



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**“PREVALENCIA DE CASOS DE CARCINOMA
GÁSTRICO CON SOBRE EXPRESIÓN DE FACTOR
DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO TIPO
HER2/NEU EN EL CENTRO MÉDICO NACIONAL 20
DE NOVIEMBRE”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA:
Anatomía Patológica**

P R E S E N T A :

Ada Lizbeth Flores Reyes

Facultad de Medicina



**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Moisés Salamanca García
2016
Ciudad Universitaria, CD.MX.**



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.

ÍNDICE

Resumen	3
Abreviaturas	4
Introduccion	5
Antecedentes	6
Objetivos especificos	13
Plantamiento del problema	15
Justificacion	15
Objetivo general	15
Metodologia	16
Universo de trabajo	16
Diseño y tipo de estudio	16
Poblacion de estudio	15
Criterios de exclusion	17
Criterios de inclusion	17
Criterios de eliminacion	17
Descrpscion operacional de las variables.....	18
Aspectos eticos	19
Recursos financieros	20
Aportaciones y beneficios generados al instituto	20
Resultados.....	22
Discusión	27
Bibliografía.....	30

RESUMEN

El cáncer gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo en todo el mundo. El adenocarcinoma representa 90%-95% de todas las neoplasias del estómago. Se han realizado estudios sobre la expresión de Her-2/neu en cáncer de estómago. Varios trabajos mostraron que la supervivencia total y el tiempo de aparición de las recidivas en pacientes portadores de estas neoplasias era menor en aquellos que tenían mayores niveles de este oncogén, sugiriendo que el Her-2/neu podría ser utilizado como factor pronóstico. El aumento de expresión del Her-2/neu y su accesibilidad hace de este receptor un blanco adecuado para una terapia antitumoral directa.

Objetivos: Valorar la expresión de Her2/neu en los adenocarcinomas gástricos.

Material y métodos: estudio observacional, analítico y retrospectivo en que se observó la expresión de Her-2/neu.

Se estudiarán las gastrectomías totales con diagnóstico de adenocarcinoma realizadas en este CMN 20 de Noviembre del año 2012-2015; se seleccionarán bloques de parafina para tinciones con hematoxilina y eosina en caso de ser necesario para corroborar además de técnicas de inmunohistoquímica.

Palabras clave: Her2/neu, adenocarcinoma gástrico, inmunohistoquímica.

ABREVIATURAS

DNA.- Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)

HER1/ErbB1/EGFR1.- Factor de crecimiento epidérmico humano tipo 1

HER2/ErbB2/EGFR2.- Factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2

INEGI.- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática

OMS.- Organización Mundial de la Salud

OPS.- Organización Panamericana de la Salud

EE. UU.- estados unidos de América

H.P.- Helicobacter pylori

Células G.- Células secretoras de gastrina

(CDH1).- Gen E-caderina

IF.- factor intrínseco

GIST.- Tumores del estroma gastrointestinal

BRCA1.- Breast Cáncer type 1 (cáncer de mama tipo 1)

BRCA2.- Breast Cancer type 2 (cancer de mama tipo 2)

PJS.-Síndrome Peutz-Jeghers

P53.- Gen Supresor de Tumores

MALT.- linfoma de tejido linfático asociado con la mucosa

INTRODUCCIÓN

El estómago es un órgano que existe en ambos sexos, es un órgano sacular en forma de J común con un volumen de 1200 a 1500 ml. Tiene continuidad en su porción superior con el esófago y en la inferior con el duodeno. Situado en la parte superior del abdomen, el estómago se extiende hacia el hipocondrio izquierdo a través del epigastrio. La convexidad gástrica, se extiende hacia la izquierda en el epigastrio y se denomina curvatura mayor. La concavidad del lado derecho del estómago, denominada curvatura menor, corresponde a cuarta parte de toda la curvatura mayor en el epiplón mayor.

ANTECEDENTES

Embriológicamente se origina con una dilatación del intestino primitivo anterior.

se divide en cinco regiones anatómicas principales: cardias, fondo, cuerpo, antro y esfínter pilórico.

Histológicamente la mucosa gástrica varía de acuerdo a la región anatómica. En la superficie secretora de moco, el epitelio columnar se extiende dentro de numerosas fosas o pozos, estos son orificios con millones de glándulas tubulares ramificadas, de las cuales existen tres variedades: glándulas cardiacas, glándulas parietales (oxínticas), glándulas pilóricas

Las glándulas gástricas, principales componentes secretores del estómago, se distribuyen abundantemente en posición perpendicular a la mucosa y penetran a la base de la fosilla o foveola gástrica a través de un segmento estrecho conocido como cuello de la glándula. Las glándulas gástricas contienen cinco tipos de células:

Células cimógenas o principales: situadas principalmente en la mitad inferior de la glándula. Son células piramidales, basófilas con gránulos cimógenos que contienen pepsinogeno.

Células parietales u oxínticas: son células ovales piramidales eosinófilas, ocupan la parte superior de la glándula gástrica y secretan ácido clorhídrico. Contienen abundantes mitocondrias que proporcionan la energía necesaria para transportar los iones del ácido secretado. Desde el punto de vista ultraestructural, las células parietales presentan muchas invaginaciones en la membrana superficial, canalículos secretores, en gran parte expandidos a la superficie secretora de ácido. Estas células parietales también producen factor intrínseco, necesario para la absorción de vitamina B12

Células mucosas del cuello: Estos componentes basófilos secretores de moco se encuentran diseminados entre las células parietales en el cuello de la glándula gástrica

Células endocrinas: se encuentran dispersas, principalmente entre las células cimógenas y la membrana basal. Son células pequeñas, redondas o piramidales llenas con gránulos. Estas células contienen aminas biógenas como serotonina y hormonas polipéptido (gastrina y somatostatina). Las células gástricas incluyen células secretoras de gastrina (células G). El péptido intestinal vasoactivo se encuentra en elementos neurales de la mucosa y no en el interior de células endocrinas. Las células endocrinas se visualizan mejor por inmunotinción con marcadores más genéricos como cromogranina o sinaptofisina, o con anticuerpos dirigidos contra péptidos específicos como gastrina.

Glándulas pilóricas: son ramificadas y muy enrolladas, se vacían en fosillas mucho más profundas que en otras partes del estómago. Las glándulas están revestidas por células pálidas que recuerdan las células mucosas del cuello y células de las glándulas de

Brunner en el duodeno. También están presentes células G.

Glándulas del cardias: están revestidas por células similares a las células mucosas del cuello y de las glándulas pilóricas, pero carecen de células G.

El cardias y el antro están recubiertos principalmente por células foveolares secretoras de mucina que forman pequeñas glándulas. Las glándulas antrales son similares, pero también contienen células endocrinas, como las células G, que liberan gastrina para estimular la secreción de ácido hacia la luz por las células parietales dentro del fondo y el cuerpo del estómago. Las glándulas del cuerpo y fondo, bien desarrolladas, también contienen células principales que producen y segregan enzimas digestivas, como la pepsina. ¹

Los tejidos que componen al estómago pueden dar origen a diferentes patologías, tanto inflamatorias como neoplásicas y estas últimas tanto benignas como malignas.

Los síntomas más comunes comunicados por los pacientes en etapas tardías son: pérdida de peso, náusea, anorexia, dolor y sangrado entre los más destacados.

Enfermedades Inflamatorias

Están sumamente relacionadas con metaplasma intestinal, pacientes con antecedentes de infección *Helicobacter pylori*: la infección *H. Pylori* es quizá el agente causal más importante para cáncer de estómago y está implicado en cerca de dos tercios de los casos. Estudios serológicos muestran una elevada prevalencia de infección gástrica con *H. Pylori* muchos años antes de detectarse un cáncer de estómago.

Las personas seropositivas para *H. Pylori* tienen una probabilidad tres veces mayor que las personas seronegativas para desarrollar adenocarcinoma gástrico en los siguientes 1 a 24 años. ²

Cáncer gástrico.

Adenocarcinoma de tipo intestinal, se ha pensado que se origina de epitelio metaplásico. El grado de diferenciación varía y se correlaciona inversamente con el tamaño del tumor. En los tumores más diferenciados, la mayoría de las células son columnares y secretan mucina. En ocasiones el tumor está tan bien diferenciado como simular una metaplasia intestinal de tipo completo. Las variantes pobremente diferenciados tienen un patrón sólido predominante, excepcionalmente, las células tumorales mejor diferenciadas son ciliadas. La cantidad en la producción de mucina es altamente variable; cuando es abundante, esta frecuentemente acompañada de calcificación. Algunas veces la osificación metaplásica está presente en el tumor primario o en la metástasis. La ocurrencia de células de paneth fácilmente identificables es menos común, pero se ha reportado y son elemento predominante del tumor. En ciertas ocasiones el tumor está altamente infiltrado por neutrófilos o histiocitos.

Adenocarcinoma de tipo difuso ocurre en jóvenes y su incidencia relativa parece estar incrementándose en estados unidos. Las alteraciones macroscópicas usualmente

comienzan. La obstrucción pilórica frecuentemente se desarrolla, mientras la pared del estómago se torna engrosada y rígida. Las secciones de la pared muestran fibrosis submucosa marcada, con o sin ulceración de la mucosa. el musculo esta hipertrófico y segmentado por la presencia de líneas longitudinales paralelas , delgadas de color blanco grisáceo que le dan la apariencia de un peine . Estas líneas continúan con focos de engrosamiento subseroso.

En relación a su epidemiología, el cáncer de estomago A nivel mundial es la cuarta causa de casos nuevos de cáncer por año según un reporte del año 2010, con 945 000 casos nuevos.

El hecho de que las poblaciones que migran de un país con alta incidencia a otro donde es baja muestren a partir de la segunda generación, un descenso significativo de causas de cáncer gástrico sugiere que la causa puede ser ambiental, y que existe un factor causal en los hábitos alimenticios.

En Latinoamérica chile y costa rica destacan por su mortalidad de más de 40 por 100 000 habitantes

Salvo en Japón, el carcinoma del estómago en general se encuentra en una fase evolutiva avanzada en el momento del diagnóstico, con la infiltración más allá de la submucosa e invasión de la pared gástrica.

En el 2011, los principales tumores malignos detectados a la población mexicana que se hospitalizó son los de los órganos genitales femeninos y masculinos (21.9%), de mama (18.9%) y del aparato digestivo (18%).³

Factores de riesgo.

En vista de la observación que el riesgo de cáncer de estómago es determinado principalmente por factores ambientales en los primeros decenios de la vida. Las poblaciones en alto riesgo para este tumor muestran un elevada prevalencia de infección por h. Pylori en la infancia, en tanto que aquellos en bajo riesgo no.

Factores dietéticos y nitrosaminas.

El cáncer gástrico es más frecuente entre personas que comen grandes cantidades de fécula, pescado ahumado o en conserva y vegetales en salmuera. Las nitrosaminas son potentes carcinógenos en animales pero de carcinogenicidad dudosa en humanos. Nitritos y nitratos en la dieta (ambos convertidos enzimáticamente por H. Pylori y no enzimáticamente por otras bacterias se convierten a nitrosaminas. Sin embargo el papel de estas sustancias no es clara.⁴

Diagnóstico.

El examen clínico y la endoscopia es en particular el método clásico para la detección y evaluación de la patología gástrica.

Tipos morfológicos.

Hay dos claves para el abordaje del estudio morfológico (1) Cuando el tumor está confinado al componente epitelial del órgano (In Situ) o ha invadido el estroma (invasor) y (2) cuando es de tipo intestinal o difuso. En el primer criterio la importancia pronostica es mucho mayor que la del segundo.

La evaluación histopatológica de un cáncer gástrico es necesaria para proporcionar el diagnóstico del tumor, ayudar a determinar el pronóstico de un paciente, y ayudar a entender la naturaleza del cáncer del cáncer gástrico.

El Carcinoma intestinal es del tipo de célula más común, abarcando el 90-95 % de todos los casos. Los tumores de cáncer gástrico ocurren a través de una escala de edades, siendo más comunes en pacientes de 60 años en adelante.

Carcinoma gástrico de tipo difuso.

Representa una décima parte de los cánceres de estómago. No se observa una verdadera masa tumoral; en vez de ello, la pared está engrosada y firme. Si todo el estómago está afectado se denomina linitis plástica. Las células invasoras de tumor inducen fibrosis extensa en la submucosa y la muscularis. Por tanto la pared del estómago es rígida y puede ser de más de 2 cm de grosor.

Los tipos macroscópicos principales de cáncer gástrico de tipo difuso avanzado que ocurre en jóvenes y su incidencia relativa parecen estar incrementándose en México. Las alteraciones macroscópicas usualmente comienzan con la obstrucción pilórica que frecuentemente desarrollan, mientras la pared del estómago se torna engrosada y rígida. Las secciones de la pared muestran fibrosis submucosa marcada, con o sin ulceración de la mucosa. El músculo está hipertrófico y segmentado por la presencia de líneas longitudinales paralelas, delgadas de color blanco grisáceo que le dan la apariencia de un peine. Estas líneas continúan con focos de engrosamiento subseroso.

Microscópicamente se observa un crecimiento difuso de células malignas, asociada con fibrosis extensa e inflamación. Con la pared comprometida la mayoría de la mucina es producida intracitoplasmática resultando en la típica apariencia de anillo de sello.

Adenocarcinoma de tipo intestinal.

Adenocarcinoma de tipo intestinal, se ha pensado que se origina de epitelio metaplasico. El grado de diferenciación varía y se correlaciona inversamente con el tamaño del tumor.

En los tumores más diferenciados, la mayoría de las células son columnares y secretan mucina. En ocasiones el tumor esta tan bien diferenciado como simular una metaplasia intestinal de tipo completo. Las variantes pobremente diferenciados tienen un patrón solido predominante, excepcionalmente, las células tumorales mejor diferenciadas son ciliadas. La cantidad en la producción de mucina es altamente variable; cuando es abundante, esta frecuentemente acompañada de calcificación. Algunas veces la osificación metaplasica está presente en el tumor primario o en la metástasis. La ocurrencia de células de paneth fácilmente identificables es menos común, pero se ha reportado y son elemento predominante del tumor. En ciertas ocasiones el tumor está altamente infiltrado por neutrófilos o histiocitos.

Adenocarcinoma polipoide (fungoso) representa un tercio de los canceres avanzados. Es una masa sólida, a menudo de varios centímetros de diámetro, que se prolonga a la luz del estomago. La superficie puede estar parcialmente ulcerada y los tejidos más profundos pueden o no estar infiltrados.

Adenocarcinomas ulcerados constituyen otra tercera parte de todos los canceres gástricos. Tienen úlceras poco profundas de tamaño variable. Los tejidos circunvecinos son firmes, elevados y nodulares. Los bordes laterales de la úlcera suelen ser irregulares y su base es rasgada de tamaño variable.

Linfoma

Se refiere a los tumores cancerosos del sistema inmunológico que algunas veces se detectan en la pared del estómago. Aproximadamente 4% de los cánceres de estómago son linfomas. El tratamiento y el pronóstico dependen del tipo de linfoma.

Tumores del estroma gastrointestinal (GIST).

Estos son tumores poco comunes que se originan en formas muy tempranas de células de la pared del estómago llamadas células intersticiales de Cajal. Algunos de estos tumores no son cancerosos (benignos), mientras que otros son cancerosos. Aunque los tumores estromales gastrointestinales se pueden encontrar en cualquier lugar del tracto digestivo, la mayoría se descubre en el estómago.

Tumores carcinoides.

Estos tumores se originan de células productoras de hormona del estómago. La mayoría de estos tumores no se propaga a otros órganos. Los tumores carcinoides son responsables de aproximadamente 3% de los tumores cancerosos del estómago.

Otros tipos de cáncer, como el carcinoma de células escamosas, el carcinoma de células pequeñas, y el leiomioma, también pueden originarse en el estómago, aunque estos cánceres ocurren con poca frecuencia ⁵

Subtipo de sobre-expresión de HER2/neu.

Este subtipo corresponde entre el 10 a 15% de los cánceres gástricos y sobre-expresa genes para E-caderina. la sobre-expresión de su proteína HER2/neu puede ser evaluada con precisión mediante FISH o inmunohistoquímica. Los nuevos protocolos definen como negativo la tinción 0 ó 1+ y positivo 3+, requiriendo confirmación de la amplificación por FISH a los casos 2+

La correlación es buena para los casos negativos (0 o 1+) y para los casos claramente positivos (3+). Sin embargo, existen discrepancias en el grupo intermedio (2+), en las que las técnicas de FISH sólo detectan amplificación en un 10% de los casos. Estas discrepancias pueden ser debidas a problemas de sensibilidad del Herceptest (que detecte expresión no atribuible a amplificación), del FISH (que sea poco sensible en la detección de amplificaciones de bajo nivel), a ambas, o que simplemente refleje el hecho que ambas técnicas estudian el mismo fenómeno desde perspectivas distintas (DNA y proteínas).⁶

FISH o hibridación fluorescente in situ es una técnica citogenética de marcaje de cromosomas mediante la cual estos son hibridados con sondas que emiten fluorescencia y permiten la visualización, distinción y estudio de los cromosomas así como de las anomalías que puedan presentar. Esta técnica permite la rápida determinación de aneuploidías, microdeleciones, duplicaciones, inversiones, así como la adjudicación de un marcador genético a un cromosoma (cartografía genética).

Los cromosomas que son usualmente analizados por FISH son los 13, 18, 21, X e Y, que son los más propensos a sufrir anomalías. Están relacionados a enfermedades como el síndrome de Patau (13), el síndrome de Edwards (18), el síndrome de Down (21), el síndrome de Turner (X) y el síndrome del superhombre (Y), entre otros. Sin embargo, como son posibles marcados adicionales del cromosoma, otros cromosomas pueden ser visualizados con esta técnica. FISH usa segmentos de una única hebra de ADN que son tintados, o etiquetados, con una sustancia fluorescente que puede ligarse a un cromosoma específico; estos segmentos de ADN son llamados sondas. En un principio se empleaban sondas de carácter radiactivo, pero este tipo de marcaje fue reemplazado por los fluoróforos por mayor seguridad, eficacia y facilidad de detección.

La técnica FISH puede realizarse a los cromosomas en metafase o en interfase⁷.

Protocolo básico.

El primer paso de la técnica consiste en la desnaturalización del DNA para separar la doble hélice. A la muestra desnaturalizada se le añade entonces la sonda de interés (fragmento de ADN marcado fluorescentemente). Primero, las sondas hibridan a las regiones específicas para las que han sido diseñadas. Después, se tiñen los núcleos con un color de contraste inespecífico. Las sondas de DNA pueden marcarse con moléculas fluorescentes denominados fluoróforos (método directo) o no fluorescentes que se detectan con anticuerpos fluorescentes (método indirecto). Por último, se visualiza la muestra preparada bajo un microscopio de fluorescencia.^{15,16}

FISH en metafase

Cuando las células están en metafase, sus cromosomas se encuentran condensados a modo de preparación para la división celular. Para detenerlas en metafase, se emplea colchicina, un agente despolimerizante de los microtúbulos encargado de separar las

cromátidas hermanas de un cromosoma, impidiendo así el avance de la división celular. Este tipo de FISH se utiliza para detectar microdeleciones específicas, translocaciones o para identificar material extra de origen desconocido. Los tipos de sondas usadas son: Los cósmidos son secuencias únicas que hibridan con fragmentos pequeños. Se emplean en estudios de microdeleciones.

Las sondas satélites están formadas por secuencias altamente repetidas que se encuentran cerca de los centrómeros. En la mayoría de los casos son específicas de cada cromosoma. Se usan para determinar aneuploidias o para identificar el origen de cromosomas marcadores.

Las sondas completas consisten en la suma de varias sondas que hibridan en distintas zonas del cromosoma y así marcar el cromosoma completo. Se usan para ver translocaciones.

En la imagen que acompaña el texto se muestra un ejemplo de uso de una sonda completa para el cromosoma 4, en el que destacan las dos copias de dicho cromosoma sobre el resto.

FISH en interfase

No siempre es posible tener núcleos fijados en metafase para realizar el FISH, y los resultados obtenidos no serán tan específicos. Sin embargo, el FISH en interfase tiene la ventaja de que no es necesario cultivar previamente las células durante diversos días antes de poder analizar sus cromosomas. Además, cuando las células se encuentran en interfase, la cromatina está en torno a 10 000 veces más descondensada que en metafase, lo cual permite una mayor resolución a la hora de detectar anomalías pequeñas. Se emplea sobre todo para la detección de aneuploidias o grandes deleciones, duplicaciones en células fetales o tumorales. No es posible distinguir entre un cariotipo normal y un cariotipo que presente una translocación equilibrada. Además, puede ser empleado en el análisis de tumores sólidos, que se dividen con muy poca frecuencia.

Una forma reciente derivada del FISH inverso son los arrays de CGH (del inglés "Comparative Genomic Hybridization"), que están desplazando a técnicas como FISH y el cariotipo.

Otras variantes de FISH.

FISH en hebra

Este tipo de FISH (también llamado "Fiber FISH" o "Halo FISH") se aplica sobre hebras de ADN desproteinizadas (es decir, desprovistas de las histonas encargadas de su compactación). Se extiende linealmente y de forma mecánica en un portaobjetos el fragmento de cromosoma a estudiar. Se observarán puntos discontinuos por rotura de la hebra de ADN. Esta técnica permite detectar pequeñas reorganizaciones porque admite una mayor resolución (permite incluso la visualización de genes individuales). La técnica puede ser usada para detectar deleciones en clones y para estimar huecos en los proyectos genoma.

FISH inverso

Por su parte, el FISH inverso es una técnica que se usa mucho para determinar la procedencia de un cromosoma marcador. Este tipo de FISH tiene la peculiaridad de ser el ADN problema el que se marca. El procedimiento consiste en recortar un fragmento de cromosoma o dicho cromosoma marcador de un portaobjetos donde se encuentran todos

los cromosomas fijados. Se encuentran teñidos con Giemsa o con una sonda, esto sirve para marcar ese ADN y convertirlo en una nueva sonda. A continuación, ponemos los cromosomas de un donantes sin anomalías (generalmente procedente de sus linfocitos y de un varón para contemplar todas las opciones, es decir, tener los cromosomas X e Y) en un porta y añadimos la sonda preparada. Esperamos ver que hay hibridación de la sonda (cromosoma marcador) con alguno de los cromosomas del donante por complementariedad en su secuencia. Así, podemos determinar que ese cromosoma marcador procede del cromosoma con el que hibrida. Una vez identificado, el cromosoma marcador pasaría a ser llamado un cromosoma derivativo¹⁵.

Esta nueva variante de la técnica FISH, ha surgido como una forma de automatizar los estudios de muestras por el método convencional. Esta nueva técnica conlleva numerosas ventajas, como la necesidad de utilizar menor cantidad de reactivos, el empleo de un menor número tiempo de análisis (ya que en menos de una hora se pueden analizar los núcleos, frente a las 2-3 horas que precisa el procedimiento de FISH convencional), su rapidez para la obtención de resultados, su alta sensibilidad o su menor coste, con comparación con la técnica convencional de FISH.

La principal aplicación de este novedoso sistema es en el campo del diagnóstico clínico, sobre todo en el estudio de enfermedades neuronales, como es el caso de la enfermedad del Alzheimer en su estadio temprano, aunque no se descarta su uso en otros campos como en la industria alimentaria.

Se emplea un chip microfluídico con estrechos canales, por los que se hace pasar la suspensión celular purificada por capilaridad, lavada previamente con PBS. Una vez adheridas o fijadas las células a los canales por calor, digerimos las células mediante la adición de proteinasa K y desnaturalizamos su material genético, nuevamente por un incremento de temperatura. Tras estos pasos, ya pueden ser añadidas las sondas y reactivos necesarios, que difundirán a lo largo de todo el canal, pudiendo observar los núcleos bajo el microscopio en el mismo chip y de manera ordenada^{7,9}.

FISH on chip es una técnica muy útil para detectar anomalías cromosómicas (aneuploidías), entre otros defectos. En el caso del Alzheimer, es habitual utilizar muestras de linfocitos procedentes de sangre periférica, fibroblastos o muestras de orina⁸.

FISH multicolor

El "FISH Multicolor", "M-FISH" o "SKY" (Spectral Karyotyping) es una adaptación del FISH que permite la visualización de los 23 pares de cromosomas a la vez, teñidos con diferentes sondas fluorescentes.

A nivel comercial sólo hay 5 colores distintos posibles, por lo que se puede usar la sonda de un color concreto o combinar dos tipos de sondas para crear un nuevo color. El sistema de detección del equipo empleado debe estar adaptado a los 5 colores. Un programa informático se encarga de analizar las imágenes y formar el cariotograma: organiza los cromosomas de acuerdo a la emisión de las sondas que tiene integradas y las combina hasta dar las 23 combinaciones. Se utiliza con frecuencia en el estudio de células tumorales. El poder de dicho método reside en su habilidad para:

Determinar rápidamente si hay algún cromosoma adicional en el cariotipo y de qué cromosoma se trata, porque su color permitirá identificarlo.

Determinar si está presente algún cromosoma translocado y qué cromosomas están implicados en la translocación por la combinación de dos colores asociados a cromosomas diferentes en un mismo cromosoma.

Rápida identificación de material cromosómico de un cromosoma que haya sido insertado en otro cromosoma por la variación del color del fragmento insertado respecto al color de todo el cromosoma.

Identificación de cromosomas pequeños o fragmentados que frecuentemente implican el problema de averiguar su origen, como es el caso de los cromosomas marcadores.

Estas aplicaciones del SKY se deben a que cada cromosoma está teñido completamente de un único color (de una única sonda) y por eso, viendo el color que van a tener todos los cromosomas de la muestra podemos saber que anomalía presenta el paciente^{9 10}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el CMN 20 DE NOVIEMBRE no se conoce la prevalencia del número de casos de pacientes con adenocarcinoma gástrico que tengan la sobreexpresión del HER2/NEU, por tal motivo es necesario e indispensable, según la literatura, conocerlo, para que los médicos clínicos proporcionen una terapia blanco molecular específica.

JUSTIFICACIÓN

En el mundo el cáncer gástrico es la neoplasia maligna más frecuente del tubo digestivo representando un 95% de los tumores malignos de este órgano y es de particular interés conocer la prevalencia de casos con sobreexpresión de HER2/NEU para que se de el manejo específico a pacientes con dicha sobreexpresión, ya que esta neoplasia por su resistencia a la terapia convencional pero su buena respuesta a la terapia blanco, es de suma importancia conocer la prevalencia.

HIPÓTESIS

Por ser un estudio observacional retrospectivo, la hipótesis no aplica.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la prevalencia de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico que tengan sobreexpresión de Her2/NEU en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Conocer el número de pacientes diagnosticados con carcinoma gástrico HER 2 3+ (positivos)

- Identificar los casos positivos por FISH que resultaron positivos por inmunohistoquímica
- Correlacionar los datos obtenidos con los datos reportados a nivel internacional

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

Diseño y tipo de estudio.

Se realizará un estudio retrospectivo, transversal, observacional y descriptivo.

Población de estudio.

Biopsias y/o piezas quirúrgicas de los pacientes de este CMN 20 de Noviembre con diagnóstico de carcinoma gástrico, en el periodo comprendido entre enero del 2013 y mayo del 2015 a los cuales se les diagnosticó como carcinoma gástrico HER2 3 + positivo y 2+ (dudoso) y que se les haya realizado amplificación mediante FISH y que hayan resultado positivos

Universo de trabajo.

Pacientes con diagnósticos de carcinoma gástrico , con reporte de Her2 3+ y con amplificación mediante FISH positivos

Tiempo de ejecución.

6 meses.

Esquema de selección

Definición del grupo control.

El estudio no requiere controles.

Definición del grupo a intervenir.

No aplica.

Criterios de inclusión.

- Biopsias y piezas quirúrgicas de pacientes con diagnóstico de carcinoma gástrico , con reporte de inmunohistoquímica HER2 3 + y 2+ que se les haya realizado amplificación mediante FISH que hayan resultado positivos.

Criterios de exclusión.

- Biopsias y piezas quirúrgicas de pacientes con diagnóstico de carcinoma gástrico con inmunohistoquímica HER2 0, 1+ o pacientes a los que se les haya realizado la amplificación mediante FISH y que hayan resultado negativos.

Criterios de eliminación.

-Información incompleta del paciente en el expediente electrónico.

Tipo de muestreo.

Muestreo probabilístico.

No aplica. Se incluirán todas las biopsias del periodo.

Muestreo no probabilístico se incluyan todas las biopsias.

No aplica. Se incluirán todas las biopsias del periodo con resultados.

Metodología para el cálculo del tamaño de la muestra y tamaño de la muestra.

No aplica. Se incluirán todas las biopsias de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico recibidos en el servicio de anatomía patológica a las que se les haya realizado del periodo enero de 2013 a abril de 2015.

Descripción operacional de las variables.

Variable independiente.

Carcinoma gástrico

Definición conceptual.

Crecimiento descontrolado maligno de las células epiteliales que cubren la superficie interna del estómago. Ocasionando invasión a la pared gástrica y a órganos adyacentes.

Definición operacional.

Casos de cáncer gástrico con sobre expresión de Her/NEU que el patólogo haya diagnosticado como HER 2 3+ o como HER 2 + con amplificación de FISH con resultado positivo

Variable cualitativa nominal, presente/ausente)

Variables dependientes

HER/NEU 2 3+ FISH

Definición conceptual.

HER 2 /NEU: Factor de Crecimiento Epidérmico Humano, es un gen que ayuda al crecimiento de las células normales del cuerpo por medio de la producción de la proteína HER2

FISH técnica citogenética de marcaje de cromosomas mediante la cual estos son hibridados con sondas que emiten fluorescencia y permiten la visualización, distinción y estudio de los cromosomas así como de las anomalías que puedan presentar

Definición operacional.

En inmunohistoquímica: Tinción completa e intensa de membrana en más del 30% de las células neoplásicas

En FISH. El análisis por hibridación fluorescente In Situ indica el aumento en el número de copias del gen HER2 en las células neoplásicas. Los resultados de FISH son positivos o negativos.

variable cualitativa nominal, presente/ausente)

(variable cuantitativa continua, años)

Técnicas y procedimientos a emplear

Se revisarán los reportes de anatomía patológica con diagnóstico de cáncer gástrico, se recopilarán los que presenten reporte de inmunohistoquímica con resultado positivo de HER2 y se recopilarán los casos con FISH.

PROCESAMIENTO Y ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizará el programa de la suite de Office Excel para la captura de datos. Para la descripción de la información utilizaremos medidas de tendencia central.

PRUEBA PILOTO (SI ES EL CASO)

-No se requiere.

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo con los Artículos 16, 17 y 23 del capítulo I, título segundo: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. El presente proyecto es retrospectivo, documental sin riesgo, que estrictamente no amerita del consentimiento informado.

Los investigadores confirmamos que la revisión de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización, que contamos con la capacidad para llevarlo a buen término, nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad, a salvaguardar la confidencialidad de los datos personales de los participantes en el estudio, pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo, y nos conduciremos de acuerdo a los estándares éticos aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud, Las Pautas Éticas Internacionales Para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la OMS, así como la Declaración de Helsinki.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

No aplica.

CONFLICTO DE INTERES

Los investigadores declaran que no presentan ningún conflicto de intereses.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Para la captura de datos no es necesario tomar consideraciones de bioseguridad.

RECURSOS

RECURSOS HUMANOS

1. Dr. Moisés Salamanca García, médico adscrito del servicio de anatomía patológica del Centro Médico Nacional 20 de noviembre ISSSTE, validará el protocolo de estudio y analizará los resultados con el Médico Residente y validará la tesis profesional. Tiempo que dedicará a las actividades de investigación: 2 horas por semana aproximadamente.

2. Dra. Flores Reyes Ada Lizbeth, médico residente de anatomía patológica de tercer año del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE, se encargará de la búsqueda y recopilación de datos. También realizará el análisis de la información y la presentación de datos en tablas y gráficos. Tiempo que dedicará a las actividades de investigación: 24 horas por semana aproximadamente.

RECURSOS MATERIALES

- 1- Computadora personal con paquetería básica (Office) y paquete estadístico SAS.

RECURSOS FINANCIEROS

El estudio se realizará con los recursos utilizados para la atención de los derechohabientes del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" del ISSSTE y no requiere de costos adicionales, en caso de ser necesaria una erogación agregada, será cubierta por el investigador asociado del estudio.

APORTACIONES O BENEFICIOS GENERADOS PARA EL INSTITUTO

- Los resultados de este trabajo proporcionarán un panorama epidemiológico sobre el porcentaje de sobreexpresión del gen HER2 en la población de pacientes que maneja el ISSSTE específicamente el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre. Tal información podrá ser trampolín para futuras investigaciones sobre la genómica poblacional del cáncer gástrico en México.
- Se determinará la prevalencia de casos de cáncer gástrico con sobreexpresión de

HER2/ NEU positivos del CMN 20 DE NOVIEMBRE y podran recibir la terapia blanco molecular ayudandoles a una mejor calidad de vida y a no desperdiciar recursos en terapias no especificas.

DIFUSIÓN

Los resultados del estudio se pondrán en consideración para ser presentados en actividades de médicos patólogos. Así mismo se espera que los resultados sean los esperados para publicarse en alguna revista indexada de la especialidad.

Resultados

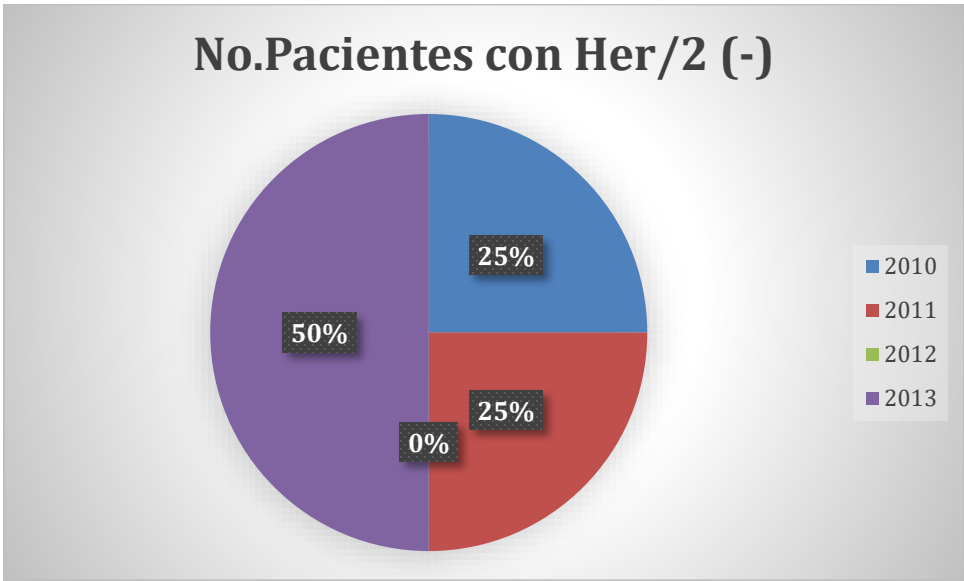
De un total de 4 biopsias con adenocarcinoma gástrico, ninguna presentó criterios de exclusión, los cuales se enuncian a continuación:

- Biopsias y piezas quirúrgicas de pacientes con diagnóstico de carcinoma gástrico con inmunohistoquímica HER2 0, 1+
- pacientes a los que se les haya realizado la amplificación mediante FISH y que hayan resultado negativos

Las cuatro cumplieron con la totalidad de criterios de inclusión. En éstas, el comportamiento de pacientes se puede observar en la tabla 1 y en la gráfica 1.

Año	No.Pacientes	Resultado
2010	1	Her/2 (-)
2011	1	Her/2 (-)
2012	0	Her/2 (-)
2013	2	Her/2 (-)

Tabla 1



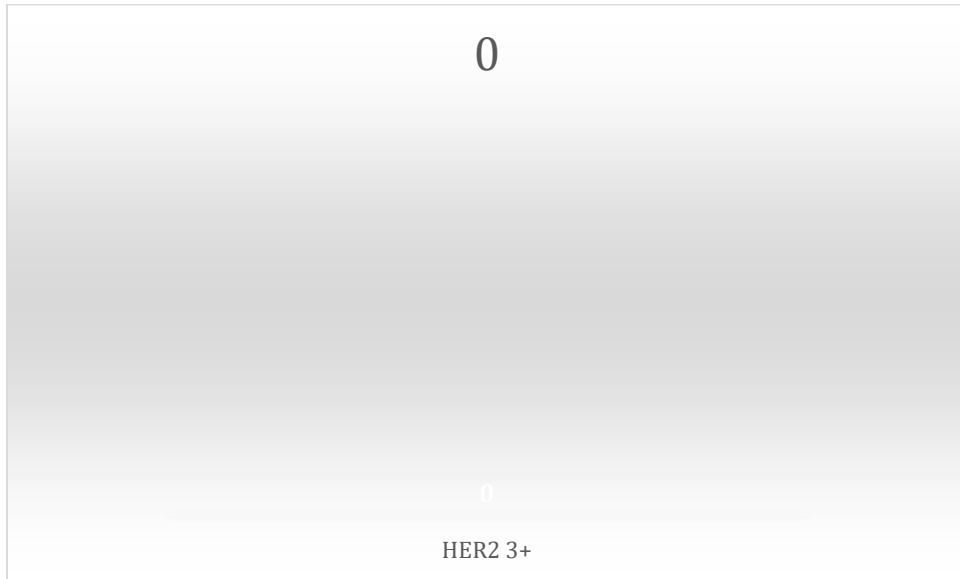
Gráfica 1

Del total de las muestras, no hubo positividad en ninguno de los años estudiados. Se puede observar la distribución en la gráfica2.



Gráfica 2

Prevalencia de casos de cáncer gástrico HER2 3+. Ver gráfica 3.



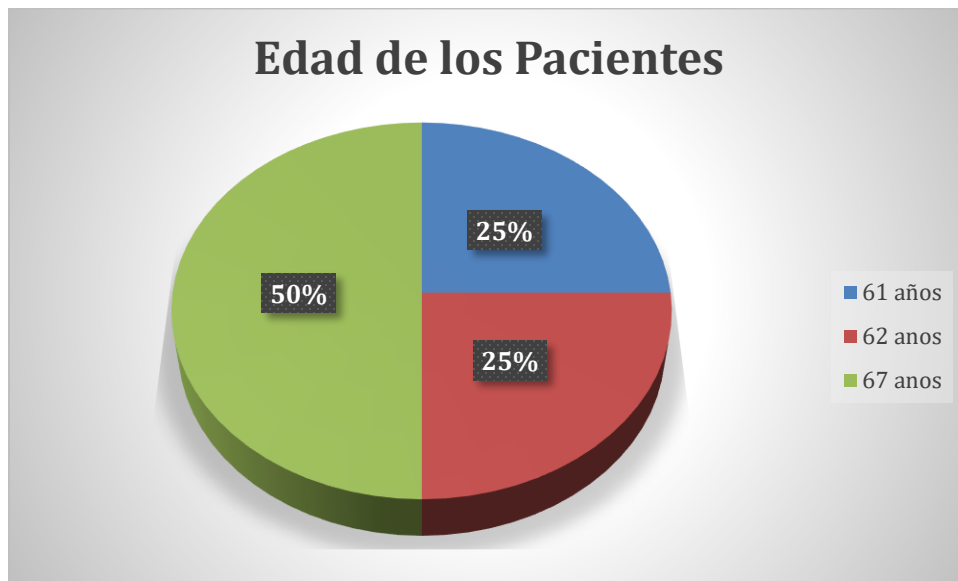
Gráfica 3

En relación al género, los cuatro pacientes estudiados eran masculinos. Ver gráfica 4.



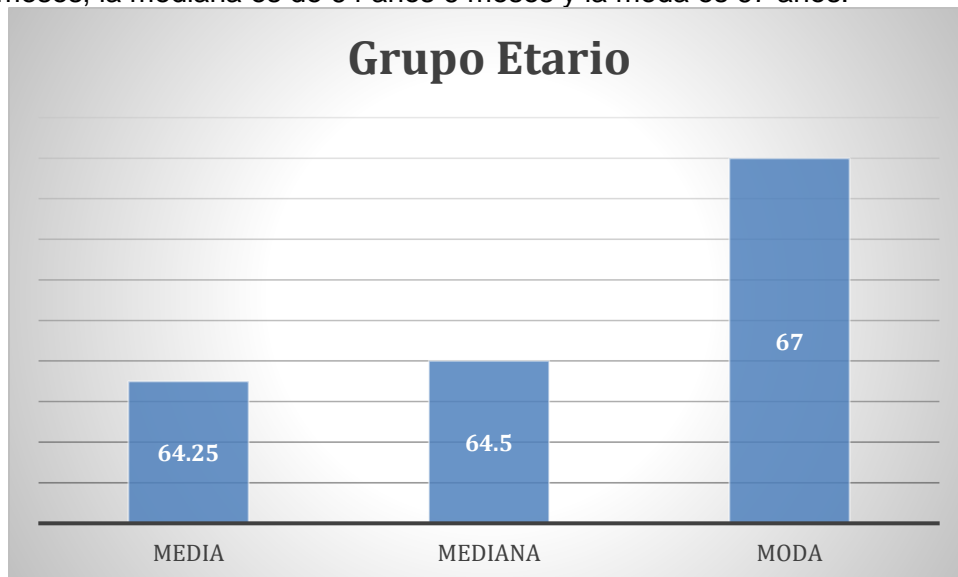
Gráfica 4

Analizando la edad de los pacientes, el promedio fue de 64 años; siendo el paciente de mayor edad de 67 años y el de menor edad de 61 años, ver gráfica 5.



Gráfica 5

La relación de grupo etario se observa en la gráfica 6, donde la media aritmética fue de 64 años 3 meses, la mediana es de 64 años 6 meses y la moda es 67 años.



Gráfica 6

Sabiendo que el patrón de crecimiento es un factor de pronóstico importante, se analizó este parámetro encontrando que el 50% de la muestra estudiada fueron adenocarcinomas gástricos de tipo intestinal y el otro 50% fueron adenocarcinomas gástricos de tipo difuso. El resumen de los casos se presenta en la tabla 2.

Patrones Presentados	No.Pacientes	Porcentaje
Intestinal	2	50%
Difuso	2	50%

Tabla 2

Patrones Presentados (Detalle)	No.Pacientes	Porcentaje
Adenocarcinoma difuso poco diferenciado invasor	1	25%
Adenocarcinoma gástrico de patrón intestinal poco diferenciado ulcerado	1	25%
Adenocarcinoma poco diferenciado de patrón intestinal , ulcerado con presencia de microabsesos	1	25%
Adenocarcinoma difuso poco diferenciado extensión de invasión mucosa y submucosa	1	25%

Tabla 3

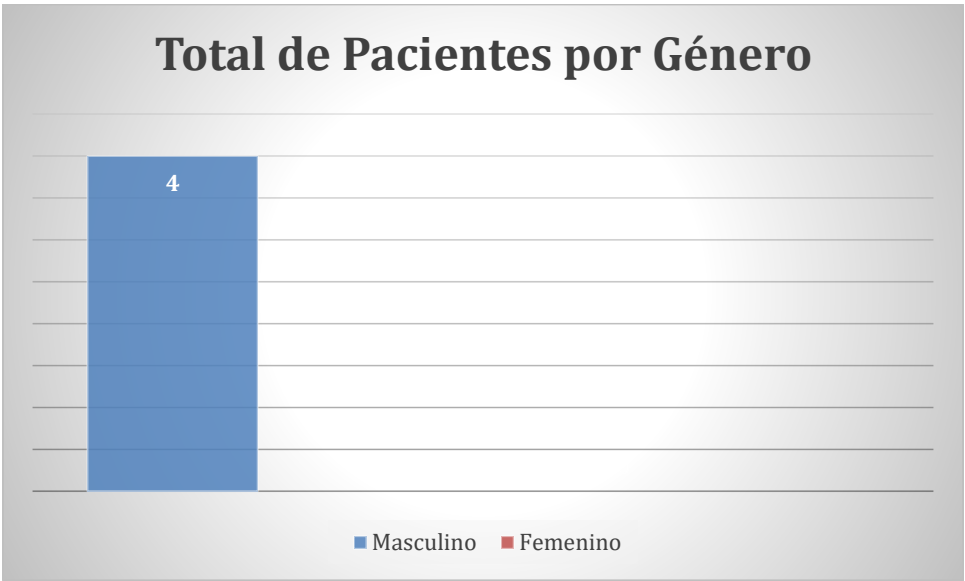
El factor predictivo más importante es el subtipo molecular, analizando este parámetro encontramos que el 0% de los casos estudiados resultaron ser negativos para Her2 3+

Resultado	No. Pacientes	Total de Pacientes	Porcentaje
Her/2 (-)	4	4	100%

Tabla 4

Del total de los casos estudiados ninguno presentó amplificación para *Her 2 3+* por estudios de hibridación fluorescente *in situ*, lo que corresponde al 0% del universo poblacional. Considerando el género de tales muestras, cuatro fueron de pacientes masculinos y representaron el 100% del total de las mismas y el 100% de los casos negativos; mientras que ningún caso fue de paciente femenino.

Her 2 FISH amplificado, distribución por sexo ver gráfica 7.



Gráfica 7

En la tabla 5 se presentan la edad de los pacientes al momento del diagnóstico

Resultados	Edad
Amplificado	61
Amplificado	62
Amplificado	67
Amplificado	67

Tabla 5

Discusión

El estudio de la expresión del protooncogen Her2/neu se ha abordado a diferentes niveles, DNA, mRNA, y a nivel de proteína. Actualmente existen diferentes técnicas para la determinación del estatus de Her2 con diferentes ventajas e inconveniente. Por razones prácticas la Inmunohistoquímica ha sido mayoritariamente la técnica de elección. Tratándose de una técnica estándar utilizada en todos los laboratorios de patología que pueden ser utilizados sobre tejido parafinado. Sin embargo la gran desventaja de la inmunohistoquímica, es que una técnica semi cuantitativa y con diferentes variaciones dependiendo del anticuerpo monoclonal anti-Her2 empleado, que conjuntamente con diferencias en el proceso de fijación del tumor, el método de desenmascaramiento antigénico, y la propia técnica de inmunohistoquímica, empleada, contribuyen a la imprecisión del ensayo.

La hibridación in situ con fluorescencia (FISH) es un método alternativo para la determinación de la amplificación de Her2. A diferencia de la inmunohistoquímica, la técnica de FISH representa una medida más objetiva y cuantitativa de Her2, y actualmente es considerada como la técnica gold estándar para la determinación de Her2. Sin embargo, es una técnica laboriosa y cara, que además requiere de un equipo especializado de detección de fluorescencia, y de una amplia experiencia en la visualización de las preparaciones, por ello se ha estandarizado que solo ciertas muestras previamente diagnosticadas por inmunohistoquímica y que presentan el diagnóstico de 2 ++ son las que deben pasar por este proceso.

El presente trabajo determina la prevalencia de los casos de adenocarcinoma gástrico positivos por la técnica de FISH que habían sido previamente analizados por inmunohistoquímica sin llegar a una conclusión, de positividad o negatividad (Her2 2 ++)

La prevalencia de los casos positivos en el centro médico nacional 20 de Noviembre en el periodo comprendido entre enero 2010 y diciembre del 2013 fue de 0% de los pacientes reportados como Her2 2++ , lo cual no se correlaciona con los datos reportados a nivel internacional. No hay forma de comparar tales datos con la prevalencia nacional pues no hay información fidedigna al respecto.

Así también se pudo observar que por lo menos en la población del centro médico nacional 20 de noviembre, el predominio de los patrones de crecimiento del adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal, fueron iguales, pudiendo determinar que no importa el patrón de crecimiento para que la prueba de FISH fuera positiva ya que en el 100% de los casos resulto negativa.

Otra variable de importancia es el género ya que en el centro medico nacional 20 de noviembre la población masculina está más afectada que la femenina para este tipo de neoplasia

El tipo de patrón de crecimiento en el adenocarcinoma gástrico, tanto difuso como intestinal, no tuvo significancia en la edad de los pacientes, lo que no se correlaciono con los datos reportados en la literatura

La finalidad de llevar a cabo el estudio de FISH en los pacientes, antes mencionados, tiene como último fin proporcionar al médico tratante una gama más amplia de opciones terapéuticas como lo es la terapia blanco molecular.

Ninguno de los pacientes presento positividad para FISH, lo que desafortunadamente, impide a estos recibir la terapia blanco, y esta causa nos da motivos para seguir estudiando el comportamiento molecular de la enfermedad con el fin de tener nuevos adelantos en la terapia dirigida

Es importante llevar a cabo estudios sobre el comportamiento biológico y el perfil genético de los tumores, ya que nos llevara a una mayor comprensión de las patologías encaminadas a los tratamientos a terapias cada más específica. En caso particular de nuestro hospital pudimos constatar que el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal y difuso se presenta entre las 6 y 7 décadas de la vida, mostrando una diferencia a la reportada en la literatura.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Rubin - Patología estructural. Fundamentos clinicopatológicos en Medicina. Ed. McGraw-Hill, 6ª ed., 628-631 págs., 2006. STEVENS, A., J. LOWE y B. YOUNG.
- 2.- http://www.ascolcirugia.org/revista/revistaabriljunio2011/cancer_gastrico.pdf / ARTÍCULO DE REVISIÓN Rev Colomb Cir. 2011;26:111-117 Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa PELAYO CORREA
- 3.- Olga Esquivel Hernández,* Edmundo Erbey Castelan Maldonado,* María De La Paz Espinoza Benítez Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patrevlat/rlp-2012/rlp122d.pdf>
- 4.- <http://www.cancer.org/espanol/cancer/cancerdeestomago/guiadetallada/cancer-de-estomago-causes-risk-factors>
- 5.- <http://www.google.com.mx/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=C%C3%A1ncer+de+est%C3%B3mago+%C2%BFQu%C3%A9+es+el+c%C3%A1ncer%3F> -
- 6.- http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292010000400006&script=sci_arttext
- 7.- O'Connor Clare. Fluorescence in situ hybridization (FISH). Nature Education. 2008; 1 (1): 171
- 8.- 18. Jasmine P Devadhasan, Sanghyo Kim, Jeongho. Fish-on-a-chip: a sensitive detection microfluidic system for Alzheimer's disease. J Biomed Sci. 2011; 18(1): 33.
- 9.- 18. Jasmine P Devadhasan, Sanghyo Kim, Jeongho. Fish-on-a-chip: a sensitive detection microfluidic system for Alzheimer's disease. J Biomed Sci. 2011; 18(1): 33.