



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**PETRÓLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD
GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD**

**SOBREEXPRESIÓN DE LA ONCOPROTEÍNA HER-2 EN CARCINOMAS
GÁSTRICOS EN EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE ENERO DE
2005 A DICIEMBRE DE 2010 EN EL HOSPITAL CENTRAL SUR DE
ALTA ESPECIALIDAD DE PEMEX**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN:
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

PRESENTA:

DR. ELADIO FUENTES SOTO

TUTOR DE TESIS:

DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO



MÉXICO, D. F. AGOSTO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. CARLOS FERNANDO DÍAZ ARANDA

DIRECTOR

DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. MARÍA IRENE RIVERA SALGADO

JEFE DEL SERVICIO DE PATOLOGÍA

Y TUTOR DE TESIS

DR. CESAR ALBERTO CRUZ SANTIAGO

ASESOR ESTADÍSTICO



SOBREEXPRESIÓN DE LA ONCOPROTEÍNA HER-2 EN CARCINOMAS GÁSTRICOS EN EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE ENERO DE 2005 A DICIEMBRE DE 2010 EN EL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD DE PEMEX



GRACIAS DIOS; POR MANTENERTE A MI LADO EN CADA ESFUERZO REALIZADO.

CON TODO MI AGRADECIMIENTO, AMOR, RESPETO Y ADMIRACIÓN A ESOS DOS PILARES QUE ME ENSEÑARON A SUPERAR LO INSUPERABLE Y QUE MANTUVIERON SU APOYO EN CADA MOMENTO DE ADVERSIDAD: SILVIA Y ELOISA.

INTRODUCCIÓN.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
MARCO TEÓRICO.....	6
ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO	6
IRRIGACIÓN E INERVACIÓN.....	7
HISTOLOGÍA.....	9
ANTECEDENTES.....	12
JUSTIFICACIÓN:	16
HIPÓTESIS:	16
OBJETIVO GENERAL:.....	17
OBJETIVO SECUNDARIO	17
TIPO DE ESTUDIO:.....	17
DISEÑO:	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
DEFINICIÓN DEL UNIVERSO:.....	18
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	18
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	18
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.....	19
EL PROCESO DE LAS MUESTRAS	19
FIJACIÓN.....	19
INCLUSIÓN EN PARAFINA Y CORTE.....	20
DEFINICIÓN DE VARIABLES	20
MÉTODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA.....	22
TABLA DE REGISTRO DE DATOS	23
TABLA DE VALORACIÓN	24



SOBREEXPRESIÓN DE LA ONCOPROTEÍNA HER-2 EN CARCINOMAS GÁSTRICOS EN EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE ENERO DE 2005 A DICIEMBRE DE 2010 EN EL HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD DE PEMEX



RESULTADOS.....	25
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	33
CRONOGRAMA	34
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:.....	34
BIBLIOGRAFÍA:.....	35

INTRODUCCIÓN

El carcinoma de estómago ocupa una alta incidencia en los países industrializados¹, formando parte de las principales neoplasias malignas en éstos; llega a ocupar el cuarto sitio y del 90 al 95% de las neoplasias malignas del estómago^{9, 15}. Hasta 1999 ocupaba el segundo lugar de las causas de muerte específicas en nuestro país².

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconoce la frecuencia de la sobreexpresión de la oncoproteína HER-2 en los casos de cáncer gástrico y su correlación con el tipo histológico en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

MARCO TEÓRICO

ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO

El estómago se sitúa en la cavidad abdominal entre el esófago y el intestino delgado, su principal función es la digestión enzimática, aunque funciona también como reservorio y mezclador de alimentos. Tiene forma de letra “J” y varía según los movimientos respiratorios del diafragma y la cantidad de contenido dentro de él, que varía de 2 a 3 litros de volumen. Posee dos curvaturas: la menor que es el borde cóncavo más corto del mismo y la curvatura mayor que forma el borde cóncavo más largo del estómago. Lo conforman el cardias: que es la parte que

rodea al orificio del mismo nombre en la porción más cefálica; el fondo es la porción dilatada superior que se relaciona con la cúpula izquierda del diafragma y está limitada en la parte inferior, por el plano horizontal del cardias. La parte superior del fondo suele llegar hasta el 5º espacio intercostal izquierdo. Por otro lado el cuerpo gástrico está comprendido entre el fondo y el antro pilórico; ésta última se continúa con el conducto pilórico que es una zona más estrecha y juntas forman la porción pilórica que termina en el píloro, que es el esfínter distal y controla la descarga del contenido gástrico en el duodeno¹².



Figura 1. Anatomía del estómago

IRRIGACIÓN E INERVACIÓN

El estómago está irrigado en la curvatura menor por las arterias gástricas derecha e izquierda; la primera emerge como rama de la arteria hepática y la segunda directamente del tronco celiaco. En la curvatura mayor va la arteria gastrointestinal izquierda, rama de la arteria esplénica, que se anastomosa con la arteria gastrointestinal derecha (gastroepiploica), rama terminal de la arteria gastroduodenal que inicialmente sigue la curvatura menor, hasta el sitio de su anastomosis. El fondo del estómago está irrigado por las arterias gástricas cortas (4 a 5), ramas de la arteria esplénica en su porción terminal. El drenaje venoso ocurre de la misma forma, así las venas gástricas tienen una posición y curso paralelo a los de las arterias. Las venas gástricas derecha e izquierda drenan directamente en la porta y las venas gástricas cortas desembocan en la vena esplénica.

Los vasos linfáticos siguen el trayecto de las arterias en la curvatura mayor y menor, drenando el material linfático y llevándolo a los ganglios linfáticos gástricos y gastrointestinales; los vasos eferentes acompañan a las grandes arterias hasta los ganglios linfáticos celiacos.

La inervación parasimpática del estómago procede de los troncos vagales anterior (rama del nervio vago izquierdo) y posterior (procedente del nervio vago derecho); así como de sus ramas que penetran el estómago por el hiato esofágico. Por otro lado, la inervación simpática del estómago procede de los segmentos T6 a T9 de la médula espinal, pasa al plexo celíaco por el nervio esplénico mayor y se distribuye por los plexos que rodean las arterias gástricas y gastrointestinales¹².

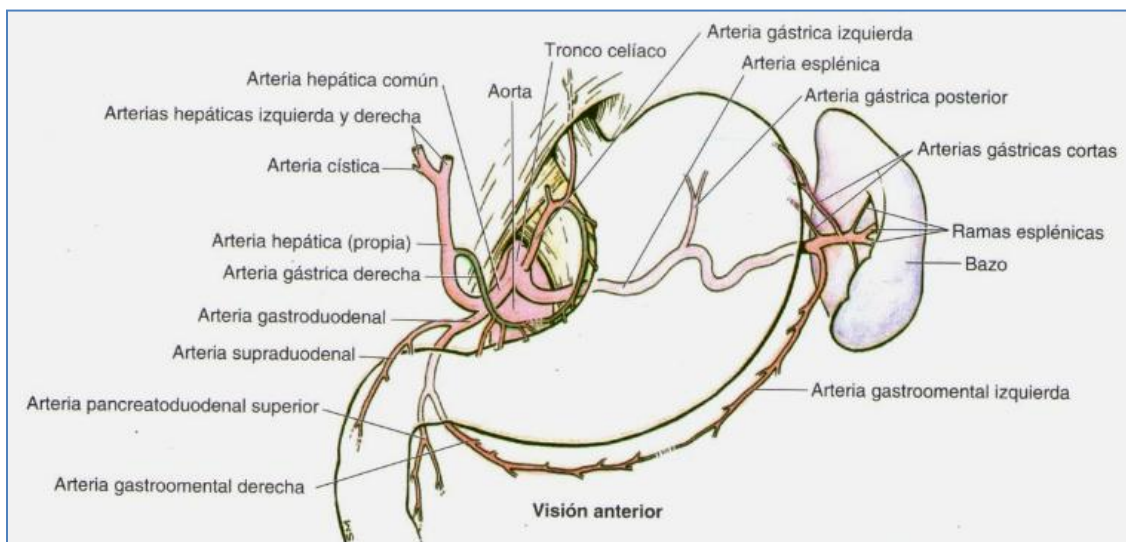


Figura 2. Irrigación del estómago

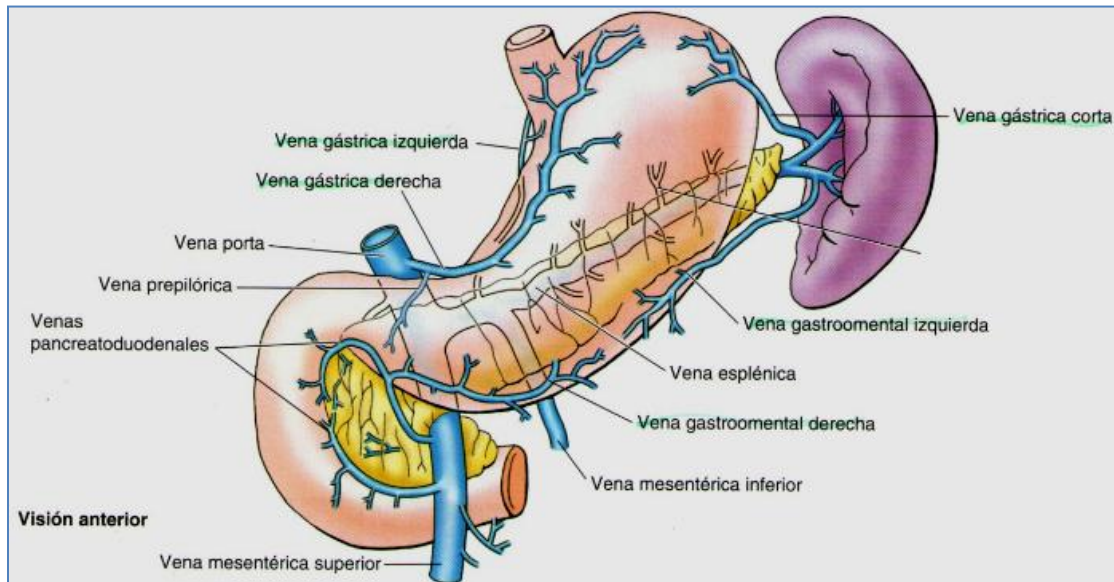


Figura 3. Drenaje venoso del estómago

HISTOLOGÍA

Los estratos histológicos del estómago del interior al exterior son: mucosa, submucosa, muscular y serosa, cada una con características especiales.

La mucosa posee una superficie aterciopelada y es de color rosada, forma pliegues longitudinales gruesos que desaparecen cuando el estómago se llena; se pueden observar pequeños orificios que forman cavidades en forma de embudo, las foveolas, que es donde se abren las glándulas gástricas que la conforman. El epitelio superficial está conformado por células cilíndrico simple alto secretor de moco y contienen en el citoplasma gránulos de mucina, con núcleos ovals o esféricos de localización basal y no contiene borde en cepillo como el intestino. Conforme se avanza hacia la profundidad de las criptas, el moco se hace menos

evidente y las células se hacen más bajas. El estómago tiene tres zonas según la forma de las glándulas:

- A. Zona cardial: zona angosta cerca del cardias donde son abundantes.
- B. Corpofundica: que ocupa un tercio del estómago.
- C. Pilórica: Cerca de la zona del píloro

GLÁNDULAS CORPOFUNDICAS: Cada túbulo glandular se forma de una parte principal profunda, un cuello medio y un istmo que se encuentra más superior. Éstas glándulas tienen cuatro tipos celulares: principales, parietales, mucosas del cuello y células endócrinas.

Células principales: Las más abundantes, de tipo seroso y con basofilia en la porción basal y gránulos de zimógeno apicales que contienen pepsinógeno, precursor de la pepsina que degrada principalmente la colágena.

Células parietales: Grandes y redondeadas con núcleos redondos y oscuros de localización central, citoplasma acidófilo por la abundancia de mitocondrias; se encuentran en mayor proporción en el cuello de la glándula. Secretan el ácido clorhídrico con pH de 0.8 y el factor intrínseco, necesario para absorción de la vitamina B12 en el íleon.

Células mucosas del cuello: Se encuentran entre las células parietales, son cilíndricas bajas con un núcleo basal generalmente aplanado; su mucina es más fluida que la de las células superficiales.

Células enteroendocrinas: secretan diversas hormonas como gastrina y somatostatina.

GLÁNDULAS PILÓRICAS: Son tubulares simples pero más ramificadas que las glándulas corpofundicas; además de las células enteroendocrinas tienen otro tipo celular secretor de mucina fluida. Las células enteroendocrinas de la mucosa

gástrica pertenecen al sistema enteroendocrino que incluye células aisladas, por lo general solitarias, productoras de hormonas que se encuentran en el epitelio de todo el tracto gastrointestinal.

Células G productoras de gastrina: Por microscopía electrónica tienen gránulos de secreción electrondensos en el citoplasma basal al núcleo. Posee borde en penacho con microvellosidades; secretan gastrina que estimula la secreción de ácido clorhídrico por las células principales y la liberación de pepsinógeno.

Células D productoras de somatostatina: Posee un borde de microvellosidades y gránulos de secreción electrondensos; tiene una prolongación citoplasmática hacia la base que se cree expresa la función paracrina de las células D con liberación de somatostatina y la consiguiente inhibición local de las células G.

Células similares a las enterocromafines: Secretan histamina que estimula la secreción de ácido clorhídrico por las células principales, ya que contienen receptores H₂.

GLÁNDULAS DEL CARDIAS: Son tubulares y mucosas, con secreción espesa y similares a las células mucosas de las glándulas pilóricas.

La lámina propia se compone de tejido conectivo laxo rico en células, que ocupa las hendiduras entre las glándulas y los espacios un poco más grandes entre las foveolas. La muscular de la mucosa se compone de una capa circular interna y una longitudinal externa.

La túnica submucosa se compone de tejido conectivo laxo que contiene grandes vasos sanguíneos, vías linfáticas y nervios. En la porción profunda se encuentran células ganglionares del plexo de Meissner. La túnica muscular se compone de tres capas una externa longitudinal, una circular intermedia y una interna diagonal; la capa media forma el esfínter pilórico hacia el final del estómago¹³.

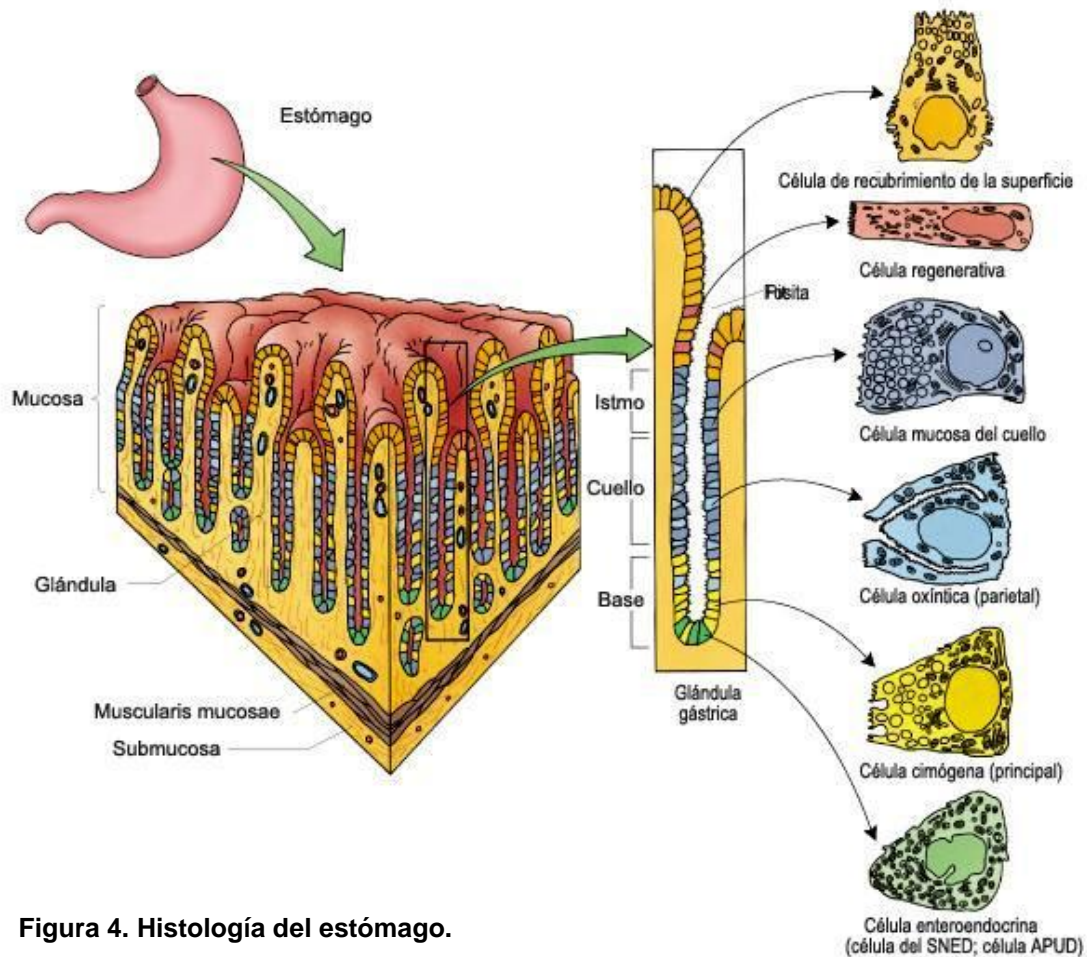


Figura 4. Histología del estómago.

ANTECEDENTES

El carcinoma de estómago ocupa una alta incidencia en los países industrializados¹, formando parte de las principales neoplasias malignas en éstos; ocupa del 90 al 95% de las neoplasias malignas del estómago⁹. Hasta 1999 ocupaba el segundo lugar de las causas de muerte específicas en nuestro país².

Existen diversos sistemas de clasificación para el carcinoma gástrico, los dos más usados son el de Lauren (1965) y el de la OMS (1977); se clasifica según Lauren

en dos subtipos: uno que muestra morfología intestinal con formación de tumores voluminosos compuestos por estructuras glandulares y otro con crecimiento difuso, infiltrante, de células malignas discohesivas y poco diferenciadas. Ambos parecen tener una base patogénica diferente. El tipo intestinal predomina en zonas de alto riesgo y se desarrolla a partir de lesiones precursoras, se identifica en una edad promedio de 55 años, predominando en el género masculino en una relación 2:1. Por el contrario, la incidencia del tipo difuso es uniforme y no cuenta con lesiones precursoras identificables, se diagnostica en promedio a los 48 años con una distribución igual entre ambos géneros. El sistema de clasificación de la OMS es relativamente simple y se basa en el aspecto histológico de los tumores y en el caso del adenocarcinoma lo divide en papilar, tubular, mucinoso, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma indiferenciado y carcinoma adenoescamoso⁹.

CLASIFICACIÓN DE LAUREN PARA CARCINOMA GÁSTRICO	
INTESTINAL	DIFUSO
Con diferenciación glandular; hay formación de túbulos y luces glandulares	Células individuales o en pequeños acumulos. Son pequeñas, con citoplasma inconspicuo y citoplasma pignótico.
Moco intracelular polarizado hacia el ápex celular.	Moco intracelular no polarizado (células en anillo de sello).
Moco extracelular en la luz glandular	Moco extracelular en el estroma
Crecimiento expansivo	Crecimiento infiltrante, difuso
Metaplasia intestinal frecuente	Metaplasia intestinal infrecuente
Relación por género masculino:femenino 2:1	Relación por género masculino:femenino 1:1
Edad promedio de 55 años	Edad promedio de 48 años

El cáncer gástrico como el resto de neoplasias malignas expresan factores de crecimiento que contribuyen la degradación de la matriz extracelular, promueven la angiogénesis en la invasión tumoral y la proliferación tumoral. El protooncogen HER-2 se localiza en el cromosoma 17q21 y codifica una proteína transmembrana con función receptora y actividad de tirosina cinasa (receptor de crecimiento epidérmico EGFR) que pertenece a la familia HER, compuesta por cuatro miembros (HER-1 a HER-4) y juega en condiciones fisiológicas, un papel en la comunicación intercelular y entre célula y estroma. En el carcinoma de mama funciona como oncogén y cuya sobreexpresión sugiere un pobre pronóstico clínico, siendo al mismo tiempo, un marcador predictivo para el tratamiento con terapia blanco; se ha identificado del 10 al 34% de éstos¹⁹. A finales de los años 90 se demostró que anticuerpos monoclonales dirigidos frente a HER-2 eran capaces de ejercer un efecto antitumoral; uno de estos anticuerpos, el anticuerpo murino 4D5, era particularmente activo en líneas celulares o tumores con sobreexpresión de HER-2. La humanización de 4D5 resultó en el anticuerpo anti HER-2 trastuzumab¹⁴, usado actualmente como terapia blanco en cáncer de mama con sobreexpresión de la oncoproteína. Esta sobreexpresión se ha observado en cáncer de diversos sitios, tales como: ovario, pulmón, colon y estómago^{4, 5}.

En el cáncer de estómago el HER-2 sobreexpresado constituye un factor pronóstico independiente de la edad, localización y estadificación, asociado con un grado menor de sobrevida a 5 años⁶. La tasa de positividad se ha estimado en diversas series y va del 15 al 20%⁷. Se evalúa de manera similar a la descrita en mama, según las características de expresión en la membrana citoplasmática validadas por Hoffman que define: Sin expresión o expresión en menos del 10% de las células como 0 /negativo; expresión en membrana muy tenue en más del 10% de las células ó expresión sólo en parte de la membrana son 1+/negativo; expresión débil a moderada completa o en la membrana basolateral en más del

10% de las células tumorales es 2+/dudoso; expresión moderada a fuerte en la membrana basolateral o completa en más del 10% de las células tumorales se califica como 3+/positivo⁸.

RECOMENDACIONES PARA LA VALORACIÓN DE HER-2 EN CARCINOMA GÁSTRICO	
CARACTERÍSTICAS	VALOR/ CLASIFICACIÓN
Sin reacción o reacción en membrana en menos del 10% de las células.	0/negativo
Tenue/reacción de membrana levemente perceptible en menos del 10% de las células; hay reacción celular sólo en parte de la membrana.	1+/negativo
Reacción débil a moderada completa o en la membrana basolateral en más del 10% de las células neoplásicas.	2+/dudoso
Reacción moderada a intensa completa o en la membrana basolateral en más del 10% de las células neoplásicas.	3+/positivo
Las biopsias con reacción 3+ o positividad a FISH se consideran positivas independientemente del tamaño.	

Tomado de Hoffmann M, et al. 2008.

Este marcador está siendo evaluado por diversos grupos de estudio, en Latinoamérica se ha reportado que el 16.8% de 137 casos son positivos, de estos el 56.5% son 2+ y el 43.5% son 3+. Según la clasificación de Lauren para carcinomas gástricos: el 69.5% para el tipo intestinal, 26% para el tipo difuso y 4.5% para los tumores mixtos⁶. En una serie Mexicana se encontró que no hubo

sobreexpresión de HER-2 en la mucosa normal y fue positiva en 16% de la muestra¹⁰.

El estudio de este marcador pretende incluir al Trastuzumab en asociación con quimioterapia, como terapia blanco para el tratamiento de estas neoplasias gástricas con sobreexpresión del HER-2, como se hace actualmente en carcinoma de mama. En enero de 2010 fue aprobado su uso por la Unión Europea en pacientes con carcinoma gástrico en etapas avanzadas.

JUSTIFICACIÓN:

El conocer la frecuencia con que se sobreexpresa el gen HER-2 en cáncer gástrico y su correlación con el patrón histológico, aplicando los criterios validados para la evaluación de la prueba, ayuda a establecer las bases moleculares para definir los casos con pronóstico desfavorable y así evaluar la posibilidad del uso de la terapia blanco.

HIPÓTESIS:

Se pretende obtener una positividad entre el 10 y el 20% en la sobreexpresión de la oncoproteína HER-2 en los casos de carcinoma gástrico diagnosticados en esta institución.



OBJETIVO GENERAL:

Definir la frecuencia con la que hay sobreexpresión de la proteína HER-2 en los casos de cáncer gástrico y su correlación con el patrón histológico durante el periodo comprendido entre Enero de 2005 a Diciembre de 2010 en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

OBJETIVO SECUNDARIO

Homogeneizar los criterios validados para la evaluación de HER-2 por el método de inmunohistoquímica en carcinoma gástrico en el servicio de Patología de esta institución.

TIPO DE ESTUDIO:

Estudio observacional descriptivo, transversal y analítico.

DISEÑO:

El presente estudio es de tipo transversal retrospectivo y prospectivo de Enero de 2005 a Diciembre de 2010 y cuantitativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

DEFINICIÓN DEL UNIVERSO:

Se estudiarán todos los casos de Adenocarcinoma gástrico en un periodo de 5 años en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluirán todos los casos con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, diagnosticados entre Enero de 2005 y Diciembre de 2010, se incluirán; biopsias gástricas obtenidas por endoscopia, estómagos procedentes de resección quirúrgica parcial ó total; biopsias de metástasis de carcinoma gástrico, y casos referidos de otros hospitales con diagnóstico de carcinoma gástrico para su revisión.

Si un paciente tiene gastrectomía y biopsia previa endoscópica, se considerarán ambos tejidos para el estudio de inmunohistoquímica, debido a que este estudio pretende saber cuál es el mejor tejido para dicha prueba.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Casos diagnosticados como adenocarcinoma gástrico fuera del periodo de Enero de 2005 a Diciembre de 2010.

Todos los casos que no cuenten con bloques de parafina para realizar inmunohistoquímica.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Todos los casos que presenten tejido inadecuado (con artificios causados por mala fijación) para realizar el estudio de inmunohistoquímica.

Aquellos en los que no se encuentre material neoplásico en los cortes subsecuentes para la realización de la inmunohistoquímica.

EL PROCESO DE LAS MUESTRAS

FIJACIÓN

Todas las muestras que se reciban en la parte prospectiva del estudio necesariamente deberán ser fijadas en formol buffer al 10% y siempre dentro de la primera hora tras la fijación de la muestra, sin usar fijadores basados en alcohol o que contengan mercurio. El tiempo óptimo de fijación es de 24 a 48 horas para las piezas producto de resección quirúrgica y de 6 horas cuando mínimo para las biopsias, ya que de no cumplir con este tiempo hay desnaturalización de proteínas, proceso que afecta el resultado de inmunohistoquímica. La fijación de tejidos tiene la finalidad interrumpir los procesos de degradación que aparecen tras la muerte tisular, posterior a la obtención de la pieza, permitiendo conservar su arquitectura y composición lo más próxima posible a la encontrada en el organismo in vivo.

INCLUSIÓN EN PARAFINA Y CORTE

Para un adecuado proceso en cada muestra, es recomendable incluir cortes de tejido con dimensiones entre 1 y 1.5 cm por lado y de 0.2 a 0.4 cm de espesor. En el caso de las biopsias endoscópicas, incluirlas en papel filtro marcadas con eosina. Cada muestra pasa por un proceso de deshidratación a base de baños en alcohol a diferentes concentraciones de la menor hasta alcohol absoluto, posteriormente se sumergen en xilol con el fin de quitar el agente deshidratante finalmente se infiltran las muestras con parafina líquida a temperatura entre 58 y 65 °C para endurecer el tejido y facilitar el corte entre 3 y 4 micras para tinción con hematoxilina y eosina (H y E), que es la tinción de rutina y se realiza un corte adicional en laminillas electrocargadas para evitar el desprendimiento del tejido durante el proceso de inmunohistoquímica con el Kit estandarizado de Herceptest® para HER-2, siguiendo el protocolo establecido en el manual, todas las laminillas se corrieron con un testigo externo positivo.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Las variables a estudiar son independientes, cualitativas, nominales y cuantitativas:

Independientes:

De identificación:

Género

Edad.

Sustantivas:

Tipo de tumor según clasificación de Lauren (1965):

Carcinoma de tipo intestinal

Difuso

Mixto.

Presencia de metástasis.

Valoración de HER-2:

Según la positividad en la membrana citoplasmática, en relación a la escala de 0 sin reacción, 1 reacción tenue y parcial en segmentos de la membrana; 2 con reacción tenue en membrana basolateral o en menos del 10% de las células neoplásicas y 3 con reacción intensa en membrana basolateral y en más del 10% de las células neoplásicas a 3 (0, 1+, 2+, 3+) validada para expresión de HER-2 en carcinoma gástrico (Hoffman et al)⁸.

Tipo de tejido:

Biopsia endoscópica

Producto de gastrectomía

Metástasis de adenocarcinoma gástrico

MÉTODOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se obtuvieron 108 casos del sistema de informática del servicio de patología del HCSAE PEMEX los cuales se hallaron codificados en “topografía” como estómago y en morfología “adenocarcinoma, carcinoma, carcinoma poco diferenciado, carcinoma de tipo intestinal y carcinoma difuso”; posteriormente utilizando los criterios de exclusión, se rechazaron 9 casos que correspondían a bloques de parafina con material inadecuado para el estudio y 18 en los que no se contaba con el bloque de parafina para realizar la inmunohistoquímica; obteniendo finalmente una muestra de 81 casos, mismos a los que se les realizó inmunohistoquímica para HER-2, todos con testigo externo positivo. Posteriormente, durante la valoración se detectaron 3 casos en los que no se encontró tejido neoplásico en los recortes realizados, disminuyendo el universo de trabajo a 78 casos, mismos que se consideraron para realizar la correlación interobservador en la valoración de HER-2 y su relación con el resto de los parámetros para describir la epidemiología del cáncer gástrico en la institución.

Los datos obtenidos se registraran en las tablas de registro y de valoración respectivamente.

TABLA DE REGISTRO DE DATOS

FICHA	NOMBRE	SEXO	EDAD	No. DE ESTUDIO	MATERIAL			TIPO HISTOLÓGICO			MET	HER-2				
					Q X	B X	L R	INT	DIF	M X		0	1	2	3	

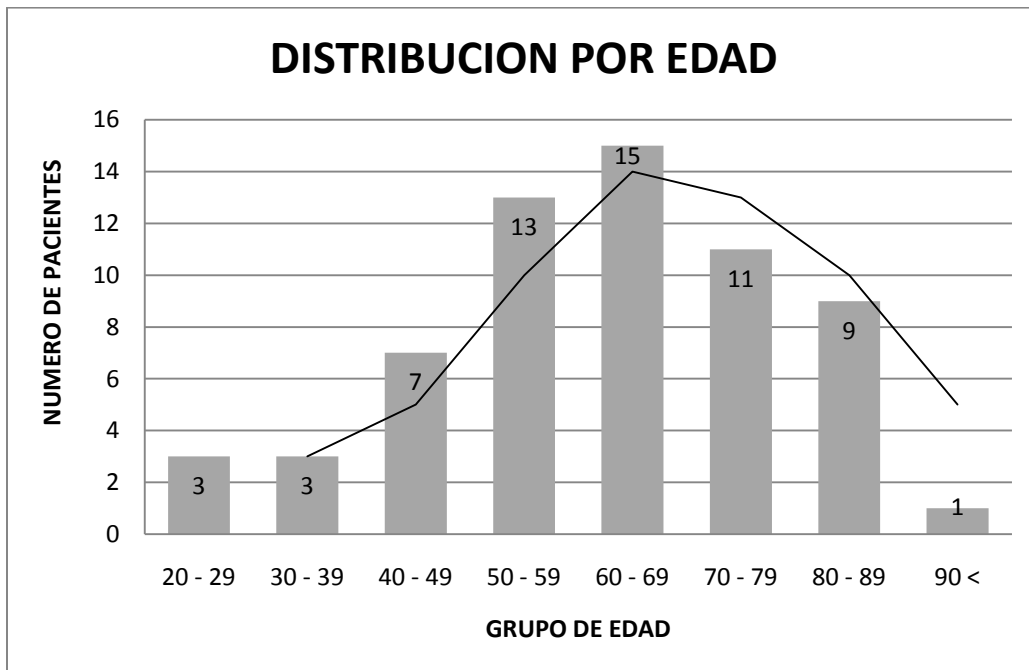
TABLA DE VALORACIÓN

BLOQUE	#	CASO	PATÓLOGO 1				PATÓLOGO 2				PATÓLOGO 3			
			-0	+1	+2	+3	-0	+1	+2	+3	-0	+1	+2	+3
TOTAL														

RESULTADOS

Distribución según la edad de los pacientes.

DESV EST	5.1199
PROMEDIO	62.2
N =	62



Del total de casos estudiados

	PIEZAS QUIRÚRGICAS	BIOPSIAS	TOTAL
HCSAE PEMEX	22	34	56
LR	5	17	22
TOTAL	27	51	78

Tipo histológico en relación a género.

	INTESTINAL	DIFUSO	MIXTO	TOTAL
MASCULINO	22	16	0	38
FEMENINO	14	22	4	40
TOTAL	36	38	4	78

Tipo histológico y valor de HER-2

		TIPO HISTOLÓGICO			TOTAL
		INTESTINAL	DIFUSO	MIXTO	
VALOR DE HER-2	Neg 0	22	29	3	54
	Neg 1	10	6	1	17
	Dudoso 2	4	1	0	5
	Positivo 3	0	2	0	2
TOTAL		36	38	4	78

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleará estadística inferencial con medidas de tendencia central: promedio y moda para establecer la frecuencia de sobreexpresión de la oncoproteína HER-2 en los diferentes tipos histológicos de carcinoma gástrico, así como su relación con la edad y género.

Para homologar los criterios validados en la interpretación de HER-2, se utilizará el índice de Kappa y determinar diferencias interobservador. De los casos estudiados se obtuvo la siguiente tabla de contingencia:

VALOR DE HER-2	0	1	2	3	TOTAL
PATÓLOGO A	54	17	5	2	78
PATÓLOGO B	65	8	3	2	78
PATÓLOGO C	69	4	4	1	78
TOTAL	188	29	12	5	234

Calculando el índice de Kappa:

$$\text{Kappa de Fleiss} = \frac{\text{P. Observada} - \text{P. Esperada}}{1 - \text{P. Esperada}}$$

KAPPA OBTENIDO	
Correlación general	0.64
Correlación para Negativo 0	0.74
Correlación para Negativo 1+	0.53
Correlación para Dudoso 2+	0.70
Correlación para positivo 3+	0.76

INTERPRETACIÓN DE KAPPA	
0 – 0.2	INSIGNIFICANTE
0.2 – 0.4	BAJO
0.4 – 0.6	MODERADO
0.7 – 0.8	BUENO
0.8 - 1	MUY BUENO

DISCUSIÓN

En este trabajo se incluyeron 78 casos diagnosticados como adenocarcinoma gástrico en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX en un periodo de cinco años, de los que 56 contaron con material obtenido y procesado en este hospital; 22 corresponden a piezas de resección quirúrgica y 34 a biopsias. Las 22 muestras restantes cuentan con material enviado de otros hospitales de PEMEX para su revisión y/o confirmación diagnóstica (bloques de parafina y laminillas), de éstas, 5 son piezas de resección quirúrgica y 17 biopsias.

La edad promedio de los pacientes incluidos en el estudio fue de 62.2 años y el grupo de edad en el cual se presentó la mayor incidencia de adenocarcinoma gástrico es el de los 60 a 69 años, que concuerda con lo reportado en la literatura en la que se menciona la séptima década de la vida como el pico en la incidencia de éste padecimiento^{3, 16, 24}.

La edad promedio se calculó en base a los 62 pacientes incluidos en este estudio, en el que se tienen 78 muestras ya que se realizó HER-2 en biopsias y en la pieza obtenida por resección quirúrgica por la gran heterogeneidad en la expresión de este protooncogen dentro del carcinoma gástrico^{8, 7, 15, 25}. En contraste con el carcinoma de mama, en el adenocarcinoma gástrico hay una heterogeneidad presente en la sobreexpresión y amplificación del HER-2 y puede presentarse con diferentes aspectos: puede variar la expresión de HER-2 de 1+ a 3+ en el mismo tumor; puede haber áreas 3+ positivo dentro de un tumor morfológicamente diferente del adenocarcinoma negativo adyacente; áreas de tinción 3+ dentro de un adenocarcinoma totalmente homogéneo morfológicamente; o en el componente intestinal de un adenocarcinoma de tipo mixto²⁵.

De los casos estudiados; 36 fueron diagnosticados como adenocarcinoma de tipo intestinal y 38 de tipo difuso; sólo 4 casos presentaron un patrón histológico de tipo mixto (carcinoma de tipo intestinal y carcinoma difuso). En cuanto a la

distribución respecto al patrón histológico y el sexo tenemos que de los 38 hombres, 22 presentaron un patrón intestinal y 16 de tipo difuso; por otro lado, de las 40 pacientes mujeres, 14 presentaron un patrón histológico de tipo intestinal, 22 de tipo difuso y los 4 casos diagnosticados como mixtos, pertenecieron a éste género. Hay series en las que se describe que predomina el género masculino dentro de éste padecimiento con una alta incidencia de adenocarcinoma de tipo intestinal y en el género femenino, el patrón predominante es el difuso^{8, 16, 24}.

Se realizaron pruebas de HER-2 por inmunohistoquímica a las 78 muestras incluidas en este trabajo con los siguientes resultados: 71 casos se evaluaron como negativos (91.02%), que incluye 54 (69.23%) con una calificación negativo 0 y 17 (21.79%) como negativo 1+. 5 casos (6.41%) se evaluaron como dudosos por presentar una tinción positiva 2+ y sólo 2 casos (2.56%) presentaron una reacción HER-2 positivo 3+. Todos los casos se analizaron con un corte de mama positivo 3+ como testigo externo.

Cuando se toma en cuenta la sobreexpresión de HER-2 con respecto al patrón histológico se observa que de los 36 casos (46.15%) con patrón intestinal, 22 (28.20%) fueron evaluados como negativo 0, 10 (12.82) como negativo 1+ y 4 (5.12%) como dudosos 2+. De los 38 casos con patrón difuso, 29 (37.17%) fueron evaluados como negativo 0, 6 (3.84%) como negativo 1+, 1 (1.28%) como dudoso 2+ y 2 (2.56%) como positivo 3+. Aquellos casos con patrón histológico mixto 3 (3.84%) fueron negativo 0 y sólo 1 caso (1.28%) fue valorado como negativo 1+. Datos que contrastan con lo que se ha descrito, ya que el patrón que presenta mayor positividad a HER-2 es el de tipo intestinal^{7, 8, 17, 18}.

Los dos casos que fueron positivos 3+ para HER-2 (2.56%), corresponden a las mujeres más jóvenes en este estudio con edades de 24 y 29 años, ambas con adenocarcinoma difuso con células en anillo de sello; una de ellas tuvo además metástasis a 22 ganglios linfáticos locales y falleció por complicaciones propias al padecimiento 12 meses después del diagnóstico; en éste caso el comportamiento

observado en el carcinoma difuso con células en anillo de sello y HER-2 positivo 3+ fue más agresivo clínica y morfológicamente. Estos datos concuerdan con series informadas donde se menciona un comportamiento más agresivo del patrón difuso con células en anillo de sello atribuido a la pérdida de expresión de la molécula de adhesión E-Cadherina que le da la característica de unión a las células del epitelio glandular¹⁵. Sin embargo, recientemente se ha puesto en duda que la edad, género y raza jueguen un factor decisivo en el mal pronóstico inherente a este tipo histológico^{20,21} y se ha visto que la sobreexpresión de HER-2 por si misma ha mostrado ser un factor pronóstico importante en cáncer de mama y ha sido asociado de forma independiente al pobre pronóstico y agresividad en el adenocarcinoma gástrico^{7, 15, 23}.

En este estudio se encontraron 5 casos (6.41%) valorados como HER-2 dudoso 2+, estos casos corresponden a 4 de tipo intestinal y 1 de tipo difuso, que de acuerdo a las recomendaciones usadas para la validación de la prueba de inmunohistoquímica para HER-2 en cáncer gástrico, se enviarán a corroboración mediante hibridación por fluorescencia in situ (FISH)^{8, 17, 18} para corroborar la sobreexpresión del protooncogen.

Se realizó una prueba de concordancia interobservador en valoración de los resultados en la prueba de HER-2 por inmunohistoquímica en la que tres patólogos observaron las mismas laminillas y otorgaron un valor de 0 a 3+ y posteriormente se compararon las interpretaciones.

Se encontró una buena correlación interobservador entre los tres patólogos que interpretaron los casos, con un índice de Kappa general de 0.64; cuando valoraron negativo 0 el índice Kappa fue de 0.74; al valorar Negativo 1+ fue de 0.53; de 0.70 al valorar como Dudoso 2+ y de 0.76 cuando hay sobreexpresión de la oncoproteína HER-2 positivo 3+. Esta misma escala se utiliza en la valoración de HER-2 en carcinoma ductal infiltrante de mama, por lo que los patólogos están familiarizados con ella. Sin embargo se realizaron adecuaciones de esta escala

para carcinoma gástrico en donde el consenso en la literatura implica que se valore la membrana basolateral de las células neoplasias como positivo y no necesariamente membranas completas. De igual forma, se toma como positivo si hay reacción en por lo menos el 10% de las células neoplásicas en piezas obtenidas por resección quirúrgica y bastan escasos grupos celulares positivos en las muestras obtenidas por biopsia para dar la positividad 3+^{8, 17, 18}.

A pesar de que en este trabajo no se alcanzo el 10% de casos positivos para HER-2, se obtuvieron datos importantes para analizar el comportamiento del adenocarcinoma gástrico en cuanto al patrón histológico, sobreexpresión de la oncoproteína HER-2 y se homogeneizaron los criterios en la valoración de la inmunohistoquímica.

Una de las razones para no alcanzar el 10% de positividad reportado en la literatura es que a pesar de los 5 años estudiados, la muestra es pequeña. Se recomienda hacer de rutina la inmunohistoquímica para HER-2 en todos los casos de carcinoma gástrico para poder valorar el posible tratamiento blanco con Trastuzumab y por otro lado en esta serie predominan los casos con patrón histológico de tipo difuso con células en anillo de sello y los reportados en la literatura como HER-2 positivos 3+ tienen predominantemente un patrón de tipo intestinal²².

CONCLUSIONES

El grupo de edad donde hubo mayor incidencia de adenocarcinoma gástrico fue entre los 60 y 69 años.

El promedio de edad de presentación en el HCSAE es de 62.2 años; con una relación casi homogénea mujer:hombre de 1:1.2; la paciente más joven tenía 25 años y el paciente de mayor edad fue de 95 años.

En los casos estudiados de carcinoma gástrico en un periodo de cinco años en esta institución, el 2.56% (dos casos) fue positivo (3+) para HER-2 por el método de inmunohistoquímica y el 6.41% (cinco casos) es dudoso (2+). Éstos últimos se enviarán a estudio de amplificación de HER-2 por el método de FISH.

Los dos casos positivos corresponden a carcinoma gástrico de tipo difuso con células en anillo de sello en las pacientes de menor edad (25 y 29 años), una de las cuales, tiene reportadas metástasis a 22 ganglios linfáticos locales.

El patrón histológico que predomina en los casos estudiados es el de tipo intestinal con 36 casos (46.15%), seguido del difuso con células en anillo de sello con 38 casos (48.71%) y sólo 4 casos (5.12%) fueron de tipo mixto.

Se encontró una buena correlación interobservador entre los tres patólogos que interpretaron los casos, con un índice de Kappa general de 0.64 y de 0.74 cuando hay sobreexpresión de la oncoproteína HER-2.

CRONOGRAMA

CALENDARIO DE ACTIVIDADES												
AÑO	2010				2011				2012			
MES	Ene a Mar	Abr a Jun	Jul a Sep	Oct a Dic	Ene a Mar	Abr a Jun	Jul a Sep	Oct a Dic	Ene a Mar	Abr a Jun	Jul a Sep	Oct a Dic
ACTIVIDAD												
Recolección de estudios	X	X	X	X								
Realización de IHQ HER-2			X	X	X							
Evaluación de marcadores				X	X	X						
Recuperación de resultados					X	X						
Análisis de datos						X	X					
Reporte final							X	X				
Presentación de protocolo								X	X			

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO:

No es necesaria ya que no se aplicara tratamiento o intervención alguna a pacientes; se trabajara con las muestras que ya se encuentran dentro del archivo del servicio de Anatomía patológica del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Ferlay J. Cancer Incidence and a Mortality Worldwide (IARC Cancer Bases No.5). Lyon 2001.
2. Registro histopatológico de neoplasias en México, DGE/SSA, 1999.
3. Ugalde-Puyol J, Pérez-Rovalino M, Palta A, Patiño M. Cáncer gástrico: factores pronósticos moleculares mediante Tissue Microarray de bajo costo. X Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica, Ecuador 2009.
4. Tuefferd M, Couturier J, Penault-Llorca F, et al. HER2 status in ovarian carcinomas: a multicenter GINECO study of 320 patients. PLoS ONE 2007; 2:1138.
5. Koeppen HKW, Wright BD, Burt AD et al. Overexpression of HER2/neu in solid tumors: an immunohistochemical survey. Histopathology 2001; 38; 96-104.
6. Paradelo M, Gay R, Grupe V, DI Tada C, Landini P. Sobre-expresión del marcador HER2 en carcinoma gástrico. Curso internacional de la Sociedad Argentina de Patología. 2009.
7. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT et al. Amplification of HER2 in gastric carcinoma: association with topoisomerasa IIa gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to Trastuzumab. Ann Oncol. 2005; 16; 273-278.
8. Hoffman M, Stoss O, Shi D, Büttner R, Van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopathology 2008; 52: 797-805.
9. Kumar, Vinay, et al. Robbins and Cotran. Pathologic basis of Disease. Seventh edition. Barcelona; Elsevier. 2009 pp. 826-830.

10. Guzmán-Delgado N, Cruz-Vega E, Garza-Garza R, et al. Expresión de la oncoproteína HER-2/neu en cáncer gástrico. *Revista salud pública y nutrición* 2004; 4:10.
11. Roche, Comunicado de prensa: Herceptin aprobado en la UE contra el cáncer de estómago HER2-positivo avanzado, Basilea, enero 2010.
12. Moore KL, Dalley AF. *Anatomía con orientación clínica*, 4ª ed., Barcelona, Editorial médica panamericana, 2002, pp. 230-235.
13. Gennesser F, "Histología", 3ª ed., Buenos Aires, Editorial médica panamericana, 2001, pp. 488-498.
14. Palacios J, Andreu X, et al. Recomendación para la determinación de HER-2 en cáncer de mama, consenso nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). *Rev Esp Patol*; Vol. 42, 1:3-16.
15. Yang D, Hendifar A, Lenz C, et al. Survival of metastatic gastric cancer: Significance of age, sex and race/ethnicity. *J Gastrointest Oncol*, 2011; 2: 77-84.
16. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann surg* 2005; 241: 27-39.
17. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch* 2010; 457:299-307.
18. Shi-Yan Y, Ying H, Jian-Gao F, Guo-Quan T, Yong-Ming L, Xu C, et al. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17 (11): 1501-1506.
19. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ulrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235:177-82.

20. Lee JH, Ryu KW, Lee JR, Kim CG, Choi IJ, et al. Decisions for extent of gastric surgery in gastric cancer patients: younger patients require more attention than the elderly. *J Surg Oncol* 2007; 95:485-490.
21. Tso PL, Bringaze WL 3rd, Daauterive AH, Correa P, Cohn I Jr. Gastric carcinoma in the young. *Cancer* 1987; 59:1362-1365.
22. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Annals of Oncology* 2008; 19: 1523-1529.
23. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51:1371-1379.
24. Sanz-Anquela JM, Ruiz-Liso JM, Rodriguez-Manzanilla L, Alfaro-Torres J, et al. Importancia de la clasificación de Luren del cáncer gástrico. Revisión de una serie de 295 casos. *Patología* 1989; 22:156-161.
25. Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C, et al. HER2 Testing in Gastric Cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18(1):53-59.