

11262

5
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
"SALVADOR ZUBIRAN"

**COMPARACION DE CAMBIOS PRENEOPLASICOS
EN CARDIAS DE PACIENTES CON ESOFAGO DE
BARRETT Y DE PACIENTES CON GASTRITIS
CRONICA ASOCIADA A METAPLASIA INTESTINAL**

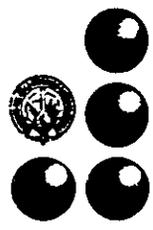
Estudio morfológico, histoquímico e inmunohistoquímico

TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A :
ARMANDO GAMBOA DOMINGUEZ

TUTOR: DR. DAVID KERSHENOBITCH STALNIKOWITZ

CO-TUTORES: DR. ARTURO ANGELES ANGELES

DR. MARCO A. CERBON



UNNSZ

MEXICO, D. F.

277728

JULIO DE 1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INDICE

Página

Dedicatoria y agradecimientos	2
Introducción	3
Justificación	7
Objetivos	8
Hipótesis	8
Material y métodos	9
Resultados	24
Discusión	32
Bibliografía	37
Anexos	44

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A Felicidad y Jerónimo. Amigos, padres e impulsores.

Agradezco la ayuda en la realización de este proyecto a los miembros de los Departamentos de Patología, Gastroenterología y Endoscopia del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. A los miembros del laboratorio de Endocrinología Molecular de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

INTRODUCCION

Durante años el cardias gástrico ha sido considerado como una parte anatómica bien definida con una apariencia histológica característica.¹ Su posición en el estómago es relativamente constante pero sus límites poco precisos, aunque se considera ubicado en los primeros dos centímetros distales a la unión esófago gástrica.^{1,2} Desafortunadamente, nuestro conocimiento de la patología que afecta esta área sigue al del conocimiento de su anatomía e histología, ambos aspectos carentes de un adecuado consenso en la actualidad.^{3,4}

Tradicionalmente se ha pensado que los mismos procesos inflamatorios y/o neoplásicos del estómago distal afectan al cardias y que son diferentes a los observados en el tercio inferior del esófago,⁵ Sin embargo, no existen estudios sistemáticos que lo sustenten. Por el contrario, hay estudios epidemiológicos que sugieren que los adenocarcinomas originados en el cardias y esófago distal, afectan a poblaciones casi idénticas y muestran diferencias con tumores similares que se originan en porciones más distales del estómago.³

Los estudios que comparan los procesos patológicos del cardias gástrico con los del resto del estómago se han enfocado principalmente a las enfermedades neoplásicas malignas y han establecido varias diferencias demográficas y de historia natural en ambas regiones.^{3,6} **a)** Las neoplasias del cardias no afectan a los mismos grupos étnicos que las del resto del estómago, **b)** Ocurren con más frecuencia en pacientes con reflujo esofágico crónico, hernia hiatal o úlceras duodenales,³ **c)** Muestran una relación hombre/mujer significativamente mayor y **d)** Los pacientes con menor frecuencia tienen historia familiar para cáncer

gástrico.⁷

Numerosas series han demostrado incremento en la incidencia de adenocarcinomas de cardias gástrico y tercio distal de esófago, en contraste con lo que ocurre con el resto del estómago.^{5, 8-11} También se han observado características demográficas de los carcinomas del cardias similares a las de adenocarcinomas originados en esófago de Barrett, que son diferentes de aquéllas de los adenocarcinomas gástricos de regiones más distales.⁶ Estos hechos indican que patológicamente el cardias gástrico no se comporta como parte del estómago, sino del esófago.

El escaso número de estudios enfocados a los cambios no neoplásicos del cardias, han mostrado que las gastritis atróficas ocurren con menor frecuencia asociadas a neoplasias de esta zona que en el resto del estómago.^{3,12} Un hecho que habla de una diferencia significativa en el comportamiento patológico de esta región es el incremento en la incidencia de neoplasias del cardias ante un decremento en el número de carcinomas gástricos de las regiones más distales.⁵ A pesar de que muchas de estas características son más parecidas a las de los carcinomas del esófago, los adenocarcinomas del cardias no comparten con estos últimos el antecedente de tabaquismo o consumo de alcohol.⁸ Esto sugiere que el cardias no debe ser considerado simplemente como parte del esófago distal.

La evolución histológica secuencial que ocasionalmente se identifica en cortes de parafina de células normales a displásicas y neoplásicas, ha permitido estudiar mediante técnicas de biología molecular las alteraciones que se suceden en oncogenes y genes supresores de tumores en la progresión a carcinomas, y relacionar la evolución de las mismas con los procesos inflamatorios y reactivos

que las preceden.^{8, 13} Un ejemplo de evolución metaplásica a displásica y neoplásica se ha identificado en la mucosa del esófago de Barrett con una variación que oscila de 10-15% dependiendo de la definición endoscópica de toma de biopsia.¹⁴ El esófago de Barrett, en el que el epitelio plano estratificado característico del esófago es substituido por epitelio columnar especializado, tiene una frecuencia alta en enfermos con manifestaciones clínicas de reflujo gastroesofágico (ERGE). En series de Estados Unidos de Norteamérica diez de cada 100 casos de ERGE tienen esófago de Barrett y de ellos, uno adenocarcinoma originado en la mucosa metaplásica.¹⁵

Un porcentaje alto de casos de gastritis crónicas se explican por la presencia de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) en la mucosa gástrica. Este microorganismo se encuentra en 65-75% de los pacientes con gastritis crónica antral activa y en 5% de pacientes con gastritis no activa.¹⁶ En el estómago distal se ha identificado la evolución de lesiones preneoplásicas (displasia) a neoplásicas en 8.7% de los casos en un plazo de tres años.¹⁷ La secuencia de hiperplasia, atrofia, metaplasia, displasia y carcinoma *in situ* se ha observado en un porcentaje alto de piezas quirúrgicas de pacientes con adenocarcinomas gástricos de tipo intestinal en fondo, cuerpo y antro gástrico.^{17, 18} Sin embargo, dicha secuencia no se ha identificado en cardias gástrico.

En bases morfológicas es difícil diferenciar cambios regenerativos, hiperplásicos y displásicos.^{17, 18} La detección de mucinas mediante histoquímica fue introducida para identificar cambios atróficos y metaplásicos en la mucosa gástrica. Las mucinas neutras se observan normalmente en células foveolares y glándulas antrales, las sialomucinas en intestino delgado e intestino grueso proximal y las

mucinas sulfatadas en intestino grueso distal y recto. Su localización anormal se hace evidente utilizando las tinciones de ácido peryódico de Schiff (PAS), hierro diamina y azul alciano.¹⁹

En la actualidad existen numerosas series que demuestran expresión variable de *bcl-2* y proteína p53 en lesiones precursoras de carcinomas en diversos órganos.²⁰⁻²² *bcl-2* es un proto-oncogén localizado en las mitocondrias y que bloquea apoptosis.²² Su expresión es mayor en tejido sometido a estrés inflamatorio como ocurre en hiperplasia, atrofia y metaplasia de la mucosa de cuerpo y antro gástricos. Sin embargo, por razones desconocidas no se expresa en mucosa gástrica con cambios displásicos o neoplásicos.^{20, 21} En contraste, la proteína p53, proto-oncogén con importantes funciones en la activación y detención del ciclo celular, tiene expresión alta en epitelios displásico y neoplásico y no en aquéllos con cambios reactivos.^{23, 24} Existen series que demuestran sobre-expresión de p53 en células displásicas de esófago de Barrett, con incremento de la expresión en displasia moderada (55%) y grave (adenocarcinomas *in situ* 87%) y han propuesto su detección como marcador de displasia aun en epitelios carentes de aspecto citológico displásico.²⁵ Ki-67 es un antígeno de proliferación celular expresado en la fase G₁, S, G₂ y M del ciclo celular, pero que no marca a células en fase G₀. Este marcador se ha estudiado en carcinomas de mama, vejiga y colon en los que se ha tratado de asociar su presencia con pronóstico. Existen informes que describen mayor expresión de Ki-67 en epitelio metaplásico de tubo digestivo anterior que se relaciona con la presencia de displasia en las células epiteliales.²⁶ Desconocemos si estos marcadores se expresan en las lesiones preneoplásicas del cardias gástrico.

JUSTIFICACION

La información respecto a los procesos reactivos/inflamatorios del cardias es en la actualidad muy escasa y no permite llegar a conclusiones respecto a su relación y similitud con las del esófago y las porciones más distales del estómago. Por la misma razón, aún no se han definido relaciones entre los procesos inflamatorios y reactivos del cardias con las neoplasias que en él se originan. Si los procesos inflamatorios que afectan al cardias gástrico son diferentes de aquéllos del resto del estómago, se proporcionará mayor base al concepto de que esta región se comporta de manera patobiológica diferente.

Las diferencias morfológicas deberán ser constatadas mediante la detección del tipo de mucina producido por las células epiteliales. La identificación de diferentes índices de proliferación celular, así como de diferente expresión de *bcl-2* y *p53* en las biopsias de cardias de pacientes con esófago de Barrett o con gastritis crónica asociada a metaplasia, permitirá sugerir el comportamiento de esta región del tubo digestivo anterior.

OBJETIVO GENERAL

1. Caracterizar los cambios preneoplásicos en cardias gástrico de pacientes con esófago de Barrett y de pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Comparar los cambios morfológicos de cardias gástrico en pacientes con esófago de Barrett y de pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.
2. Comparar la expresión de p53, *bcl-2* y Ki-67 en cardias gástrico de pacientes con esófago de Barrett y de pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.

HIPOTESIS NULA

1. La prevalencia de cambios preneoplásicos en cardias gástrico en individuos con esófago de Barrett será igual a la observada en pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.
2. La expresión de p53, *bcl-2* y Ki-67 en cardias gástrico será igual a la observada en la mucosa de esófago de Barrett.

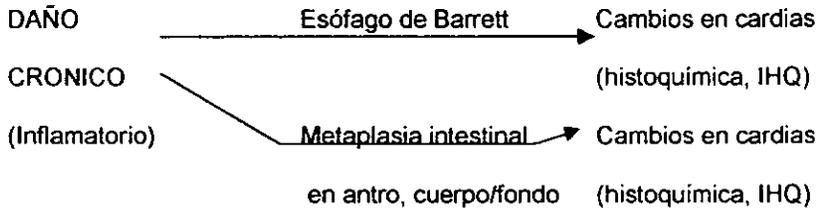
HIPOTESIS ALTERNATIVAS

1. La prevalencia de cambios preneoplásicos en cardias gástrico en individuos con esófago de Barrett será diferente de la observada en pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.
2. La expresión de p53, *bcl-2* y Ki-67 en cardias gástrico será diferente de la observada en la mucosa de esófago de Barrett.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio:

Prolectivo, transversal, comparativo y descriptivo.



Sitio:

El Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán es un hospital de tercer nivel de atención médica, cuenta con 159 camas y consulta externa de especialidades y subespecialidades de medicina interna y cirugía. El servicio de endoscopia recibe enfermos referidos por los servicios de gastroenterología y medicina interna por problemas médicos que ameriten exploración endoscópica. En el departamento de patología se reciben entre 6,000 y 6,500 biopsias quirúrgicas anualmente. Al mes se reciben en promedio 160 biopsias endoscópicas de tubo digestivo anterior. De ellas 30 corresponden a trastornos esofágicos y 130 a diversas alteraciones gástricas. Cada dos meses se diagnostican 10-15 casos nuevos de esófago de Barrett, 100 casos de gastritis asociadas a *H. pylori*, dos adenocarcinomas gástricos y un caso de adenocarcinoma de esófago .

Material

Población elegible:

1. Pacientes de origen mexicano mayores de 18 años enviados al departamento de endoscopia del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán por trastornos de tubo digestivo anterior, y que acepten participar en el estudio de biopsias.
2. Muestreo adecuado del tubo digestivo anterior.
3. Ausencia de enfermedades sistémicas que contraindiquen la endoscopia y/o la toma de biopsias (coagulopatías, várices esofágicas, sangrado masivo de tubo digestivo).

Criterios de inclusión:

Grupo 1: Individuos con diagnóstico morfológico de esófago de Barrett y que cuenten con muestreo extendido adecuado.

Grupo 2: Pacientes con diagnóstico morfológico de gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal y que cuenten con muestreo extendido adecuado.

Criterios de exclusión:

1. Individuos que hayan sido incluidos previamente
2. Individuos con diagnóstico morfológico de esófago de Barrett y de gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal.
3. Individuos con gastritis crónica atrófica con deficiencia de factor intrínseco.

Definiciones operacionales:

Inflamación: presencia de polimorfonucleares, eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas e histiocitos en lámina propia de tubo digestivo anterior en mayor cantidad que en la mucosa normal.

Hiperplasia: es un proceso de reparación en el que las células proliferantes son normales. Los casos de hiperplasia grave se caracterizan por glándulas revestidas por células epiteliales inmaduras y sobrepuestas con núcleos de localización basal con hiper cromasia, basofilia citoplasmática y volumen citoplasmático reducido, que maduran conforme migran a las zonas superficiales.

Atrofia: se diagnostica cuando las foveolas gástricas ocupan menos de 50% de la mucosa del cardias, menos de 15% de la mucosa del cuerpo y fondo gástrico, y menos de 50% del espesor de la mucosa antral.

Metaplasia: es el cambio de un epitelio maduro por otro con maduración normal. Para fines del estudio la presencia de células columnares no absortivas, células caliciformes y/o células de Paneth en estómago y/o esófago.

- Completa: presencia de células de Paneth en mucosa semejante a intestino delgado.
- Incompleta: ausencia de células de Paneth en mucosa semejante a intestino grueso.

Displasia: alteración de la maduración del epitelio con cambios citológicos y estructurales en la mucosa del tubo digestivo anterior, en ausencia de inflamación moderada a grave. El epitelio gástrico displásico posee las siguientes

características: a) proliferación celular aumentada, b) morfología anormal y pleomorfismo celular, c) desarreglo estructural de las glándulas y d) cambios estromales.

Unión esófago gástrica: zona en la que el esófago tubular se convierte en estómago sacular, en un punto proximal 1 cm a donde los pliegues rugosos desaparecen.

Muestreo adecuado: cuando exista material histológico de esófago, unión esófago cardias, fundus, cuerpo y antro gástricos.

Esófago de Barrett: metaplasia del epitelio plano estratificado no queratinizado del esófago por epitelio columnar especializado con células caliciformes 3 cm por arriba de la unión esófago-gástrica.

Gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal: inflamación crónica de la lámina propia del estómago con cambio del epitelio secretor normal por epitelio productor de moco con células caliciformes.

Para los propósitos del estudio, las biopsias se obtendrán de los siguientes sitios:

a) Esófago: de los cuatro cuadrantes en sitios 3 cm proximal a la unión EG. En caso de lesión identificable por endoscopia a menos de 3 cm se tomarán biopsias y se medirá la distancia a que se encuentra.

b) Unión esófago cardias: de los cuatro cuadrantes en la zona en que el esófago tubular se convierte en estómago sacular o, en presencia de hernia hiatal 1cm por arriba del sitio donde terminan los pliegues gástricos.

c) Fundus: de sitios a lo largo de la curvatura mayor en la porción superior del estómago proximal.

d) Cuerpo: de sitios a lo largo de la curvatura mayor 5 cm proximal a la desaparición de los pliegues rugosos en la interfase cuerpo/antra (porción horizontal).

e) Antra: de sitios a lo largo de la curvatura menor de la región antral, en la porción media entre la cisura angularis y el canal pilórico.

Metodología:

Hoja de autorización y consentimiento: cada paciente invitado a participar firmará una hoja de aceptación avalada por dos testigos y la firma del médico responsable del proyecto. Ver anexo I en el apéndice.

Cuestionario: todos los pacientes llenarán un cuestionario que además de identificarlos, evalúe los síntomas, duración y gravedad de la enfermedad. Ver anexo II en apéndice.

Esofago gastro duodenoscopia (EGD): los pacientes acudirán a la sala de endoscopia por la mañana después de ayuno absoluto desde las 10:00 P. M. de la noche anterior. Serán colocados en decúbito lateral izquierdo y llevados a un nivel adecuado de sedación con Midazolam intravenoso. La orofaringe se anestesiara con lidocaina tópica al 10% en atomizador y se introducirá un endoscopio por vía transoral avanzándolo al esófago y estómago. La mucosa esofágica y gástrica se evaluará en busca de esofagitis, gastritis, úlceras, esófago de Barrett y hernia

hiatal. La evaluación endoscópica será fotografiada. Después de que se realicen las biopsias, el endoscopio será retirado del paciente y éste permanecerá en observación en el área de endoscopia durante 60 minutos.

Los criterios endoscópicos para esofagitis serán gradificados usando el sistema de clasificación para esofagitis erosiva (Savary-Miller). Ver anexo III en apéndice.

Obtención de tejidos: Se obtendrán biopsias de la parte distal del esófago, cardias, fondo, cuerpo y antro gástricos. Debido a que el esófago normal puede mostrar cambios asociados con reflujo tres centímetros por arriba del esfínter esofágico inferior (EEI) y a la presencia de proyecciones digitiformes de la mucosa glandular uno a tres centímetros hacia el esófago en individuos normales, las biopsias esofágicas se tomarán a más de tres centímetros del EEI. Esta distancia adicional se permitirá por la variación que existe en la región del EEI y la determinación endoscópica del mismo.

Las biopsias del cardias se obtendrán de sitios distales a menos de un centímetro de la línea "Z" y a 0.5 cm distal a la línea "Z" cuando ésta se encuentre en el EEI. En los casos en que la línea "Z" no correlacione con el sitio determinado como EEI endoscópicamente, (como ocurre en casos de esófago de Barrett), las biopsias se obtendrán del sitio donde el esófago "tubular" (EEI) cambia a estómago "sacular" (unión esófago gástrica). Cuando exista hernia hiatal se tomará proximal a donde terminan los pliegues gástricos. En caso de que cualquiera de estas biopsias no muestre mucosa de tipo cardias, el paciente se excluirá del estudio. Las biopsias de fondo se obtendrán de la curvatura mayor en la porción superior del estómago proximal. Las biopsias del cuerpo gástrico se obtendrán de sitios distales 5 cm

de la región definida como EEI o de cualquier lesión de la mucosa. Esta distancia es suficiente para evitar re-muestrear el cardias y para no biopsiar únicamente el antro. Finalmente, las biopsias antrales se obtendrán de sitios ubicados en los primeros tres centímetros del canal pilórico.

Manejo de las biopsias: Todas las biopsias se fijarán en formol amortiguado al 10% y se procesarán de la manera convencional. Se obtendrán tres niveles de cada bloque de parafina. Las laminillas se teñirán con hematoxilina y eosina, PAS-azul alciano y hierro coloidal.

Se realizarán inmunoperoxidasas en tejido desparafinado para oncoproteína p53, *bcl-2* y Ki-67 mediante el método de avidina-biotina-peroxidasa con rescate antigénico mediante micro-ondas.²⁷ Se utilizarán cortes de amígdalas como control positivo para la reacción de *bcl-2* y Ki-67, y de adenocarcinomas de colon para proteína p53. En todos los casos se tendrán controles negativos al omitir el paso que agrega el anticuerpo específico al procedimiento rutinario de marcaje.

Evaluación:

- a) Personal. Las biopsias serán revisadas por dos patólogos por separado y cuando existan discordancias se acudirá a un tercer observador constante. Se les proporcionarán lotes de un máximo de diez laminillas por día.
- b) Ceguedad. Las laminillas se identificarán con números aleatorios que impida conocer las características clínicas, endoscópicas y localización de las biopsias.
- c) Morfología. (Se utilizará el sistema de Sydney actualizado,²⁸ Ver anexo IV)

La evaluación morfológica se hará teniendo como referencia los siguientes criterios de lesión:

1. Inflamación. Presencia de polimorfonucleares, eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas e histiocitos en lámina propia de tubo digestivo anterior en mayor cantidad que en la mucosa normal. Se anotará el tipo de respuesta inflamatoria, la constitución celular y el sitio de afección en mucosa o submucosa. Cualquier lesión del epitelio superficial, foveolar o glandular, así como la agregación de células inflamatorias alrededor de cualquier estructura mucosa será evaluada.
2. Hiperplasia. Es un proceso de reparación en el que las células proliferantes son normales. Los casos de hiperplasia grave se caracterizan por glándulas revestidas por células epiteliales inmaduras y sobrepuestas con núcleos de localización basal con hiper cromasia, basofilia citoplasmática y volumen citoplasmático reducido, que maduran conforme migran a las zonas superficiales. Este cambio no será gradificado; sin embargo, se considerará su localización (epitelio superficial, foveolar y/o glandular) y la extensión del mismo se caracterizará subjetivamente como leve, moderado o grave.
3. Atrofia. Se diagnostica cuando las foveolas gástricas ocupan menos de 50% de la mucosa del cardias, menos de 15% de la mucosa del cuerpo y fondo gástrico, y menos de 50% del espesor de la mucosa antral. Debido a que la medición del grosor absoluto de la mucosa depende por completo de la orientación perpendicular del corte, la presencia de

atrofia se establecerá subjetivamente en una forma similar a lo descrito anteriormente (usando los términos normal, mínima, moderada o grave). Las guías para dicha gradificación son las publicadas por Lewin y cols.²⁹

4. Metaplasia. Es el cambio de un epitelio maduro por otro con maduración normal. Para fines del estudio la presencia de células columnares no absorptivas, células caliciformes y/o células de Paneth en estómago y/o esófago. En cardias se considerará metaplasia cuando exista revestimiento columnar productor de mucinas ácidas o células caliciformes en el epitelio glandular y superficial.³⁰ La metaplasia se describirá de acuerdo al tipo y la extensión gradificada como mínima, moderada o extensa. Se considerará la distribución de la metaplasia y en caso de metaplasia intestinal se determinará el tipo de mucina (sialomucina o sulfomucina) utilizando azul alciano a pH 2.5 y tinciones de hierro coloidal. La metaplasia se definirá como completa o incompleta de acuerdo a su semejanza con el epitelio del intestino delgado o grueso respectivamente.^{13, 19}

Existe en cardias y unión esófago cardias una forma peculiar de metaplasia que es pancreática (acinar). Se identifica en la lámina propia la presencia de células polarizadas con citoplasma basófilo parabasal y acidófilo supranuclear formando estructuras tubulares.

5. Displasia. Alteración de la maduración del epitelio con cambios citológicos y estructurales en la mucosa del tubo digestivo anterior, en ausencia de inflamación moderada o grave. El epitelio gástrico displásico posee las siguientes características: a) proliferación celular

aumentada, b) morfología anormal y pleomorfismo celular, c) desarreglo estructural de las glándulas y d) cambios estromales. Las características citológicas de displasia epitelial (hipercromasia nuclear con la cromatina en grumos gruesos, relación núcleo/citoplasma alta, extensión de los núcleos a la mitad luminal de las células epiteliales e incremento en el tamaño nuclear), serán evaluadas y gradificadas como de alto o bajo grado. La displasia estructural se informará por separado.

d) Evaluación de la mucosa gástrica. A cada lesión identificada se le asignará un valor numérico arbitrario:

Cambio preneoplásico	Valor
HIPERPLASIA	0
	1
ATROFIA	0
	2
METAPLASIA	0
Pancreática	4
Intestinal completa	5
Intestinal incompleta	6
DISPLASIA	0
Leve	15
Moderada	30
Grave	45

Cada paciente en cada uno de los grupos tendrá un valor numérico dependiendo de los cambios morfológicos que acumule en la evaluación ciega de dos observadores. La lesión que establece una clara división desde el punto de vista biológico es la presencia de displasia. Por ello, a displasia se le otorgó un valor que supera a la suma de las categorías previas.

e) Evaluación de la mucosa esofágica. A cada lesión ubicada en el esófago se le dará una evaluación numérica arbitraria de acuerdo al siguiente esquema:

Normal	0
Cambios epiteliales reactivos (inflamación y/o hiperplasia de basales o papilas en tercio superior)	1
Esofagitis ulcerada	2
Cambios de ERGE (hiperplasia de basales, extensión de papilas al tercio superior, linfocitos intraepiteliales, eosinófilos)	4
Barrett sin displasia	8
Barrett indefinido para displasia	14
Barrett con displasia de bajo grado	20
Barrett con displasia de alto grado	30
Carcinoma intramucoso	45

f) Expresión de oncogenes. La expresión de oncogenes en las células epiteliales se evidenciará mediante inmunohistoquímica. La reactividad citoplasmática y

nuclear será evaluada por los tres observadores en forma separada. Se considerará marcaje positivo cuando más de 5% de las células epiteliales exhiban marca café ocre en el citoplasma (*bcl-2*) y/o núcleo (*bcl-2* y *p53*) con la misma intensidad que los controles positivos. Todas las biopsias de cardias serán sometidas a estudio inmunohistoquímico y de la mucosa metaplásica en Barrett y estómago distal cuando existan alteraciones morfológicas que sugieran displasia.

g) Proliferación celular. El marcador de proliferación celular (Ki-67) se evaluará mediante inmunohistoquímica. La reactividad nuclear será evaluada por tres observadores por separado y se considerará positiva la presencia de marcaje café ocre en los núcleos de más de 5% de las células epiteliales.

Reproducibilidad

1. Concordancia intra-observador: la evaluación de la reproducibilidad intra observador se realizará con diez laminillas marcadas con números aleatorios. Una semana después serán re-evaluadas por el mismo observador con una clave diferente.
- 2 La reproducibilidad inter-observador se realizará con las mismas laminillas entre tres observadores.
- 3 Sistema Sydney actualizado: se emplea para la clasificación de las gastritis y enfatiza la importancia de combinar criterios topográficos, morfológicos y etiológicos en esquemas que permitan generar diagnósticos reproducibles y clínicamente útiles.

Se proporcionará a cada evaluador una copia a color del sistema Sydney actualizado con lotes de 10 laminillas por día, siguiendo el esquema propuesto.

Tamaño de la muestra

Se utilizará la fórmula de comparación de proporciones

$$n = \frac{2 PQ (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{\Delta^2}$$

$$\text{donde } P = \frac{P_1 + P_2}{2}$$

Se calculará en base a las prevalencias esperadas en cada grupo (metaplasia en unión cardioesofágica en pacientes con Barrett 18%, metaplasia en unión cardioesofágica en pacientes con metaplasia intestinal en antro/cuerpo 1%), tomando en cuenta $\alpha .05$ y $\beta .20$ ($Z_{\alpha} 1.96$, $Z_{\beta} .84$).

Al realizar la operación se obtiene una n por grupo de 46 pacientes. Este valor será suficiente para identificar diferencias entre los grupos.

ANALISIS

1. Los análisis de concordancia intra e interobservador se realizarán utilizando la prueba Kappa y utilizando coeficientes de correlación intraclass.
2. Se utilizarán pruebas no paramétricas para las variables categóricas y X^2 y U de Mann Withney para variables ordinales con comparación de promedios.
3. Se realizará un puntaje de gravedad de las lesiones morfológicas otorgando valores numéricos a cada uno de los apartados evaluados morfológicamente. Este valor será sumado en cada paciente y con él se tendrá oportunidad de realizar un análisis de asociación no paramétrico o paramétrico dependiendo de la distribución de los resultados.
4. Se realizará regresión logística para identificar el riesgo de asociación de lesiones en cardias (variable blanco) entre grupos.

ASPECTOS ETICOS

Los pacientes que se invitarán a participar en el protocolo firmarán una carta de consentimiento informado, para que en el mismo acto endoscópico se les tomen biopsias de esófago, unión esófago-gástrica, cardias, fundus, cuerpo y antro gástricos para los fines del proyecto y se les interrogue respecto a datos clínicos de trastornos de intestino anterior.

FINANCIAMIENTO

Recursos humanos: Los Departamentos de Gastroenterología y Endoscopia del Instituto Nacional de la Nutrición cuentan con personal médico y paramédico con amplia experiencia en la realización de procedimientos endoscópicos.

En el Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de la Nutrición se reciben en promedio diez biopsias diarias del tubo digestivo anterior y los patólogos encargados de diagnosticar este material tienen amplio conocimiento de las enfermedades que en esta región se presentan. El equipo técnico es excelente en la realización de procedimientos de histoquímica e inmunohistoquímica.

En la Facultad de Química de la UNAM se cuenta con personal médico y con químicos con experiencia en la realización de técnicas de inmunohistoquímica.

Recursos materiales: debido a que los pacientes invitados a participar de todas formas serían sometidos a endoscopia por indicaciones del personal médico del Instituto Nacional de la Nutrición, se utilizará el equipo disponible en el Departamento de Endoscopia.

El procesamiento de las biopsias se realizará utilizando el equipo disponible en el Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de la Nutrición.

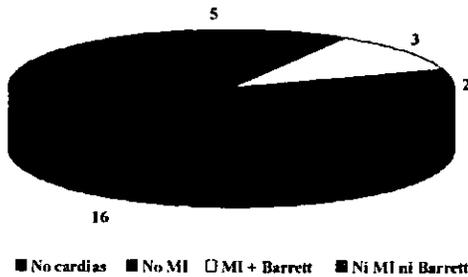
El análisis inmunohistoquímico de la expresión de oncogenes en el tejido de cardias gástrico se realizará en la Facultad de Química de la UNAM y la inversión por el uso de consumibles correrá en parte por cuenta del mismo laboratorio.

Apoyo financiero: el presente proyecto de investigación no tiene respaldo económico institucional.

RESULTADOS

Se obtuvo hoja de consentimiento informado en 120 pacientes que acudieron al servicio de endoscopia por trastornos de tubo digestivo anterior y que por indicación de médicos del INNSZ requirieron biopsias para evaluación de su padecimiento. Se incluyeron 47 pacientes por grupo y se excluyó a 26 pacientes por no cumplir con los criterios de inclusión. Ver figura 1.

**Casos Excluidos
(n=26)**



No cardias:	No se identificó mucosa de cardias en la evaluación morfológica
No MI:	No se identificó metaplasia intestinal en estómago distal.
MI + Barrett:	Se identificó metaplasia intestinal en estómago distal y esófago de Barrett en las biopsias del mismo paciente.
Ni MI ni Barrett:	El paciente no presentaba las lesiones motivo de inclusión.

Las características demográficas de los pacientes incluidos en cada uno de los grupos se ilustra en la tabla 1.

TABLA 1		Grupo I Barrett (n=47)	Grupo II Gastritis+metaplasia (n=47)	p
Género	Femenino	20	28	0.09
	Masculino	27	19	
Edad	Mediana+DE	56.6 (16.82)	56.9 (15.08)	0.90
Alcoholismo		14	16	0.65
Tabaquismo		25	21	0.41
Hernia hiatal		38	22	0.0006

No se identificaron diferencias en relación a género, edad, antecedentes de alcoholismo y/o tabaquismo. La presencia de hernia hiatal fue mayor en el grupo de esófago de Barrett que en el de gastritis crónica con metaplasia intestinal en estómago distal ($p=0.0006$).

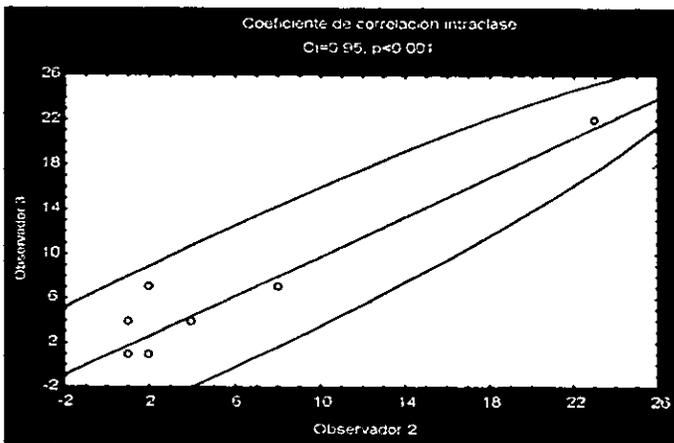
Los datos clínicos obtenidos en ambos grupos se aprecian en la tabla 2.

Tabla 2	Grupo I Barrett (n=47)	Grupo II Gastritis+Metaplasia (n=47)	p
Regurgitación	32	21	0.02
Disfagia	11	4	0.08
Odinofagia	7	1	0.06
Pirosis	22	26	0.41
Halitosis	3	6	0.48
Dolor abdominal	9	33	0.000
Hambre dolorosa	5	21	0.0005
Diarrea	2	3	1.0
Saciedad temprana	6	14	0.07
Náusea	2	9	0.054

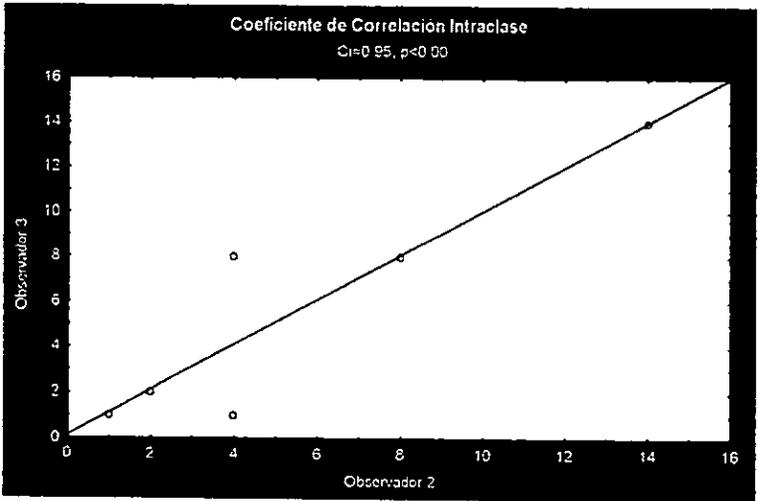
X² corregida Yates.

De los datos clínicos que evaluaron la suficiencia del esfínter esofágico inferior, el único que demostró diferencia significativa entre grupos fue regurgitación que se asoció con mayor frecuencia a la presencia de esófago de Barrett ($p= 0.02$). Entre los síntomas clínicos de lesión inflamatoria de estómago distal solamente hambre dolorosa ($p=0.000$) y dolor abdominal ($p= 0.0005$) mostraron diferencia estocástica entre los grupos.

Antes de llevar a cabo cualquier tipo de evaluación morfológica de las lesiones identificadas en las biopsias, se realizó un estudio de reproducibilidad intra e inter observador para diagnosticar el sitio de toma de biopsia ($K=1$ y $K=0.84$ respectivamente). Posteriormente se analizó la concordancia interobservador de tres patólogos para la identificación y gradificación de las lesiones en la mucosa gástrica. Se obtuvieron los siguientes coeficientes: Observador 1 vs Observador 2 = 0.34 ($p=0.32$), observador 1 vs observador 3 = 0.25 ($p=0.48$) y observador 2 vs observador 3 = 0.95 ($p=0.001$). Al graficar el comportamiento de los observadores 2 y 3 se puede apreciar una línea de correlación casi perfecta. Ver gráfica 1.



En la misma forma se evaluó la presencia de lesiones en esófago de acuerdo al puntaje propuesto. Las lesiones fueron gradificadas y los coeficientes obtenidos fueron: observador 1 vs observador 2 = 0.32 ($p=0.40$), observador 1 vs observador 3 = 0.24 ($p=0.39$) y observador 2 vs observador 3 = 0.95 ($p=0.000$). Al graficar el comportamiento de los evaluadores 2 y 3 se obtiene (Ver gráfica 2).



Debido a la pobre concordancia del observador 1, se decidió excluirlo de la evaluación subsecuente de los casos.

Análisis morfológico e histoquímico:

Se llevó a cabo la evaluación de las biopsias en forma cegada y las lesiones observadas en las biopsias de cardias en ambos grupos se observa en la tabla 3.

Tabla 3. Lesión en cardias	Grupo I Barrett (n=47)	Grupo II Gastritis + metaplasia (n=47)	p
Atrofia	4	12	0.05
Metaplasia intestinal completa	6	4	0.73
Metaplasia intestinal incompleta	17	6	0.01
Helicobacter pylori	7	10	0.5
Inflamación aguda	16	12	0.4
Inflamación crónica	46	46	0.5

X2 corregida Yates

Se identificó mayor frecuencia de atrofia en la mucosa de cardias en los pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal en estómago distal ($p=0.05$) y metaplasia intestinal incompleta en cardias en el grupo de esófago de Barrett ($p=0.01$). Con los puntajes numéricos obtenidos se pudo realizar un análisis de correlación de gravedad de lesiones entre grupos utilizando métodos paramétricos y no paramétricos:

Como se puede apreciar en la tabla 4 no se identificaron diferencias de los puntajes entre grupos.

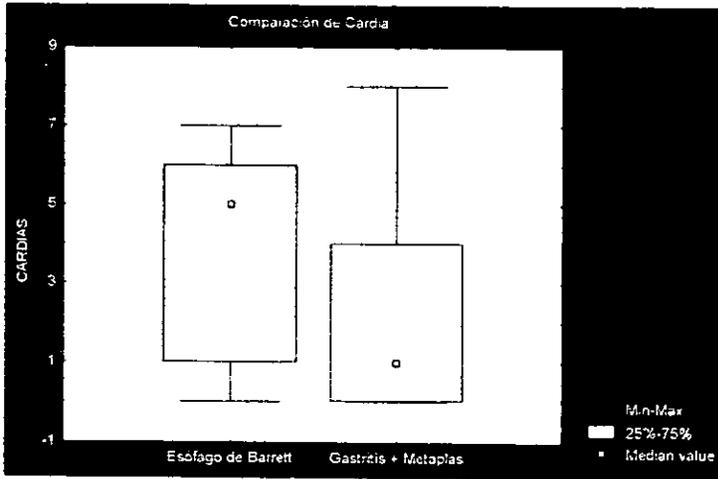
Los puntajes obtenidos en el cardias gástrico muestran pobre correlación con los obtenidos en la mucosa de Barrett y con los observados en antro gástrico en el grupo de pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal en estómago distal

Tabla 4.

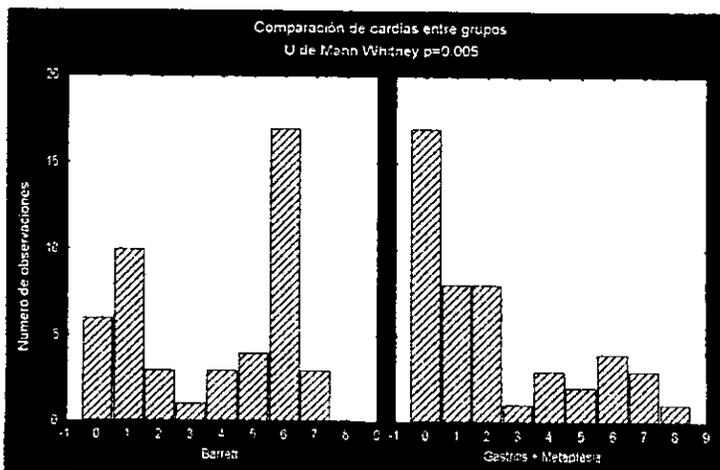
	Esófago Vs Cardias	Antro Vs Cardias
	$r=0.23$	$r=0.169$
r-Pearson	$r^2=0.05$	$r^2=0.02$
	$p=0.11$	$p=0.25$
rho Spearman	$R=0.24$	$R=-0.015$
	$p=0.10$	$p=0.915$

Sin embargo, cuando los puntajes de lesiones identificados en el cardias gástrico fueron graficados para ambos grupos utilizando gráficos de caja, se pudo apreciar (gráfica) que la mediana en cardias para el grupo de Barrett fue de 5 y en el de metaplasia en estómago distal de 1.

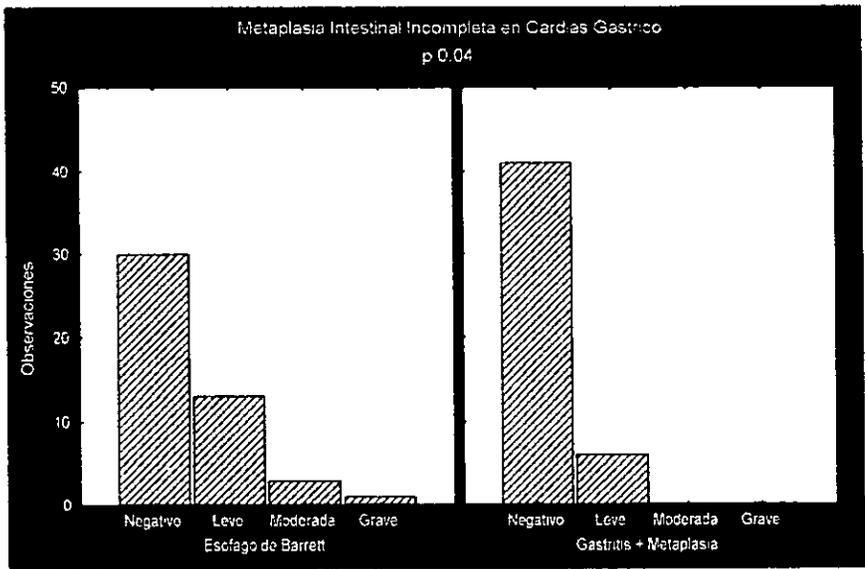
Gráfica 3.



Al someter esta comparación a prueba de significancia estocástica se obtuvo diferencia significativa ($p=0.005$). Ver gráfica 4.



La presencia de metaplasia intestinal incompleta en el cardias gástrico había mostrado diferencias entre los grupos. Al desglosar y gradificar la presencia de metaplasia intestinal en leve, moderada y grave se observó diferencia estocástica entre grupos. Ver gráfica 5.



Para identificar el riesgo de asociación de lesiones en cardias (variable blanco) entre los grupos mediante regresión logística se obtuvo una razón de momios de 3.5. Es decir, que el riesgo de tener algún tipo de lesión preneoplásica en el cardias es 3.5 veces mayor en presencia de esófago de Barrett que en presencia de gastritis crónica con metaplasia intestinal.

Análisis inmunohistoquímico:

Las biopsias de cardias de ambos grupos fueron sometidas a estudio inmunohistoquímico para detectar la presencia de expresión de Ki-67, *bcl-2* y p53. En ninguna se apreció expresión de *bcl-2* ni de p53. En 40/94 biopsias de cardias se identificó expresión focal para Ki-67 en el cuello de las glándulas, pero ningún caso mostró expresión en >5% de las células epiteliales.

Las biopsias de 10 pacientes del grupo de esófago de Barrett fueron sometidas a estudio inmunohistoquímico completo porque presentaban cambios morfológicos de indefinido para displasia y displasias de bajo y alto grado. Ver tabla.

Estudio inmunohistoquímico en mucosa de Barrett (10 casos)

Lesión	n	Ki-67	bcl-2	p53
Indefinido para displasia	6	+	-	+
Displasia de bajo grado	3	++	-	+
Displasia de alto grado (adenocarcinoma in situ)	1	+++	-	+++

No se identificaron cambios morfológicos diagnósticos de displasia en ninguna de las biopsias de estómago distal y no fue requerido su análisis inmunohistoquímico.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en la presente serie demuestran que la mucosa del cardias se comporta semejante a la del esófago de Barrett en relación a la presencia de cambios preneoplásicos y, que los cambios no remedan a los identificados en la mucosa del estómago distal ante eventos inflamatorios crónicos y metaplasia gástrica secundaria a infección crónica por *H. pylori*. Este hallazgo es de interés porque en la actualidad se debate considerablemente respecto al comportamiento del cardias ante dos de las patologías más prevalentes de esta región del tubo digestivo. Algunos grupos proponen que el antecedente de enfermedad por reflujo gastroesofágico es el indicador principal de lesión en cardias, pero sin tener un grupo comparativo que indique la situación de la mucosa del estómago distal.³¹ Al contrario, otros proponen que la presencia de cambios preneoplásicos en particular metaplasia intestinal en cardias obedece a infección multifocal crónica por *Helicobacter pylori*, pero por el diseño utilizado no tienen posibilidad de observar los cambios en el tercio distal del esófago.³²⁻³⁶ La selección de dos grupos con patologías crónicas (esófago de Barrett y metaplasia intestinal gástrica) permitió estudiar al cardias ante dos estímulos lesivos de largo tiempo de instalación (reflujo gastroesofágico e infección por *Helicobacter pylori*). El riesgo de asociación de lesión preneoplásica en cardias fue 3.5 veces mayor en pacientes con esófago de Barrett que en aquellos con gastritis crónica y metaplasia en estómago distal.

Ambos grupos fueron comparables por género, edad, alcoholismo y tabaquismo. Es bien conocido que la frecuencia de metaplasia gástrica en antro y cuerpo

gástrico aumenta con el paso de los años y es probable que dicho cambio se presente en la mucosa del cardias por la misma razón.³⁶ La posibilidad de sesgo en la detección de metaplasia en cardias por efecto de la edad fue eliminado en el presente estudio ($p=0.90$).

La presencia de hernia hiatal fue más frecuente en los pacientes con esófago de Barrett ($p=0.0006$), situación acorde con lo informado respecto a la fisiopatogenia de esa entidad.³⁷ Clínicamente se pudo apreciar mayor frecuencia de regurgitación entre los pacientes con Barrett ($p=0.02$), y de dolor abdominal y hambre dolorosa ($p=0.000$ y $p=0.0005$) en aquéllos con gastritis y metaplasia intestinal.

Se identificó inflamación crónica en prácticamente todas las biopsias de cardias (92/94), la presencia de atrofia en la mucosa del cardias fue más frecuente en el grupo de pacientes con gastritis asociada con metaplasia que en el de Barrett ($p=0.05$). Sin embargo, la metaplasia en cardias fue observada principalmente en el grupo de pacientes con esófago de Barrett ($p=0.01$). Los modelos de carcinogénesis gástrica han demostrado que la mucosa muestra cambios secuenciales de atrofia a adenocarcinoma, pasando por metaplasia y displasia. En la mucosa de antro y cuerpo gástrico el *H. pylori* se ha considerado el factor desencadenante y promotor de los cambios preneoplásicos. En la presente serie no se identificó asociación significativa de infección de la mucosa del estómago distal por *H. pylori* asociado con metaplasia intestinal y presencia de cambios preneoplásicos en cardias gástrico ($R=-0.015$; $p=0.915$). Solamente se identificó asociación significativa con atrofia de la mucosa del cardias. Este cambio morfológico es poco reproducible en biopsias endoscópicas superficiales no orientadas que carecen de muscular de la mucosa.

El origen de la mucosa del cardias es controversial. Se ha propuesto que su existencia se debe a fenómenos metaplásicos secundarios a reflujo gastroesofágico.³¹ Sin embargo, estudios en fetos, neonatos y adolescentes han demostrado en >50% de autopsias la existencia de mucosa tipo cardias gástrico desde la semana 21 de gestación, concluyendo que se trata de una zona de transición normal entre estómago y esófago.³⁸ Es difícil precisar los límites del cardias y casi cada autor ha propuesto distancias arbitrarias por arriba y abajo de la unión gastroesofágica; esto ha llevado a que algunos recomienden prescindir del término cardias y, en su lugar, describan el sitio de toma de biopsia a tantos centímetros de la unión gastroesofágica.³⁹ En el presente trabajo se decidió incluir al paciente cuando se identificó mucosa de cardias por dos observadores cegados y cuando esta impresión concordaba con la del sitio de toma de la biopsia por el endoscopista. Esta precaución fue de gran valor en aquellos pacientes con hernia hiatal o en el grupo de Barrett >3cm en los que el paso de esófago tubular a estómago sacular no coincide con la unión esófago-gástrica. En estos casos las biopsias del cardias fueron tomadas en el margen proximal de los pliegues gástricos. Sin embargo, 16 pacientes fueron excluidos por no identificar mucosa de cardias a pesar de las precauciones ya descritas. La mucosa identificada fue semejante a la del fondo gástrico en los tres fragmentos analizados en cada caso. Desconocemos si estos pacientes corresponden al grupo que carece de cardias gástrico por existir transición abrupta de mucosa esofágica a oxíntica o en realidad se trata de biopsias de otra región del estómago distal.

A la fecha existen seis series de cuatro países diferentes que demuestran incremento de la incidencia de adenocarcinomas de la unión esófago cardias,

ante un decremento de adenocarcinomas de regiones más distales de la mucosa gástrica.⁴⁰⁻⁴⁶ Sin embargo, cuando se analiza el sitio preciso de origen de las lesiones neoplásicas en las piezas, con frecuencia no se puede asegurar si se originaron en mucosa de Barrett de cualquier tipo o en la mucosa del cardias. La situación anterior se debe a que regularmente las lesiones son grandes y afectan ambas regiones.^{11, 46-48} Algunos estudios con base poblacional han informado que el reflujo gastroesofágico sintomático es un factor de riesgo para adenocarcinoma de esófago, pero no para el desarrollo de esófago de Barrett⁴⁹. La posibilidad de que la neoplasia haya substituido a la mucosa metaplásica del Barrett no puede descartarse en la mayoría de estudios.⁴⁹ Es por ello indispensable estudiar los eventos tempranos de progresión neoplásica de la mucosa del tercio distal del esófago y cardias. Los estudios informados han tratado de establecer la progresión de la metaplasia en base a la reactividad para mucinas ácidas y sulfomucinas. En el presente trabajo, las tinciones de PAS/Azul alciano y hierro coloidal permitieron identificar la presencia de mucinas ácidas y sulfomucinas en células superficiales y glandulares en 33/94 biopsias de cardias, de este grupo la mayoría correspondieron a metaplasia intestinal incompleta con células caliciformes (23/33) y el cambio metaplasico en cardias se asoció principalmente a la presencia de esófago de Barrett ($p=0.01$). Al gradificar el cambio metaplásico de acuerdo a su extensión en el epitelio superficial y glandular del cardias se apreció que en el grupo de gastritis+metaplasia se presentó solamente metaplasia leve en 10/47 biopsias de cardias. En contraste, en el grupo de Barrett se identificó metaplasia leve, moderada y grave en el cardias en 23/47 biopsias de cardias ($p=0.04$). Los resultados demuestran que en presencia de esófago de Barrett

>3cm, el cardias muestra mayor extensión de la metaplasia intestinal que en presencia de lesiones metaplásicas en estómago distal.

En 4/47 casos se identificaron cambios displásicos en la mucosa de Barrett (bajo grado 3, alto grado 1) y en todos se apreció expresión de Ki-67 y p53. No se identificó expresión de bcl-2 en las células epiteliales. En cultivos celulares se ha descrito que las células metaplásicas del Barrett exhiben ganancia de material genético y alteraciones en el brazo corto del cromosoma 17.⁵⁰ Estudios de seguimiento de pacientes con Barrett demuestran expresión de p53 en aquellos pacientes con cambios morfológicos de displasia.²⁵ Ante la baja reproducibilidad del diagnóstico morfológico de displasia, algunos autores proponen utilizar la expresión de proteína p53 como un dato adicional para favorecer el diagnóstico de displasia.⁵¹ Creemos que la ausencia de expresión de proteína p53 en el cardias de los pacientes analizados se debe a que ninguno mostraba cambios de displasia. Este diagnóstico morfológico ha coincidido con el de incremento en la expresión de p53 en una gran cantidad de epitelios.^{51,52} Es necesario reunir series con un espectro mayor de lesiones en cardias que permitan precisar los cambios en la expresión de marcadores de proliferación celular y de oncogenes.

En resumen, el presente trabajo muestra que los cambios preneoplásicos más graves de la mucosa del cardias gástrico se identifican con mayor frecuencia en pacientes con esófago de Barrett >3cm que en pacientes con gastritis crónica asociada con metaplasia intestinal y *H. pylori*. No se identificó expresión mayor de Ki-67 ni de p53 en el cardias en ninguno de los grupos. bcl-2 no es un marcador inmunohistoquímico útil para identificar epitelios con lesiones preneoplásicas tempranas.

BIBLIOGRAFIA

1. Owen DA. Stomach. In: Sternberg SS, editor. Histology for pathologists. New York: Raven Press, 1992: 533-45.
2. Fenoglio-Preiser CM, Lantz PE, Listrom MB, Davis M, Rilke FO, editors. Gastrointestinal pathology. An atlas and text. New York:Raven Press, 1989:111-132.
3. Wang HH, Antonioli DA, Goldman H. Comparative features of esophageal and gastric adenocarcinomas: Recent changes in type and frequency. Human Pathol 1986, 17:482-7.
4. Antonioli DA, Madara JL. Functional anatomy of the gastrointestinal tract. In: Ming Sch, Goldman H, editors. Pathology of the gastrointestinal tract. Philadelphia: Saunders, 1992:14-34.
5. Antonioli D. Precursors of gastric carcinoma: A critical review with a brief description of early (curable) gastric cancer. Hum Pathol 1994, 25:994-1005.
6. Dayne NE, Muñoz N: Esophagus, In: Schottenfeld D, Fraumeni J, editors: Cancer epidemiology and prevention. Philadelphia,PA: Saunders 1982:596-623.
7. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: An updated review. Gastroenterology 1990, 104:1535-49.
8. Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, Hui YZ, Miller MA, Fenoglio-Preiser CM. The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: Oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors. Human Pathol 1994, 25:968-81.

9. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *JAMA* 1991, 265:1287-9.
10. Haggitt RC. Adenocarcinoma in Barrett's esophagus: A new epidemic? *Hum Pathol* 1992, 23:475-6.
11. Pera M, Cameron AJ, Trastek VF, Carpenter HA, Zinsmeister AR. Increasing incidence of adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. *Gastroenterology* 1993, 104:510-13.
12. Toftgaard C. Gastric cancer after peptic ulcer surgery: A historic prospective cohort investigation. *Ann Surg* 1989, 210:159-64.
13. Red BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus. *Hum Pathol* 1988, 19:166-178.
14. Antonioli A. Prospective study of Barrett's esophagus. *Lancet* 1994; 94:90-92.
15. Reid BJ: Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterology Clin North Am* 1991; 20:817-834.
16. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *New Engl J Med* 1989; 321:1562-1566.
17. Ming S-C, Bajtai A, Correa P, Elster K, Jarvi OH, Munoz N, Nagayo T, Stemmerman GN. Gastric dysplasia. Significance and pathologic criteria. *Cancer* 1984; 54:1794-1801.

18. Morson BC, Sobin LH, Grundmann E, Johansen A, Nagayo T, Serck-Hanssen A. Precancerous conditions and epithelial dysplasia in the stomach. *J Clin Pathol* 1980; 33:711-721.
19. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48:3554-3560.
20. Lauwers GY, Scott GV, Hendricks J. Immunohistochemical evidence of aberrant bcl-2 protein expression in gastric epithelial dysplasia. *Cancer* 1994; 73:2900-4.
21. Nakamura T, Nomura S, Sakai T, Nariya S. Expression of bcl-2 oncoprotein in gastrointestinal and uterine carcinomas and their premalignant lesions. *Hum Pathol* 1997; 28:309-315.
22. Korsmeyer S. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: Regulators of cell death. *Blood* 1992; 80:879-886.
23. Starzynska T, Markiewski M, Domagala W, Marlicz K, Mietkiewski J, Roberts SA, Stern PL. The Clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. *Cancer* 1996; 77:2005-12.
24. Chernova OB, Chernov MV, Agarwal ML, Taylor WR, Stark GR. The role of p53 in regulating genomic stability when DNA and RNA synthesis are inhibited. *TIBS* 1995; 20:431-434.
25. Younes M, Lebovitz RM, Lechago LV, Lechago J. P53 protein accumulation in Barrett's metaplasia, dysplasia, and carcinoma: A follow-up study. *Gastroenterology* 1993;105:1637-1642.

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

26. Hong MK, Laskin WB, Herman BE, Johnston MH, Vargo JJ, Steinberg SM, Allegra CJ, Johnston PG. Expansion of the Ki-67 proliferative compartment correlates with degree of dysplasia in Barrett's esophagus. *Cancer* 1995; 75:423-9.
27. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29:577-580.
28. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. *Am J Surg Pathol* 1996; 20 (10):1161-1181.
29. Lewin KJ, Riddell RH, Weinstein WM. *Gastrointestinal Pathology and its clinical implications*. 1st De. Igaku-Shoin:New York, 1989.
30. Offner FA, Lewin KJ, Weinstein WM. Metaplastic columnar cells in Barrett's esophagus: A common and neglected cell type. *Hum Pathol* 1996; 27:885-889.
31. Oberg S, Peters JH, DeMeester TR, Chandrasoma P, Hagen JA, Ireland AP, Ritter MP, Mason RJ, Crookes P, Bremner CG. Inflammation and specialized intestinal metaplasia of cardiac mucosa is a manifestation of gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg* 1997;226:522-532.
32. Genta RM, Huberman RM, Graham DY. The gastric cardia in *Helicobacter pylori* infection. *Hum Pathol* 1994;25:915-919.
33. Morales TG, Sampliner RE, Bhattacharyya A. Intestinal metaplasia of the gastric cardia. *Am J Gastroenterol* 1997;92:414-418.

34. Hackelsberger A, Gunther T, Schultze V, Labenz J, Roessner A, Malfertheiner P. Prevalence and pattern of *Helicobacter pylori* gastritis in the gastric cardia. *Am J Gastroenterol* 1997;92:2220-24.
35. Goldblum JR, Vicari JJ, Falk GW, Rice TW, Peek RM, Easley K, Richter JE. Inflammation and intestinal metaplasia of the gastric cardia: The role of gastroesophageal reflux and *H. pylori* infection. *Gastroenterology* 1998;114:633-639.
36. Byrne JP, Bhatnagar S, Hamid B, Armstrong GR, Attwood SEA. Comparative study of intestinal metaplasia and mucin staining at the cardia and esophagogastric junction in 225 symptomatic patients presenting for diagnostic open-access gastroscopy. *Am J Gastroenterol* 1999;94:98-103.
37. Low DE, Levine DS, Dail DH, Kozarek RA. Histological and anatomic changes in Barrett's esophagus after antireflux surgery. *Am J Gastroenterol* 1999;94:80-85.
38. Zhou H, Greco MA, Kahn E. Origin of cardiac mucosa. Ontogenic considerations. Abstracts 87A. United States and Canadian Academy of Pathology. Annual meeting San Francisco, CA. March 20-26, 1999.
39. Nandurkar S, Talley NJ. Barrett's esophagus: The long and short of it. *Am J gastroenterol* 1999; 94:30-40.
40. Hesketh PJ, Clapp RW, Doos WG, et. al. The increasing frequency of adenocarcinoma of the esophagus. *Cancer* 1989; 64:526-30.
41. Yang PC, Davis S. Incidence of cancer of the esophagus in the US by histologic type. *Cancer* 1988; 61:612-7.

42. Powell J, McConkey CC. Increasing incidence of adenocarcinoma of the gastric cardia and adjacent sites. *Br J Cancer* 1990; 62:440-3.
43. Moller H. Incidence of cancer of oesophagus, cardia and stomach in Denmark. *Eur J Cancer Prev* 1992; 1:159-64.
44. Levi F, LaVecchia C. Adenocarcinoma of the esophagus in Switzerland. *JAMA* 1991; 265:2960.
45. Bytzer P, Christensen PB, Damkier P, Vinding K, Seersholm N. Adenocarcinoma of the esophagus and Barrett's esophagus: A population-based study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:86-91.
46. MacDonald WC, MacDonald JB. Adenocarcinoma of the esophagus and/or gastric cardia. *Cancer* 1987;60:1094-8.
47. Kalish RJ, Clancy PE, Orringer MB, Appelman HD. Clinical, epidemiologic, and morphologic comparison between adenocarcinomas arising in Barrett's esophageal mucosa and in the gastric cardia. *Gastroenterology* 1984;86:461-7.
48. Hamilton SR, Smith RR, Cameron JL. Prevalence and characteristics of Barrett esophagus in patients with adenocarcinoma of the esophagus or esophagogastric junction. *Hum Pathol* 1988;19:942-8.
49. Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999;340:825-831.
50. Palanca-Wessels MC, Barrett MT, Galipeau PC, Rohrer KL, Reid BJ, Rabinovitch PS. Genetic analysis of long-term Barrett's esophagus epithelial cultures exhibiting cytogenetic and ploidy abnormalities. *Gastroenterology* 1998;114:295-304.

51. Giménez A, Minguela A, Parrilla P, Bermejo J, Pérez D, Molina J, Garcia AM, Ortíz MA, Alvarez R, de Haro LM. Flow cytometric DNA analysis and p53 expression show a good correlation with histologic findings in patients with Barrett's esophagus. *Cancer* 1998;83:641-51.
52. Shiao YH, Rugge M, Correa P, Lehmann HP, Scheer WD. P53 alteration in gastric precancerous lesions. *Am J Pathol* 1994;144:511-17.

APENDICE

Anexo I.

Por la enfermedad de base que padezco seré sometido a un procedimiento de endoscopia de esófago y estómago. He sido informado de los objetivos, alcances y procedimientos del protocolo.

En pleno uso de mis facultades (yo) _____ he aceptado

participar en el protocolo titulado: **ANALISIS COMPARATIVO DE LESIONES PRENEOPLASICAS DE CARDIAS GASTRICO CON ESOFAGO Y ESTOMAGO DISTALES. Estudio morfológico, histoquímico e inmunohistoquímico**

Estoy enterado de la técnica en la realización de la endoscopia a la que sería sometido para el estudio de mi padecimiento y he consentido con el muestreo extendido de esófago y estómago a pesar de que la mucosa sea de aspecto endoscópico normal. También he sido informado que este muestreo extendido y el procesamiento de histopatología no me serán cobrados.

Se me ha aclarado que el biopsiar zonas de aspecto normal de la mucosa de intestino anterior no aumentan las molestias ni el riesgo que existe por el procedimiento endoscópico.

Firma del paciente: _____

Firma 1er testigo: _____

Firma 2do. Testigo: _____

Nombre y firma del investigador _____

México, D. F. a ____ de _____ de 1997.

Anexo II

Cuestionario que evalúa síntomas, duración y gravedad de las manifestaciones de tubo digestivo anterior.

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____ Registro _____

Alcoholismo _____ Dx. Por imagen en union EG. _____

Tabaquismo _____ Hernia hiatal. _____

Enfermedad de base: _____

Motivo de endoscopia: _____

Síntomas de reflujo gastro-esofágico: _____ Duración _____ Gravedad _____

Regurgitación _____

Disfagia _____

Odinofagia _____

Pirosis _____

Halitosis _____

Dolor abdominal _____

Hambre dolorosa _____

Diarrea _____

Saciedad temprana _____

Náusea _____

Vómito _____

Anexo III

Criterios de Savary-Miller para clasificación de esofagitis.

Grado 0: mucosa normal.

Grado 1: eritema o hiperemia de la mucosa esofágica, edema con acentuación de los pliegues sin erosiones macroscópicas o con erosión vertical única.

Grado 2: erosiones lineales u ovals confluentes por arriba de la unión escamocolumnar y afectando < 10% de los últimos 5 cm de la superficie esofágica.

Grado 3: ulceraciones superficiales afectando del 10 al 50% de la superficie esofágica en los últimos 5 cm distales.

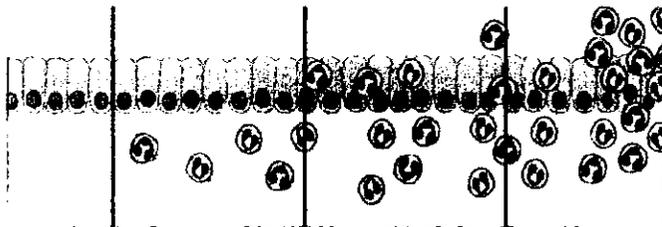
Grado 4: ulceraciones confluentes de > 50% en los últimos 5 cm del esófago o ulceraciones profundas en cualquier región esofágica o estenosis péptica esofágica y/o esófago de Barrett.

Gradificación de acuerdo al sistema Sydney actualizado

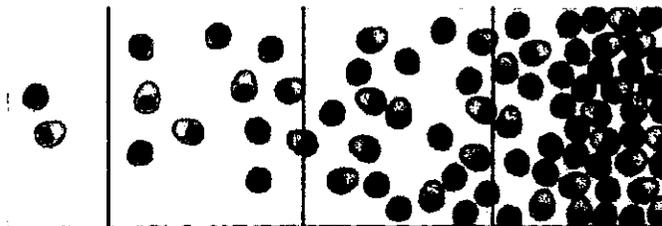
Escala visual análoga



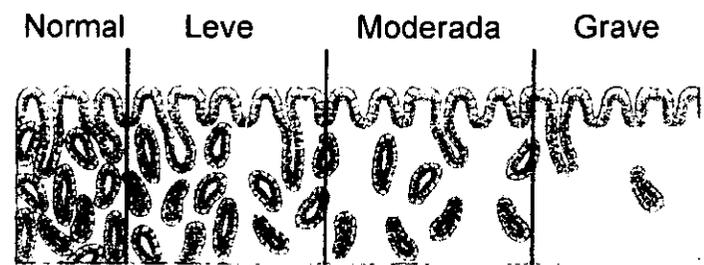
Helicobacter pylori



Neutrófilos



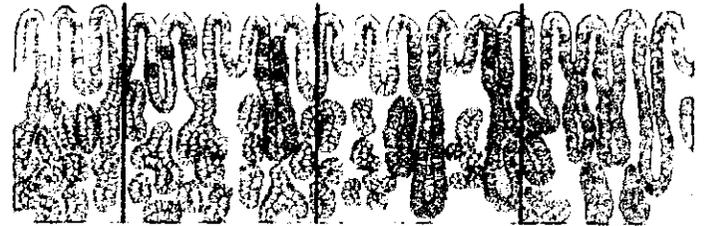
Células mononucleares



Atrofia: antro/cardias



Atrofia: cuerpo/fondo



Metaplasia intestinal