autumn. Meanwhile, clinicians should continue to choose the optimum anaesthetic and analgesic technique in discussion with their cancer patients, based on their own expertise and current best practice.

REFERENCES

- [1] Raigon Ponferrada A, Dominguez Rocio ME, Guerrero Orriach JL, *et al.* Breast cancer and anaesthesia. *Curr Pharm Des* 2019; 25(28): 2998-3004.
- [2] Samouri G, Stouffs A, Vander Essen L, Simonet O, De Keek M, Forget P. What can we learn from sarcopenia with curarisation in the context of cancer surgery? A review of the literature. *Curr Pharm Des* 2019; 25(28): 3005-10.
- [3] Malo Munso A, Raigon Ponferrada A, Diaz Crespo J, Escalona Belmonte JJ, Cruz Mañas J, Guerrero Orriach JL. Opioid free anaesthesia and cancer. *Curr Pharm Des* 2019; 25(28): 3011-9.
- [4] Sekandrzad MW, Hollmann M, Dornebaal C. Opiophobia in cancer biology- justified? - The impact of perioperative use of opioids on cancer recurrence - a narrative review. *Curr Pharm Des* 2019; 25(28): 3020-27.
- [5] Enlund Ma, Enlund Aa, Berglund Ab, Bergkvist Lc. Rationale and design of the CAN study: An RCT of survival after propofol- or sevoflurane-based anaesthesia for cancer surgery. *Curr Pharm Des* 2019; 25(28): 3028-33.

Jose Luis Guerrero-Orriach

Aida Raigon-Ponferrada

Guest Editors

FEA Anestesiología y Reanimación Hospital
Universitario Virgen de la Victoria
Address: Campus Teatinos SN, Malaga, Spain

Tel: 0034-655387201

E-mails: guerrerorriach@gmail.com
aidaraigon@gmail.com

5. Guerrero Orriach JL, **Raigon Ponferrada A**, Malo Manso A, Herrera Imbroda B, Escalona Belmonte JJ, Ramirez Aliaga M, Ramirez Fernandez A, Diaz Crespo J, Soriano Perez AM, Fontaneda Heredia A, Dominguez Recio ME, Rubio Navarro M, Cruz Mañas J. Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia. *Oncology*. 2020;98(3):161-167. doi: 10.1159/000504807.

Proof Cent

OncologyOncology 2019;-
DOI: 10.1159/000504807© S. Karger AG,
Basel

Please use this PDF proof to check the layout of your article. If you would like any changes to be made to the layout, you can leave instructions in the online proofing interface. Making your changes directly in the online proofing interface is the quickest, easiest way to correct and submit your proof. Please note that changes made to the article in the online proofing interface will be added to the article before publication, but are not reflected in this PDF proof.

Clinical Study

Anesthesia in Combination with Propofol Increases Disease-Free Survival in Bladder Cancer Patients Who Undergo Radical Tumor Cystectomy as Compared to Inhalational Anesthetics and Opiate-Based Analgesia

Jose Luis Guerrero Orriach^{a,*} Aida Raigon Ponferrada^b Alfredo Malo Manso^b Bernardo Herrera Imbroda^{a,d} Juan Jose Escalona Belmonte^b Marta Ramirez Aliaga^b Alicia Ramirez Fernandez^b Julia Diaz Crespo^b Angela M. Soriano Perez^e Ana Fontaneda Heredia^b Maria Emilia Dominguez Recio^f Manuel Rubio Navarro^b Jose Cruz Mañas^b

^aInstitute of Biomedical Research in Malaga (IBIMA), Malaga, Spain

^bDepartment of Anesthesiology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

^cDepartment of Pharmacology and Pediatrics, School of Medicine, University of Malaga, Malaga, Spain

^dDepartment of Urology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

^eDepartment of Anesthesiology, Complejo Hospitalario de Jaén, Jaén, Spain

^fDepartment of Oncology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

Corresponding Author: Prof. Jose Luis Guerrero Orriach or Aida Raigon Ponferrada, Virgen de la Victoria University Hospital, University Campus Teatinos, ES-29010 Spain, E-Mail guerreroorriach@gmail.com or aidaraigonp@gmail.com

Additional Information: J.L. Guerrero Orriach is a member of COST Action 15204. J.L. Guerrero Orriach and A. Raigon Ponferrada contributed equally to this study and paper and take the same responsibility for it.

6.- Raigon Ponferrada A, Guerrero Orriach JL, Malo Manso A, Sepúlveda Haro E, Romero Molina S, Fontaneda Heredia A, Baena Lopez M, Cruz Mañas J. Anaesthesia and cancer: can anaesthetic drugs modify gene expression? *Ecancer*. 2020. 14:1080; www.ecancer.org; DOI: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.10>

ecancermedicalscience

Anaesthesia and cancer: can anaesthetic drugs modify gene expression?

Aida Raigon Ponferrada^{1,2}, Jose Luis Guerrero Orriach^{1,2,3,4}, A Malo Manso², E Sepúlveda Haro², S Romero Molina², A Fontaneda Heredia², M Baena Lopez² and J Cruz Mañas² <AQ: Please provide full first name for the authors "A Malo Manso", E Sepúlveda Haro", S Romero Molina", A Fontaneda Heredia", M Baena Lopez" and J Cruz Mañas.">

¹Institute of Biomedical Research in Malaga (IBIMA), Malaga, Spain <AQ: Please provide postal code for all the affiliations.>

²Department of Anaesthesiology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

³Department of Pharmacology and Pediatrics, School of Medicine, University of Malaga, Malaga, Spain

⁴Member of COST Action 15204

⁵Department of Urology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

⁶Department of Anaesthesiology, Complejo Hospitalario de Jaen, Spain

⁷Department of Oncology, Virgen de la Victoria University Hospital, Malaga, Spain

Abstract

Cancer remains a primary cause of morbidity and mortality worldwide, and its incidence continues to increase. The most common cause of death in cancer patients is tumour recurrence. Surgery is the gold standard in the treatment of most tumours. However, cancer surgery can lead to the release of tumour cells into the systemic circulation. Surgical stress and several perioperative factors have been suggested to boost tumour growth, thereby increasing the risk of metastatic recurrence.

Preclinical and clinical studies suggest that anaesthetics and adjuvants administered during the perioperative period may impact cancer recurrence and survival. This document summarises the current evidence regarding the effects of anaesthetic drugs and analgesic techniques on the immune system, systemic inflammatory response and tumour cells, as well as their impact on cancer recurrence.

Keywords: anaesthesia, analgesia, cancer recurrence, metastases, anaesthetics, regional anaesthesia, opioid, NSAIDs

Introduction

Cancer is the second cause of mortality in developed countries, with most deaths caused by metastasis [1]. Surgery is one of the factors involved in metastatic spread since it may facilitate the release of cancer cells into the bloodstream during tumour manipulation. Another factor related to cancer spread is the systemic inflammatory response associated with perioperative surgical stress. Consequently, surgery implies two factors related to metastatic progression, i.e., the presence of cancer cells with metastatic potential and an appropriate microenvironment for their growth. Among that can affect metastatic progression of tumour cells is the anaesthetic technique [2].

Correspondence to: Jose Luis Guerrero Orriach and Aida Raigon Ponferrada

Email: guerreroorriach@gmail.com and aidaraigonp@gmail.com

ecancer 2020, 14:1080

<https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1080>

Published: TK

Received: 14/01/2020

Publication costs for this article were supported by ecancer (UK Charity number 1176307).

Copyright: © the authors; licensee ecancermedicalscience. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Review

