

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE LAS TERAPIAS FARMACOLÓGICAS UTILIZADAS EN COSTA RICA EN
PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO AVANZADO O METASTÁSICO IRRESECABLE, Y
OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN POR FLUORESCENCIA *IN SITU* DEL
ONCOGEN C-ERBB-2/HER2

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en
Ciencias Biomédicas para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Biomédicas
con énfasis en Farmacología

ANA EUGENIA CORDERO GARCÍA

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2017

A Roberto por enseñarme a ir más allá de mis límites

A mis padres por ser mi apoyo en todo momento

A Jose C por compartir su vida conmigo

AGRADECIMIENTOS

A Warner Alpizar , Tutor de la Tesis, por todas las enseñanzas y el tiempo dedicado para que esta investigación fuera una realidad. Gracias por su confianza, profesionalismo y compromiso.

Al personal del Laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Calderón Guardia, por permitirme realizar y leer las pruebas de FISH en las instalaciones. Especialmente a Andrés Báez, por enseñarme a realizar en FISH. Gracias por su paciencia y disponibilidad.

Al personal del INISA por abrirme sus puertas y permitirme realizar las pruebas de IHC y FISH en el laboratorio de Cáncer Gástrico. A la Dra. Vanessa Ramírez por su disposición de ayudarme, y su interés durante el desarrollo de esta investigación.

A los directores del Servicio de Patología del Hospital Calderón Guardia por su colaboración con las muestras de tejido. Sin su ayuda esta investigación no se hubiera podido realizar.

A la Dra. Yolanda Roa del Servicio de Patología del Hospital Calderón Guardia por orientarme en la lectura de tejidos y brindarme su colaboración.

Al Dr. Allan Ramos las gracias por siempre, su ayuda es invaluable.

Al Dr. Luis Alberto Corrales por su apoyo y colaboración en el desarrollo de los protocolos de investigación.

Al personal de Registros Médicos y de Archivo de los Hospitales Rafael Ángel Calderón Guardia, Max Peralta, San Juan de Dios y México por su colaboración.

A Dios... por recordarme luchar por las cosas realmente importantes

“Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Biomédicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Biomédicas énfasis Farmacología”



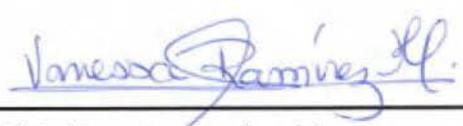
PhD. Steve Quirós Barrantes
**Representante del Decano
Sistema de Estudios de Posgrado**



PhD. Warner Alpizar Alpizar
Director de Tesis



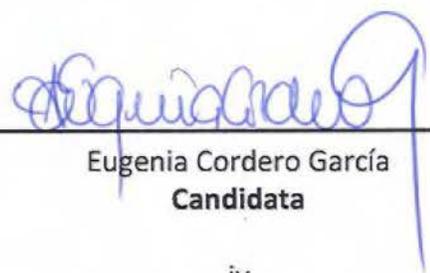
PhD. Andrés Báez Astúa
Asesor



PhD. Vanessa Ramírez Mayorga
Asesora



PhD. Elvira Salas Hidalgo
**Directora
Programa de Posgrado en Ciencias Biomédicas**



Eugenia Cordero García
Candidata

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	viii
Lista de Cuadros	ix
Lista de Figuras	xiii
Lista de Abreviaturas	xv

Capítulo I: **Marco Teórico**

- Epidemiología del cáncer gástrico	1
- Factores de riesgo	2
- Subtipos Histológicos y Anatómicos del cáncer gástrico	2
- Estadiaje del cáncer gástrico	4
- Patogénesis del cáncer gástrico	5
- Aspectos moleculares	6
• Oncogenes y genes supresores de tumores	7
• Biología de la familia de receptores HER	8
- Proteína HER2 y cáncer gástrico	10
- Técnicas para determinar el estatus de HER2 y criterios para el análisis semicuantitativo	11
- Terapia utilizada en cáncer gástrico avanzado	13
- Cáncer gástrico en Costa Rica	15

Capítulo II

- Antecedentes y justificación	16
- Pregunta de investigación	19

-	Objetivos	
•	Objetivo general	20
•	Objetivos específicos	20

Capítulo III: **Materiales y Métodos**

FASE I:	Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos	21
-	Población de estudio	21
-	Criterios de inclusión y exclusión	22
-	Análisis estadístico	24
FASE II:	Estandarización y Validación de las pruebas IHC y FISH	25
-	Muestras de estudio	25
-	Inmunohistoquímica (IHC)	26
-	Hibridación fluorescente <i>in situ</i>	27

Capítulo IV: **Resultados**

FASE I:	Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos	28
-	Análisis de sobrevida libre de progresión y sobrevida global	34
•	Pacientes con gastrectomía y estadio no metastásico	36
•	Pacientes con enfermedad metastásica al momento del diagnóstico	45
•	Pacientes no metastásicos, no gastrectomizados	49
•	Efectos adversos debido a la terapia farmacológica utilizada	51
FASE II:	Estandarización y validación de las pruebas IHC y FISH	56

- Prueba de inmunohistoquímica _____ 58
- Prueba de Hibridación *insitu* fluorescente _____ 59

Capítulo V: **Discusión**

FASE I: Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos _____ 62

FASE II: Estandarización y validación de las pruebas IHC y FISH _____ 72

Capítulo VI: **Conclusiones y Limitaciones** _____ 75

Bibliografía _____ 78

Anexos _____ 91

- **Anexo 1:** Autorización del Comité Ético Científico (CEC) de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (#817-B2-371)
- **Anexo 2:** Autorización Comité Ético Científico Institucional de la CCSS (CECI) (R013-SABI- 00048)
- **Anexo 3:** Formulario de Recolección de Datos
- **Anexo 4:** Autorización del Comité Local de Bioética del Hospital Calderón Guardia (CLOBI-01-01-2015)
- **Anexo 5:** Protocolo para tinción por Inmunohistoquímica para HER2
- **Anexo 6:** Protocolo para Hibridación *in situ* fluorescente para HER2
- **Anexo 7:** Resultados de las pruebas de Inmunohistoquímica (IHC) e hibridación fluorescente *in situ* (FISH) de los 50 bloques de tejido parafinado utilizados

RESUMEN

El cáncer gástrico es una de las principales causas de muerte por cáncer y una de las neoplasias de mayor incidencia en Costa Rica y el mundo. La cirugía es la mejor opción curativa para el tratamiento del cáncer gástrico, sin embargo una alta proporción de los casos presentan tumores en estadios avanzados o metastásicos al momento del diagnóstico, y son por lo tanto irresecables. En los casos operables la tasa de recurrencia es elevada, de hasta el 60%, y a pesar de los beneficios en sobrevida asociadas al uso de las terapias combinadas muchos pacientes no responden, por lo que el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico avanzado continúa siendo muy pobre. HER2 es una proteína relacionada con tumores más agresivos y con menor sobrevida. El estudio TOGA demostró que pacientes de cáncer gástrico con sobreexpresión de HER2 obtienen un beneficio en sobrevida al ser tratados con Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal que bloquea la señalización inducida por HER2. Existe, sin embargo, una amplia variación en la prevalencia de casos positivos para HER2 en las diferentes zonas geográficas del mundo. En Costa Rica no se ha validado la metodología para determinar el estatus de HER2 en cáncer gástrico. Lo anterior implica que se podría estar excluyendo a pacientes que podrían resultar beneficiados de un tratamiento personalizado.

En el presente estudio se evaluó los beneficios de las diferentes terapias farmacológicas utilizadas en Costa Rica para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable y se estandarizó las pruebas diagnósticas y confirmatorias para el diagnóstico de la sobreexpresión de la oncoproteína HER2. Esto se realizó en dos fases, la primera fue la revisión de expedientes clínicos de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico entre el 2009 y 2012. En la segunda fase se estandarizó y validó las pruebas de IHC y FISH contra HER2 en muestras quirúrgicas de tejido parafinado de 50 pacientes diagnosticados con cáncer gástrico.

Los resultados de este estudio indican que los pacientes con cáncer gástrico avanzado en estadios no metastásicos que son operados no obtienen un beneficio adicional, en términos de sobrevida, al recibir quimioterapia posterior a la cirugía. Sin embargo, la utilización de la quimioterapia en pacientes con cáncer gástrico metastásico si extiende la sobrevida de los pacientes. Además, se demuestra que la razón de ganglios linfáticos (LNR) es un factor con utilidad pronóstico en cáncer gástrico, incluso más confiable que el valor de N o ganglios metastásicos. Los datos obtenidos a partir de los expedientes y los resultados de la validación sugieren que la prevalencia de casos de cáncer gástrico con sobreexpresión de HER2 en Costa Rica oscila entre 4% y 8%.

En conclusión, el presente estudio demuestra que el estudio sistematizado de variables clínico-patológicas puede ser de gran relevancia para optimizar y ofrecer un manejo más personalizado en los pacientes con cáncer gástrico avanzado en Costa Rica. Asimismo, este es el primer estudio que presenta una estimación de la prevalencia de casos de cáncer gástrico con sobreexpresión de HER2 en el país.

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro 1. _____	30
Características demográficas del total de pacientes incluidos en el estudio	
Cuadro 2. _____	31
Clasificación de los pacientes incluidos en el estudio de acuerdo al TNM	
Cuadro 3. _____	32
Estadio TNM de los pacientes incluidos en el estudio	
Cuadro 4. _____	32
Caracterización clínico-patológica de la población de estudio	
Cuadro 5. _____	34
Descripción de los procedimientos quirúrgicos realizados en los pacientes con cáncer gástrico avanzado	
Cuadro 6. _____	35
Comparación de la sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) de los pacientes operados no metastásicos con respecto a los pacientes en estadio metastásico y los pacientes en estadio no metastásico pero no gastrectomizados	
Cuadro 7. _____	35
Comparación de sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) de los pacientes en estadio metastásico versus los pacientes no operados sin metástasis	

Cuadro 8. _____ 37

Mediana de supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia global (OS) de acuerdo al tipo de disección ganglionar durante la cirugía, al estado de los márgenes quirúrgicos posterior a la cirugía y al número de ganglios disecados

Cuadro 9. _____ 39

Supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al valor de N

Cuadro 10. _____ 40

Supervivencia libre de progresión (PFS), supervivencia global (OS) y razón de probabilidad del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo a la razón ganglios linfáticos (LNR)

Cuadro 11. _____ 42

Supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al tratamiento recibido

Cuadro 12. _____ 44

Mediana de supervivencia libre de progresión (PFS) y supervivencia global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al número de medicamentos utilizados en la terapia y a la escala ECOG

Cuadro 13. _____ 45

Principales sitios de metástasis

Cuadro 14. _____ 47

Mediana de sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) del grupo de pacientes metastásicos de acuerdo al uso o no de terapia farmacológica, el número de fármacos utilizados y al tipo de terapia utilizada (sin TPF)

Cuadro 15. _____ 49

Sobrevida libre de progresión del grupo con enfermedad metastásica de acuerdo al ECOG

Cuadro 16. _____ 50

Sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) del grupo sin enfermedad metastásica pero que no se sometieron a gastrectomía, de acuerdo al tratamiento de seguimiento y al número de medicamentos utilizados

Cuadro 17. _____ 51

Sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) del grupo sin enfermedad metastásica pero que no se sometieron a gastrectomía de acuerdo al ECOG

Cuadro 18. _____ 52

Eventos Adversos reportados en el expediente

Cuadro 19. _____ 52

Eventos adversos reportados en el expediente clínico de acuerdo al tratamiento utilizado

Cuadro 20. _____ 54

Indicación médica ante el evento adverso previo a continuar con la terapia

Cuadro 21. _____	55
Aparición de efectos adversos (EA) de acuerdo al estadio TNM del paciente	
Cuadro 22. _____	55
Número de pacientes tratados y porcentaje de efectos adversos (EA) de acuerdo a la terapia utilizada	
Cuadro 23. _____	56
Diagnóstico de HER2 en pacientes de cáncer gástrico de acuerdo a la información reportada en los expedientes clínicos	
Cuadro 24. _____	57
Características de los pacientes y los tejidos parafinados utilizados en la estandarización de la hibridación fluorescente <i>in situ</i>	
Cuadro 25. _____	61
Resultados de las pruebas de Inmunohistoquímica (IHC) e hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH) de los tejidos parafinados utilizados	
Cuadro 26. _____	102
(Anexo 7) Resultados de las pruebas de Inmunohistoquímica (IHC) e hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH) de los 50 bloques de tejido parafinado utilizados	

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. _____ Esquema de selección de los expedientes clínicos	29
Figura 2. _____ Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) de los tres grupos de pacientes estudiados	36
Figura 3. _____ Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al tipo de disección ganglionar realizado durante la cirugía	38
Figura 4. _____ Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al estado de los márgenes quirúrgicos (R1/R2: margen comprometido, R0: margen libre)	38
Figura 5. _____ Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo a la razón ganglios positivos/ganglios disecados	41
Figura 6. _____ Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al tratamiento recibido	43

Figura 7. _____ 44

Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al ECOG

Figura 8. _____ 48

Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) de acuerdo al uso de terapia doble o triple en los pacientes en estadio metastásico

Figura 9. _____ 49

Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo con estadio metastásico de acuerdo al ECOG

Figura 10. _____ 59

Inmunohistoquímica para HER2 en muestras de tejido de cáncer gástrico avanzado. (A y B) Tinción positiva de membrana celular basolateral o lateral en forma heterogénea IHC3+ (20X), © Ausencia de tinción de membrana IHC 0 (10X), (D) Tinción leve apenas visible IHC 1+ (20X)

Figura 11. _____ 61

Hibridación Fluorescente *in situ* en células tumorales de cáncer gástrico avanzado. La señal verde corresponde al cromosoma 17 (CEN 17) y la señal roja corresponde al gen que codifica para HER2 (A) Amplificación del gen *erbB2* (HER2) (40X) (B,C) Relación normal entre HER2/CEN 17 (40X)

LISTA DE ABREVIATURAS

- **5FU:** 5- fluorouracilo
- **ADN:** ácido desoxirribonucleico
- **AJCC:** American Joint Committee on Cancer
- **ARN:** ácido ribonucleico
- **ASCO:** Sociedad Americana de Oncología
- **CCSS:** Caja Costarricense del Seguro Social
- **CEC:** Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica
- **CECI:** Comité Ético Científico Institucional de la CCSS
- **CEN17:** centromero 17
- **CIEMIC:** Centro de Investigaciones en Estructuras Microscópicas de la UCR
- **CLOBI:** Comité Local de Bioética
- **DCF:** docetaxel, cisplatino y 5FU
- **EGFR:** receptor del factor de crecimiento epidérmico
- **EMA:** Agencia Europea de Medicamentos
- **EOC:** epirrubicina, oxaliplatino, capecitabina
- **EOX:** epirrubicina, oxaliplatino, capecitabina
- **erbB:** proteína que conforma en receptor del factor de crecimiento epidérmico
- **ESMO:** Sociedad Europea de Oncología Médica
- **FAM:** 5FU, doxorubicina, mitomicina
- **FDA:** Food and Drug Administration (EEUU)
- **FEC:** epirrubicina, cisplatino, 5-FU
- **FISH:** hibridación in situ fluorescente
- **FOLFOX:** oxaliplatino, 5FU y leucovorina
- **H. pylori:** *Helicobacter pylori*
- **HCG:** Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia
- **HER:** receptor del factor de crecimiento epidérmico humano
- **HM:** Hospital México

- **HMP:** Hospital Maximiliano (Max) Peralta
- **HR** (hazard ratio): Razón de Riesgo
- **HSJD:** Hospital San Juan de Dios
- **IHC:** Inmunohistoquímica
- **IL:** interleucina
- **INISA:** Instituto de Investigaciones en Salud de la UCR
- **LNR:** Razón de ganglios linfáticos
- **NCCN:** National Comprehensive Cancer Network
- **OS:** Sobrevida Global
- **PFS:** Sobrevida libre de progresión
- **PKC:** proteína quinasa C
- **PLC:** Fosfolipasa C
- **S1:** fluoropirimidina oral (medicamento)
- **UCR:** Universidad de Costa Rica
- **UICC:** Unión Internacional contra el cáncer
- **XELOX:** capecitabina, oxaliplatino

Definiciones

- **ECOG:** escala para medir el estado funcional y la calidad de vida de un paciente oncológico. Diseñada por el Eastern Cooperative Oncology Group de los Estados Unidos y validada por la OMS
- **Disección Nódulos Linfáticos D1:** disección de nódulos linfáticos cardiacos (izquierdo y derecho), de la curvatura mayor y menor, suprapilóricos a lo largo de la arteria gástrica derecha y área infrapilórica.⁵
- **Disección Nódulos Linfáticos D2:** incluye la disección ganglionar de D1 más la disección de todos los nódulos linfáticos de la arteria gástrica derecha, arteria hepática común, arteria celiaca, hilio esplénico y arteria esplénica.⁵
- **CpG:** regiones de ADN con gran concentración de pares citosina-guanina

Capítulo I

MARCO TEÓRICO

Epidemiología del cáncer gástrico

El cáncer gástrico es la quinta neoplasia más diagnosticada a nivel mundial, lo que corresponde a aproximadamente un 6.8% de todos los tumores registrados en un año. Sólo en el año 2012, se reportaron casi un millón de casos nuevos y 723.000 muertes por este tipo de tumor maligno, siendo la tercera causa de muerte por cáncer en el mundo. La alta morbilidad y mortalidad asociada a esta enfermedad la convierten, por lo tanto, en un problema de salud pública.^{1, 2, 3}

Las tasas de incidencia y mortalidad de cáncer gástrico varían sustancialmente entre las diferentes regiones geográficas. En general, la incidencia es baja en el norte y occidente de Europa, norteamérica, el sur de Asia, el norte y este de África y Australia, mientras que en el este asiático, centro y sur de América y Europa Oriental se observan las más altas tasas de incidencia para esta neoplasia.^{1- 5} Las tasas de incidencia de la enfermedad también presentan variaciones importantes en función del sexo, siendo ésta dos veces más común en hombres que en mujeres, independientemente de la localización geográfica.^{1, 3, 6} El cáncer gástrico, sin embargo, ha venido experimentando una disminución sostenida de las tasas de incidencia y mortalidad en las últimas décadas, tanto en países de alto y bajo riesgo, así como en ambos sexos, por razones que no han sido del todo esclarecidas.⁷

También existen diferencias entre las regiones de alto y bajo riesgo de cáncer gástrico en cuanto a la localización anatómica de los tumores malignos en el estómago. En los países con alto riesgo, el cáncer gástrico más común es el que se encuentra localizado en la región distal del estómago. Entre tanto, el adenocarcinoma gástrico proximal, o del cardia, presenta una distribución más homogénea a nivel mundial, aunque su incidencia tiende a aumentar, especialmente en regiones de bajo riesgo.⁷⁻⁹

Factores de Riesgo

Múltiples factores han sido asociados con el riesgo de desarrollar el cáncer gástrico, entre los más reconocidos figuran ciertos aspectos relacionados con la dieta (bajo consumo de frutas y verduras, alto consumo de comidas procesadas y elevadas cantidades de sal) y el estilo de vida (el fumado y la ingesta de alcohol).⁵ La predisposición genética también es considerada como un factor de riesgo importante para el desarrollo del cáncer gástrico, especialmente para ciertos subtipos histológicos de esta enfermedad. No obstante, la infección por la bacteria *Helicobacter pylori* es considerado como uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico.¹⁰⁻¹²

Más recientemente, se ha reconocido la importancia de la respuesta inflamatoria del hospedero contra la infección por *H. pylori* como un factor importante en la génesis de esta patología.¹³⁻¹⁴ Una importante cantidad de estudios han demostrado la asociación de algunos polimorfismos en genes que codifican para interleucina 1 beta, el receptor antagonista de interleucina 1 e interleucina 10 (IL-1B, ILRN, IL10, respectivamente) entre otros, con el riesgo de desarrollar cáncer gástrico en poblaciones de alto y bajo riesgo, incluyendo Costa Rica.¹³⁻¹⁸

Subtipos histológicos y anatómicos de cáncer gástrico

Existen múltiples guías de clasificación histológica para los tumores que se desarrollan en esta región del tracto gastrointestinal. La clasificación de estas neoplasias se puede hacer de acuerdo al tipo de tejido de origen o a la apariencia histológica que presentan las lesiones, siendo el adenocarcinoma el tumor maligno más frecuente.¹⁹⁻²¹

De acuerdo a la extensión del tumor y la estructura macroscópica, el cáncer gástrico se ha clasificado en cáncer temprano y cáncer avanzado. El cáncer temprano se define como el tumor que se encuentra confinado a la mucosa y submucosa de la pared estomacal, ya sea en presencia o ausencia de metástasis en los nódulos linfáticos; por otro lado, un cáncer avanzado es aquel que ha sobrepasado la submucosa de la pared estomacal.^{5,22}

El cáncer gástrico se puede clasificar, a su vez, de acuerdo a la histología mediante los criterios de Borrmann o de Lauren. La clasificación de Lauren es la más utilizada mundialmente para establecer el subtipo histológico del tumor. Este sistema de clasificación describe a los tumores de acuerdo con aspectos de la configuración microscópica y patrón de crecimiento, dividiendo a los tumores en dos tipos principales: el difuso y el intestinal. En aquellos casos en que no es posible clasificar el tumor en alguno de estos dos subtipos, se establece como otros.¹⁹⁻²¹

El cáncer gástrico intestinal es el más frecuente alrededor del mundo y está claramente asociado a la aparición de una serie de lesiones precancerosas en la mucosa gástrica, la cual inicia con gastritis crónica atrófica severa, que posteriormente avanza a metaplasia intestinal, displasia y culmina con cáncer gástrico.²³ Los tumores de tipo intestinal se ubican principalmente en el antro y están caracterizados por la presencia de células epiteliales similares a las intestinales que presentan formaciones glandulares y nódulos. Este subtipo de cáncer gástrico predomina en regiones de alto riesgo, con más frecuencia en hombres y está más asociado a aspectos relacionados con la dieta, estilo de vida e infección por *H. pylori*.^{10, 19, 21}

El cáncer gástrico de tipo difuso está caracterizado por la infiltración de células malignas dispersas que invaden la mucosa y las paredes gástricas de forma individual o en conglomerados pequeños. Estos tumores se localizan principalmente en el fondo o cuerpo del estómago, y en la mayoría de los casos aparecen en ausencia de gastritis u otras lesiones precancerosas identificables, contrario al subtipo intestinal. Generalmente, este subtipo de neoplasia gástrica se presenta más en personas jóvenes y con historia familiar de cáncer gástrico, es igualmente frecuente en hombres y mujeres y está asociado con un peor pronóstico en comparación con el cáncer gástrico intestinal.¹⁹⁻²¹

Otro sistema de clasificación frecuentemente usado es la clasificación de Borrmann, la cual se utiliza particularmente en tumores localmente avanzados, en donde se encuentra comprometida la capa muscular propia y se extiende incluso a otros tejidos. Esta clasificación se divide en cuatro estadios: I, II, III y IV. Los tipos I y II agrupan lesiones de

formas polipoideas, circunscritas y de límites precisos; los III y IV son tumores difusos y de límites imprecisos, en los cuales el tipo III presenta ulceraciones y en el tipo IV no se presentan lesiones adicionales. El estadio V se utiliza para aquellos casos en los que el cáncer no puede clasificarse en ninguno de los anteriores.²⁰

La localización anatómica de los tumores en el estómago también es un importante parámetro para la clasificación de los mismos. Según su localización, se reconocen dos subtipos principales de cáncer gástrico proximal y distal. El cáncer gástrico proximal se encuentra cerca de la región gastro-esofágica, también conocida como cardía. Por su parte, los tumores distales son los que se extienden contrarios al área cardial, en las regiones correspondientes al cuerpo y antro del estómago. Existen diferencias etiológicas y epidemiológicas importantes entre estos dos tipos de tumores, principalmente con respecto a la infección por *H. pylori*, la cual es un factor de riesgo para cáncer distal, pero pareciera no ser determinante en la etiología del subtipo proximal. Además, el cáncer gástrico distal es el más frecuente a nivel mundial.^{3,9,24}

Estadaje del Cáncer Gástrico

La determinación del estadio del cáncer gástrico en un paciente es un factor indispensable porque es a través de este parámetro que se establece la estrategia terapéutica inicial. El estadaje del cáncer gástrico puede realizarse por medio de dos clasificaciones diferentes; la japonesa y el sistema de estadaje desarrollado por la American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC).^{5,25}

La clasificación japonesa es más elaborada y está basada en la localización anatómica y número de ganglios linfáticos que han sido afectados por el tumor, así como el tipo de gastrectomía realizada en el paciente. La clasificación de la AJCC y la UICC, por su parte, se basa en tamaño del tumor primario, número de ganglios linfáticos afectados y la presencia o no de metástasis en órganos distantes agrupando los casos con pronóstico similar. Este último es el sistema más utilizado en el hemisferio oeste.^{5, 25,26}

Debido a las diferencias y confusión que se generaba al establecer el estadio del paciente por la utilización de ambos sistemas, en el 2010 se trató de unificar criterios para la séptima edición del TNM (UICC/AJCC), así como para la guía de la Japanese Classification for Gastric Cancer y de la Treatment Guidelines (Japanese Gastric Cancer Association). Uno de los aspectos relevantes que deriva de esta homologación es el requerimiento de al menos 15 nódulos linfáticos examinados para establecer el estadio.^{5, 25,26}

Patogénesis del cáncer gástrico

El desarrollo del cáncer gástrico es un proceso complejo y multifactorial en el cual intervienen factores genéticos, ambientales y la bacteria *H. pylori*. Los mecanismos específicos por los cuales se origina un tumor canceroso gástrico todavía no han sido entendidos en su totalidad; sin embargo, en los últimos años ha habido un importante progreso en el entendimiento de los aspectos celulares y moleculares que propician el desarrollo de este cáncer. Es importante resaltar que los mecanismos propios de la carcinogénesis gástrica varían de acuerdo al tipo histológico del tumor, y posiblemente de acuerdo a la localización anatómica del mismo.^{5,9, 27- 29}

La patogénesis del cáncer gástrico de tipo intestinal se caracteriza por ser un proceso progresivo, con una secuencia de eventos premalignos que inicia con una inflamación crónica o gastritis crónica, causada por la infección por *H. pylori* y/o factores asociados a la dieta.^{23, 27, 30} La persistencia de esta inflamación por periodos prologados resulta en atrofia gástrica, también conocida como gastritis crónica atrófica, que se caracteriza por la pérdida focal de glándulas y células de la mucosa gástrica, lo que conlleva a una disminución en la secreción de ácidos gástricos, o hipoclorhidria, que favorece el crecimiento de microorganismos en el estómago, aumentando así la posibilidad de que ocurran alteraciones genéticas en las células epiteliales como resultado de la acumulación de toxinas bacterianas.^{23, 27, 30} Como consecuencia de este proceso inflamatorio crónico y persistente, ocurren alteraciones en el epitelio gástrico que resultan en el desarrollo de metaplasia intestinal, que se caracteriza, entre otros cambios, por la aparición de células

globulares mucinosas típicas del epitelio intestinal (células Goblet). Posterior a esto, se da la aparición de la displasia o adenoma en donde se observan cambios histológicos en el epitelio, entre ellos formas irregulares y pérdida de la polaridad de las células intestinales; para dar origen finalmente al adenocarcinoma gástrico invasivo.^{23, 27, 30}

La patogénesis del cáncer gástrico de tipo difuso está menos comprendida. En este subtipo histológico no se observan lesiones precancerosas microscópicamente identificables, siendo la inflamación gástrica o gastritis el único aspecto en común con respecto a la patogénesis del cáncer gástrico intestinal. Sin embargo, en un grupo considerable de tumores gástricos de tipo difuso tampoco se presenta una lesión inflamatoria previa.^{27, 30} En aproximadamente el 10% de los casos de cáncer gástrico se observa agregación familiar, con dos o más parientes en primer grado afectados por la enfermedad, lo que sugiere que estos casos podrían tener un origen genético. No obstante, un 3% del total de casos de cáncer gástrico están claramente atribuidos a mutaciones en el gen que codifica para la *E-cadherina (CDH1)*, lo cual conlleva a una pérdida de la función de esta proteína. Estos últimos son mayoritariamente tumores de tipo difuso y se denominan comúnmente como adenocarcinoma gástrico hereditario difuso.³¹

Aspectos Moleculares

La carcinogénesis, en general, es un proceso que comprende varias etapas y en el que se pueden distinguir diez eventos considerados como fundamentales en la biología de esta enfermedad: la resistencia a la muerte celular, señales proliferativas mantenidas en el tiempo, evasión de los factores supresores de crecimiento, activación de mecanismos de invasión y metástasis, capacidad de replicarse indefinidamente (inmortalidad), inducción de la angiogénesis, inestabilidad genómica, inflamación favorecida por el tumor, evasión del sistema inmune y desregulación energética celular.³² Estas diez características son complementarias y permiten el crecimiento del tumor y la diseminación metastásica. Cada uno de los eventos anteriormente mencionados ocurre como consecuencia de alteraciones en una gran variedad de genes que codifican para proteínas que participan en

procesos homeostáticos normales de proliferación celular, crecimiento, apoptosis, remodelación de tejido, vascularización, inflamación y metabolismo energético, entre otros.^{32,33}

Los aspectos genéticos y epigenéticos representan un factor fundamental en el desarrollo y progresión del cáncer gástrico. Una gran variedad de alteraciones genéticas son encontradas comúnmente en las células tumorales de este tipo de cáncer. Estas alteraciones ocurren en diferentes etapas del desarrollo de la neoplasia y varían de acuerdo a los subtipos histológicos. Las mismas pueden resultar en la inducción del crecimiento y la proliferación celular, angiogénesis, activación de mecanismos de remodelación de tejido y degradación de la matriz extracelular y la invasión tisular, entre otros.^{10,27} Algunos genes comúnmente mutados o con expresión aberrante en cáncer gástrico son: el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), la interleucina 8 (IL-8), el factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF), el factor de crecimiento epidermoide (EGF) y el factor de crecimiento transformante α (TGF- α), los cuales se han asociado con invasión, estados avanzados de la enfermedad y un peor pronóstico.³⁴

Diversas alteraciones epigenéticas también han sido asociadas con el desarrollo y la progresión de cáncer gástrico, siendo la metilación en regiones específicas del ADN (islas CpG), la modificación de histonas y la remodelación de la cromatina las más estudiadas.³¹ Más recientemente, el estudio de varios tipos de ARNs no codificantes, incluyendo los microARNs y los ARNs largos no codificantes (lncRNAs), y su participación en el desarrollo y progresión del cáncer gástrico ha ganado interés por su importancia en diversos niveles de la regulación de la expresión génica.²⁸

- **Oncogenes y genes supresores de tumores**

Los oncogenes codifican para proteínas que controlan o participan en procesos celulares importantes, comúnmente alterados en cáncer, como por ejemplo la proliferación y diferenciación celular, angiogénesis, regulación del ciclo celular, entre otros. En muchos

tumores, entre ellos los gástricos, se da la activación constitutiva de uno o varios oncogenes debido a reacomodos cromosómicos, mutaciones o amplificación de genes, lo cual resulta en una excesiva proliferación celular, metástasis, angiogénesis e inmortalidad celular. Un ejemplo de lo anterior es el caso del oncogen *erbB*, que codifica para la proteína HER2, el cual es activado como resultado de la amplificación del gen.^{27, 33,35}

Los genes supresores de tumores participan en procesos celulares claves como la regulación negativa del ciclo celular y la inducción de la apoptosis. En general, varias proteínas codificadas por genes supresores de tumores son mediadores fundamentales en los puntos de revisión del ciclo celular, los cuales son sitios de control importantes para completar adecuadamente el ciclo celular. Así, las mutaciones o alteraciones epigenéticas en estos genes pueden conllevar a una pérdida del control del ciclo celular y, consecuentemente, en la posible acumulación de mutaciones e inestabilidad genética en la célula.²⁷ En consecuencia, los genes supresores de tumores pueden considerarse como reguladores negativos o contraparte de los oncogenes.

Uno de los genes supresores de tumores más conocido es *TP53*, el cual codifica para la proteína p53; p53 es una proteína multifuncional, con un papel determinante en la regulación del ciclo celular y los mecanismos de apoptosis. Esta recibe señales intracelulares que garantizan las condiciones necesarias para que se lleve a cabo el ciclo en una forma adecuada. En caso de que haya daños en el ADN, o una cantidad subóptima de nucleótidos, señales de crecimiento excesivas, niveles de glucosa u oxígeno subóptimos, p53 detiene el ciclo celular hasta que se repare el daño o se normalicen las condiciones celulares. En aquellas situaciones en las que las alteraciones moleculares o celulares son muy severas o irreparables, la proteína p53 media la activación de los mecanismos de apoptosis.³¹ Se han encontrado anomalías en p53 que se relacionan con al menos el 50% de los tumores malignos.³² La expresión anormal de esta proteína favorece el crecimiento tumoral en el cáncer gástrico avanzado, afectando consecuentemente la supervivencia de los pacientes, y también se ha relacionado con diferencias de respuesta a la quimioterapia. Las alteraciones en p53 se presentan con mayor prevalencia en el cáncer gástrico de tipo intestinal que en el de tipo difuso.^{19, 32, 34}

- **Biología de la Familia de receptores *HER***

La familia de receptores HER está compuesta por cuatro proteínas: HER1, también conocido como receptor del factor de crecimiento epidermoide (EGFR o Erb-B1), HER2 (HER2/neu, Erb-B2), HER3 (Erb-B3) y HER4 (Erb-B4). Los 4 receptores HER son muy similares en estructura y función, con una región extracelular que contiene el dominio de unión al ligando, un segmento transmembrana y un dominio citoplasmático con actividad quinasa. La unión del ligando y el receptor lleva a la formación de dímeros que activan la región tirosina-quinasa. La fosforilación de los receptores HER estimula una cascada de señales intracelulares que modula la expresión de genes involucrados en procesos celulares variados.^{5, 36-38}

Los diferentes receptores HER pueden unirse entre sí formando homodímeros o heterodímeros. A la fecha, se han descrito al menos 10 combinaciones diferentes de dímeros de HER, sin embargo, no todos son activos. Existe una alta variedad de moléculas que actúan como ligandos de receptores HER, así como diversos efectores intracelulares que modulan la actividad celular a través de diferentes vías de señalización. Por las razones anteriores, los eventos celulares que se producen en respuesta a la activación de dichos receptores son muy diversos y varían de acuerdo al dímero formado y las vías de señalización activadas.^{36, 38,39}

La cascada de señales intracelulares producto de la dimerización y consecuente activación de estos receptores incluye principalmente tres vías diferentes. La vía de PI3K/AKT, la cual es regulada por PTEN, y genera la activación de NF- κ B y mTOR. La segunda es la cascada Raf/MAPK y la tercera vía involucra PLC y PKC. Como resultado de la activación de todas estas vías se transcriben diferentes genes que están involucrados en la progresión del ciclo celular, proliferación e inmortalidad.^{36, 37}

El gen que codifica para la proteína HER2 se encuentra localizado en el cromosoma 17. Dicha proteína ha sido asociada con una variedad de vías de señalización, interacciones con proteínas citoplasmáticas y procesos celulares incluyendo la movilidad celular, invasividad, angiogénesis, resistencia a la apoptosis y potencial de metástasis.^{36, 39, 40} A

pesar de que se han identificado varios ligandos para otros miembros de la familia de receptores HER, el receptor HER2 no tiene ligandos conocidos. HER2 es, sin embargo, el receptor más comúnmente involucrado en la formación de los dímeros con los otros receptores de la familia. Se ha sugerido que HER2 puede estabilizar EGFR en una conformación que potencia la dimerización y fosforilación, aún en ausencia de ligando, formando así un complejo muy activo.^{36, 39}

En 1987, Slamon *et al.* reportaron por primera vez la relación causal entre *HER2* y el cáncer de mama.⁴¹ La alteración reportada por estos científicos para dicho gen era el resultado de una delección en el dominio de unión a ligando, la cual causa una activación constitutiva del receptor, de manera que este se mantiene activo aún en ausencia del ligando. El receptor activado provoca la fosforilación de tirosinas en su dominio intracelular, generando así interacciones con proteínas citoplasmáticas que contengan el dominio SRC u otros dominios similares de unión. Esta fosforilación de proteínas genera efectos a nivel celular como el aumento en la proliferación y disminución de la apoptosis celular, y favorece la invasión y la angiogénesis. Estos sistemas de señalización activados por el HER2 son críticos en el desarrollo celular y tisular normal, por lo que su hiperactivación y/o sobreexpresión explica algunas características patológicas del cáncer^{33,39,41} Además del cáncer de mama, la proteína HER2 ha sido también involucrada con otros tipos de cáncer, como por ejemplo colorectal, pulmón, cabeza y cuello. Más recientemente HER2 ha sido implicada en gástrico y gastroesofágico.^{33, 36, 39, 42}

Proteína HER2 y cáncer gástrico

De acuerdo con las investigaciones realizadas a la fecha, se ha determinado que la sobreexpresión de la proteína HER2 en cáncer gástrico presenta variaciones importantes a nivel mundial, con una prevalencia que oscila entre un 2% y un 45% de los casos. Esta variación podría estar asociada a varios aspectos, como por ejemplo el subtipo histológico, la localización anatómica del tumor, los criterios de interpretación de las pruebas, la población estudiada y la heterogeneidad en la expresión del receptor. En general, la proteína HER2 es sobreexpresada principalmente en casos de cáncer localizado en la

unión gastroesofágica o cardias (24-25%). Además, la prevalencia de sobreexpresión tiende a ser mayor en el subtipo histológico intestinal.^{5, 36, 43-45}

En el año 2010 se publicó el primer estudio prospectivo, randomizado, multicéntrico, fase III (estudio ToGA), en el cual se evaluó la eficacia y seguridad del uso de un anticuerpo monoclonal contra HER2, comercialmente conocido como Trastuzumab, en pacientes de adenocarcinoma gástrico avanzado y de la unión gastroesofágica con sobreexpresión de HER2 (HER2-positivos). En dicho estudio, se distribuyó de manera aleatoria una muestra de 594 pacientes en dos subgrupos, un grupo recibió Trastuzumab en combinación con agentes quimioterapéuticos comúnmente usados en el tratamiento del cáncer gástrico, mientras el segundo grupo recibió únicamente tratamiento con quimioterapia.⁴⁶ Dicho estudio demostró que la combinación del Trastuzumab con la quimioterapia extiende de forma significativa la sobrevida global de los pacientes tratados (13.8 meses trastuzumab con quimioterapia vrs 11.1 meses quimioterapia sólo),⁴⁶ además de mejorar la tasa de respuesta y la sobrevida libre de progresión, todo esto sin presentarse mayor cantidad de efectos adversos, comparado a aquellos que únicamente recibieron quimioterapia. Los resultados obtenidos en este estudio permitieron el establecimiento de esta terapia como estándar para pacientes de cáncer gástrico y gastro-esofágico avanzado, positivos para HER2.⁴⁶

Previamente, también se había demostrado el aumento de sobrevida pacientes con cáncer de mama, temprano y metastásico, tratados con trastuzumab en combinación con agentes quimioterapéuticos. Actualmente, trastuzumab representa la primera línea de tratamiento para este tipo específico de tumor. Además, los altos niveles de expresión de la proteína HER2 en cáncer de mama han demostrado ser de utilidad como factor pronóstico en estos pacientes.^{46,47}

En julio del 2010 la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) aprobó la utilización de Trastuzumab para pacientes con adenocarcinoma de estómago o de la unión gastroesofágica. Posteriormente, en octubre 2010, se otorgó la aprobación para dicho medicamento por la Food and Drug Administration de Estados Unidos (FDA) y para el año

2011 se obtuvo también la aprobación en Japón.^{43-45, 48} En todos los casos, el tratamiento con este agente se prescribe únicamente a aquellos pacientes con tumores positivos para HER2. Los criterios aceptados por dichas entidades para la determinación del estatus de HER2 se basan en análisis de inmunohistoquímica (IHC) e hibridación *in situ* con sondas marcadas con fluorescencia (FISH), y el análisis semi-cuantitativo de las mismas.⁴³

Técnicas para determinar el estatus de HER2 y criterios para el análisis semi-cuantitativo.

La administración del Trastuzumab ha sido recomendada para pacientes con adenocarcinoma gástrico clasificado como localmente avanzado, metastásico no resecable o recurrente, positivos para HER2. Como se mencionó anteriormente, la metodología actualmente aceptada para el tamizaje es la IHC, y en caso de que esta tenga un resultado no concluyente se realiza la prueba de FISH como prueba confirmatoria. El sistema de puntaje que se utiliza actualmente para el “scoring” de HER2 en cáncer gástrico es el desarrollado por Hoffman *et al.*⁴⁹ De acuerdo con dicho sistema, las biopsias con inmunoreactividad en menos del 10% de las células cancerosas (IHC=0) o aquellos con una inmunoreactividad apenas perceptible en 10% o más células cancerosas (IHC=1) se consideran negativas para HER2. En los casos donde se observa una inmunoreactividad débil a moderada en membranas basolaterales o laterales en más del 10% de las células cancerosas (IHC=2) la sobreexpresión del HER2 se considera no concluyente, por lo que recurre al análisis por FISH como prueba confirmatoria. En aquellos casos en los que el análisis por FISH demuestra la existencia de amplificación del gen que codifica para HER2 ($Her2/CEN17 > 2$) el paciente se considera positivo, mientras que los casos en los que esta razón es menor a 2 se considera negativo al paciente. Por último, cuando la reactividad por IHC en membranas basolateral o lateral es fuerte y se observa en más del 10% de las células cancerosas (IHC=3), se considera al caso como HER2 positivo. Con base en dichos criterios de puntaje, a los pacientes considerados como positivos se les administra Trastuzumab como parte de la terapia.^{5, 46-47, 49-50} Recientemente, se han introducido algunas modificaciones de la técnica FISH, específicamente el marcaje de las sondas con

plata (SISH) y cromógenos no fluorescentes (CISH). Dichas modificaciones facilitan considerablemente la manipulación y evaluación de la hibridación *in situ*.⁴²⁻⁴⁴ Para la prueba de IHC se han validado y aprobado por la FDA la utilización de un anticuerpo policlonal (HercepTest), así como la de un anticuerpo monoclonal (Pathway), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos.^{42,45}

Es importante considerar una serie de aspectos prácticos al llevar a cabo la determinación del estatus de HER2 para asegurar la buena calidad de las pruebas y la obtención de resultados fidedignos. Se pueden utilizar muestras de tejido obtenidas a partir de piezas quirúrgicas o biopsias endoscópicas, sin embargo es importante tomar en cuenta que el tiempo que transcurre entre la obtención del tejido y la fijación del mismo en formalina puede afectar los resultados, por lo que ésta debe hacerse en el mínimo tiempo posible (se recomienda documentar estos tiempos). Cuando se trata de biopsias endoscópicas, existe mayor posibilidad de que los resultados no sean concluyentes debido al tamaño generalmente pequeño de las mismas, así como a la heterogeneidad característica de la expresión de HER2. Por lo anterior, se recomienda obtener de seis a ocho biopsias endoscópicas y en diferentes puntos del tumor canceroso.^{42-43, 51-52} Es también importante utilizar reactivos o kits previamente validados para llevar a cabo las pruebas de IHC y FISH, con el fin garantizar la consistencia y exactitud de los resultados. En laboratorios en donde se inicie la optimización y validación de las pruebas de diagnóstico para HER2, los primeros 25-50 casos deben ser analizados en paralelo usando IHC y FISH. La tasa de concordancia entre ambas pruebas debe ser similar a la reportada para HER2 en cáncer de mama.⁴³

Terapia utilizada en cáncer gástrico avanzado

La quimioterapia en cáncer gástrico avanzado o metastásico tiene como objetivo principal la paliación de los síntomas y la mejoría en la supervivencia y calidad de vida del paciente. A pesar de los avances que se han dado en los últimos años en relación con el tratamiento del cáncer gástrico, este sigue asociado a un pronóstico pobre. Nuevos agentes citotóxicos

y regímenes quimioterapéuticos más efectivos han sido desarrollados y se han venido aplicado, sin embargo, el pronóstico para los pacientes de cáncer gástrico avanzado sigue siendo pobre, y la toxicidad de las combinaciones de medicamentos continúa limitando el uso.^{36,51} Las fluoropirimidinas, platinos, taxanos e irinotecán, son considerados los agentes citotóxicos más activos para este tumor.^{5,52-53}

Al inicio de la década de los años 80, la combinación de 5-fluorouracilo (5-FU), doxorrubicina y mitomicina (FAM), se consideró el estándar de oro para pacientes con cáncer gástrico avanzado.⁵⁴ Los resultados del estudio realizado por el NCCTG (North Central Center Treatment Group) en el que se comparó tres grupos: FAM, 5- FU sólo, y 5-FU combinado con doxorrubicina, no demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en cuanto a la sobrevida, pero si una mayor tasa de respuesta en las terapias combinadas en comparación con la monoterapia.⁵ El 5-FU así como las fluoropirimidinas de más reciente aplicación, siguen siendo los fármacos más importantes en el tratamiento del cáncer gástrico irresecable. Los efectos clínicos-terapéuticos de las fluoropirimidinas aumentan cuando se combinan con platinos.⁵¹

En las últimas tres décadas, múltiples estudios randomizados han comparado diferentes regímenes de combinación. La combinación de 5-FU, leucovorina y oxaliplatino es una alternativa adecuada para los pacientes con cáncer gástrico avanzado ó metastásico, con mejoría en la sobrevida libre de progresión, cuando se compara con 5-FU, leucovorina y cisplatino.⁴⁵ Actualmente el régimen que incluye 5-FU, antraciclina y cisplatino ha demostrado tener resultados positivos en relación a la sobrevida y calidad de vida del paciente.^{5,52} Un meta-análisis realizado en el 2008, con los pacientes que participaron en los estudios REAL-2 y ML17032, demostró superioridad en sobrevida global en los pacientes tratados con dobletes o tripletes que incluyen capecitabina, comparados con aquellos que incluyen 5-FU.⁵⁴

En los últimos años, nuevas drogas activas para el tratamiento de cáncer gástrico avanzado están siendo probadas. El estudio SPIRITS, un estudio fase III realizado en Japón, analizó la eficacia de una nueva fluoropirimidina oral, conocida como S-1, como

monoterapia y en combinación con cisplatino como primera línea de tratamiento para este tipo de tumores. Los resultados demostraron una supervivencia global superior de 13 meses versus 11 meses en el grupo de pacientes que recibió la terapia combinada que con la monoterapia. No obstante, se requieren estudios posteriores para demostrar la eficacia de esta nueva droga en el hemisferio occidental.^{5,56-58}

En relación a la terapia blanco o terapia dirigida, diversos agentes han sido estudiados en el cáncer gástrico avanzado. La seguridad y eficacia de bevacizumab, erlotinib, sorafenib y cetuximab se han evaluado en estudios fase II. Actualmente se están llevando a cabo estudios fase III para confirmar los resultados del uso de estas terapias biológicas en combinación con la quimioterapia para este tipo de tumor.⁵ El estudio REAL-3, un estudio fase II/III, evaluó la seguridad del panitumumab (P), una inmunoglobulina G2 que actúa sobre EGFR, en combinación con epirrubicina, oxaliplatino y capecitabina (EOC), evidenciando un aumento de las toxicidades de la terapia que incluye al anticuerpo monoclonal.⁵⁵ Uno de los medicamentos con resultados positivos para los pacientes con cáncer gástrico avanzado o metastásico que progresan a la primera línea de tratamiento, es el Ramucirumab. El Ramucirumab es un anticuerpo monoclonal que actúa sobre el receptor del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGFR-2).⁵⁹⁻⁶⁰ A pesar de la variedad de tratamientos debidamente aprobados y en fases de estudio que están disponibles en la actualidad para tumores malignos avanzados o metastásicos localizados en la zona gástrica, aun no existe un único estándar terapéutico internacional que evidencie una mejor respuesta y supervivencia para los pacientes.^{5,52}

Cáncer gástrico en Costa Rica

El cáncer gástrico es la segunda causa de muerte por cáncer y uno de los tumores más prevalentes en Costa Rica, presentándose en el 2014 como el quinto tumor más incidente en mujeres y el tercero en hombres.^{1, 61-64} La tasa de mortalidad en el año 2014 en Costa Rica fue de 7.99 por cada 100000 mujeres y 15.49 por cada 100000 hombres.⁶³ Al igual que la tendencia global, las tasas de incidencia y mortalidad para este tipo de cáncer en Costa Rica muestran una tendencia a la disminución en los últimos años, por razones que

se desconocen.^{1, 61, 65} En el año 2000 la tasa de mortalidad era de 45.4 por cada 100000 hombres y 19.7 por cada 100000 mujeres, siendo la principal causa de muerte por cáncer. Para el año 2007, el cáncer gástrico pasó a ocupar el segundo lugar en mortalidad, tanto en hombres como en mujeres, con tasas de mortalidad de 15.8 por cada 100000 hombres y de 9.08 por cada 100000 mujeres.⁶⁵ De igual forma, las tasas de incidencia para dicha neoplasia en Costa Rica presentan una tendencia descendente sostenida en ambos sexos. En el año 2000 la tasa de incidencia en la población masculina era de 51.8 por cada 100000 hombres, la cual disminuyó a 22.96 en el 2007, hasta alcanzar una tasa de 18.45 en el 2014.⁶⁴⁻⁶⁵ Esta misma tendencia a la baja se observa en la población femenina en el mismo periodo de tiempo. Para el año 2000 la tasa de incidencia por cada 100000 mujeres era de 19.54, disminuyendo a 13.72 en el 2007, y alcanzando una tasa de 11.43 en el 2014.⁶⁵

Es importante resaltar que existen regiones claramente definidas como de alto y bajo riesgo de cáncer gástrico, con diferencias importantes en las tasas de incidencia y mortalidad.^{62,65} Cartago y San José son las provincias con mayor incidencia de cáncer de estómago.⁶⁵ La provincia con menor tasa de incidencia es Limón para el sexo masculino, y Heredia para en el sexo femenino.⁶⁵⁻⁶⁶

A pesar de la disminución que se ha observado en la incidencia de cáncer gástrico en el país, la mortalidad del mismo sigue siendo alta y el diagnóstico de la enfermedad se da generalmente en estadíos muy avanzados, lo que dificulta el manejo terapéutico del paciente.

Capítulo II

1. Justificación

El cáncer gástrico es una de las principales causas de muerte por cáncer y una de las neoplasias de mayor incidencia, tanto en hombres como en mujeres en Costa Rica.^{61, 65} En el país existen zonas de alto y bajo riesgo para el desarrollo de esta patología claramente establecidas.⁶⁵ No obstante, la prevalencia de la infección por *H. pylori* es alta tanto en las regiones de alto como de bajo riesgo y el establecimiento de la infección ocurre en edades muy temprana.⁶⁶ Las investigaciones realizadas a la fecha en Costa Rica no han logrado descifrar las razones que explican estas características, ni el porqué de la alta incidencia y mortalidad en la población costarricense. Actualmente, Costa Rica no posee una infraestructura adecuada para implementar programas masivos de detección temprana de cáncer gástrico, similares a los que funcionan en Japón, a excepción de un único centro creado para tal propósito en la ciudad de Cartago.⁶⁷ Tampoco se han logrado desarrollar metodologías no invasivas que permitan evaluar el perfil de riesgo de las personas o llevar a cabo la detección de lesiones gástricas precancerosas por medio de marcadores biológicos en sangre, a pesar de los resultados prometedores que han sido obtenidos con ciertos marcadores, como por ejemplo los pepsinógenos.⁶⁸⁻⁶⁹

Para el tratamiento del cáncer gástrico, la cirugía sigue siendo la mejor opción curativa, sin embargo sólo entre un 30-60% de los pacientes pueden someterse a una resección quirúrgica, debido a la alta proporción de casos con tumores en estadios avanzados o metastásicos, irresecables al momento del diagnóstico.⁵ Aunado a esto, la tasa de recurrencia en pacientes operados de cáncer gástrico es elevada, de hasta el 60%.^{5,70} En estos casos la terapia farmacológica se convierte en la opción más adecuada para su tratamiento. A pesar de los beneficios en sobrevida que se han observado con las terapias combinadas, muchos pacientes no responden a los regímenes de tratamiento existentes y el pronóstico del cáncer gástrico avanzado sigue siendo muy pobre. Por estas razones, se hace estrictamente necesario la búsqueda e implementación de nuevas opciones para el tratamiento de esta neoplasia.^{5, 46, 71,}

El manejo terapéutico del cáncer gástrico en Costa Rica está regido por la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS). El mismo se lleva a cabo siguiendo los lineamientos internacionales establecidos por la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO), La Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) y el National Comprehensive Cancer Network (NCCN), quienes establecen los esquemas terapéuticos con mayor evidencia para el tratamiento de los pacientes con cáncer gástrico avanzado o metastásico.^{5,52} A la fecha, no se ha llevado a cabo un estudio sistemático a nivel local, para evaluar los beneficios que confieren las terapias adyuvantes o paliativas utilizadas en el país para el tratamiento de los pacientes de cáncer gástrico. Dicha evaluación es relevante porque permitiría optimizar mejor el manejo terapéutico de los pacientes, de una forma más personalizada, en función de las características histopatológicas y fisiológicas del tumor, la respuesta a los agentes y la incidencia de efectos adversos, entre otros. Esto también contribuiría a la optimización de los recursos económicos destinados al tratamiento de los pacientes de cáncer gástrico en Costa Rica.

La aprobación del Trastuzumab para el tratamiento de cáncer gástrico avanzado con expresión positiva de HER2 por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y por la Food and Drug Administration de Estados Unidos (FDA), amplía las opciones de tratamiento para este tipo de tumor, sobre todo en países con alta incidencia y mortalidad como es el caso de Costa Rica.^{43,45-46, 72-74} No obstante, existe una amplia variación en la prevalencia de casos positivos para HER2 en las diferentes zonas geográficas del mundo. En Costa Rica, no se ha llevado a cabo un estudio para estimar la prevalencia de casos de cáncer gástrico positivos para la expresión de esta oncoproteína. La determinación de la prevalencia de lesiones malignas positivas para HER2 en la población costarricense de cáncer gástrico es de importancia para establecer la relevancia de esta alteración genética en la etiología de la enfermedad, y como factor pronóstico del cáncer gástrico en Costa Rica. Esto sería de utilidad para optimizar las opciones de tratamiento de los pacientes con tumores gástricos positivos para HER2.

El uso de Trastuzumab en pacientes de cáncer gástrico se basa enteramente en la sobreexpresión de la proteína HER2 y/o amplificación del gen que codifica para la misma

en las células de cáncer, como criterio de clasificación. La inmunohistoquímica (IHC) y la hibridación *in situ* de fluorescencia (FISH) son las técnicas internacionalmente aceptadas y validadas para determinar la expresión de la proteína HER2 y comprobar la amplificación del gen, respectivamente.⁴⁶ De acuerdo los criterios dictados por EMA y FDA, ambas metodologías deben utilizarse de forma complementaria en los laboratorios en donde se realice el diagnóstico molecular para HER2.^{5,46} En Costa Rica, se aprobó el uso del Trastuzumab en el año 2011, no obstante, a la fecha, las pruebas no se realizan en forma regular y sólo algunos centros de los hospitales tiene la capacidad de realizar el FISH en caso de que se requiera. Sin embargo no se ha validado el procedimiento para cáncer gástrico, como si lo está para cáncer de mama. Lo anterior implica que se podría estar excluyendo a pacientes que podrían resultar beneficiados del tratamiento con dicho agente farmacológico. Por lo anterior, la optimización de la técnica FISH en Costa Rica es de suma importancia, de manera que ambas metodologías se apliquen de forma rutinaria en los hospitales costarricenses y se les pueda brindar la mejor opción de tratamiento a los pacientes de cáncer gástrico en el menor tiempo posible.^{5,52}

2. Preguntas de Investigación

¿Cuál es la mejor forma de tratar a un paciente de cáncer gástrico avanzado o cáncer gástrico metastásico de acuerdo a las características propias de su enfermedad, a las variables clínico-patológicas y a las opciones terapéuticas existentes en Costa Rica?

¿Cuál es la prevalencia de casos positivos para HER2 entre pacientes de cáncer gástrico avanzado en Costa Rica, seleccionados de acuerdo a variables histopatológicas que sugieren la sobreexpresión de esta oncoproteína?

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar los beneficios de las diferentes terapias farmacológicas utilizadas en Costa Rica para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable, y estandarizar la técnica de hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) para el oncogén *c-erbB-2/HER2* como prueba confirmatoria para el uso de Trastuzumab.

3.2 Objetivos específicos

- I. Determinar la sobrevida global de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable, con respecto a variables clínico-patológicas y/o régimen de farmacoterapia utilizada.
- II. Determinar la sobrevida libre de progresión de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable, con respecto a variables clínico-patológicas y/o al régimen de farmacoterapia utilizada.
- III. Determinar el número de días de hospitalización y el número de hospitalizaciones requeridos por los pacientes con cáncer gástrico avanzado o metastásico, debido a complicaciones de la terapia farmacológica y de la enfermedad, de acuerdo al régimen de farmacoterapia utilizado.
- IV. Estimar la proporción de casos de cáncer gástrico con sobreexpresión del oncogén *c-erbB-2/HER2* en pacientes a los que se les realizó previamente las pruebas de IHC y/o FISH.
- V. Optimizar y validar la técnica FISH como metodología de tamizaje para los casos con valores inciertos de HER2 (score 2+) por inmunohistoquímica, para el uso de la misma en Costa Rica.

Capítulo III

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio es una investigación retrospectiva la cual se realizó en dos fases. La primera de ellas fue la revisión de expedientes clínicos de pacientes que fueron diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico entre enero del 2009 y enero del 2012, con el objetivo de evaluar la respuesta a los tratamientos utilizados en nuestro país. La segunda fase fue la realización de las pruebas de inmunohistoquímica (IHC) y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en muestras quirúrgicas de tejido parafinado de 50 pacientes diagnosticados con cáncer gástrico en el Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia, con el fin de estandarizar la técnica FISH para el oncogén *c-erbB-2/HER2* como prueba confirmatoria para el uso de Trastuzumab.

FASE I: Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos

Para la ejecución de esta parte de la investigación fue necesario obtener la autorización por parte del Comité Ético Científico (CEC) de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (#817-B2-371) y del Comité Ético Científico Institucional de la CCSS (CECI), junto con las respectivas aprobaciones de cada uno de los centros médicos donde se llevó a cabo el estudio (R013-SABI- 00048)(Anexos 1 y 2).

Población de estudio

Para la realización de la fase I del estudio, se solicitó el expediente clínico del total de pacientes que fueron diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable en el periodo comprendido entre enero del 2009 y enero del 2012 en los 4 hospitales que contaban con servicio de Oncología Clínica y servicio de Farmacia Oncológica al momento del estudio: Hospital Max Peralta, Hospital México, Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia y Hospital San Juan de Dios.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron en el estudio los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico avanzado y/o metastásico irresecable entre enero 2009 y enero del 2012, mayores de edad, para los cuales se contaba con el expediente clínico, y que hubieran recibido tratamiento con alguno de los siguientes regímenes aprobados y utilizados en Costa Rica:

- FEC: 5FU, epirrubicina, cisplatino
- EOC: epirrubicina, oxaliplatino, capecitabina
- DCF: docetaxel, cisplatino y 5FU
- FOLFOX: oxaliplatino, 5FU y leucovorina
- XELOX: capecitabina, oxaliplatino
- Trastuzumab, capecitabina y cisplatino
- Trastuzumab, cisplatino, 5FU
- 5FU + Radioterapia

También se incluyeron aquellos pacientes que fueron diagnosticados con cáncer gástrico en un periodo anterior a enero del 2009, pero que iniciaron el primer tratamiento con alguna terapia farmacológica en el periodo comprendido por el estudio.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Menores de 18 años
- Tratamiento del cáncer por medio de algún régimen de tratamiento distinto a los anteriormente mencionados

Recolección de datos clínicos

Para la recolección de los datos, se realizó una revisión de los expedientes clínicos de los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión. A partir de estos registros, se recolectó información correspondiente a las siguientes variables epidemiológicas, clínicas e histopatológicas:

- Fecha de nacimiento
- Sexo
- Lugar de procedencia geográfica del paciente

- Localización anatómica del tumor
- Subtipo histológico del tumor
- Estadío de la enfermedad al ingreso del estudio
- Número de metástasis y localización de las mismas
- Estado funcional del paciente o ECOG al diagnóstico de la enfermedad
- Tratamiento previo a la farmacoterapia (cirugía, radioterapia, ninguna)
- Fecha de cirugía
- Disección ganglionar quirúrgica
- Fechas de Tratamiento
- Número de hospitalizaciones durante el tratamiento
- Razón de ingreso de las hospitalizaciones
- Número de días hospitalizado
- Medicamentos y dosis utilizadas durante la hospitalización
- Fecha en que se suspende o termina la terapia
- Estatus HER2 (Positivo, negativo, no determinado)
 - IHC (fecha de realización y resultado obtenido)
 - FISH (fecha de realización y resultado obtenido)
- Razón de suspensión de la terapia (progresión de la enfermedad, efectos secundarios, fallecimiento)
- Fecha de fallecimiento (si el paciente había fallecido)

El seguimiento en los pacientes incluidos en el estudio se realizó hasta enero 2016, fecha fijada para cierre de recolección de datos (fecha de censura), o al momento en que los pacientes fallecieron. La información obtenida de los expedientes clínicos en relación con la sobrevida y defunciones de los pacientes incluidos en el estudio fue corroborada con el Registro Civil y el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), posterior al cierre de recolección de datos (enero 2016). Todas las variables anteriormente mencionadas se registraron en un formulario de recolección de datos, diseñado especialmente para este estudio (Anexo 3).

Para efectos de este estudio, la Sobrevida Global (OS) se entiende como el tiempo transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad (fecha del reporte patológico del tumor) y la fecha de fallecimiento, o la establecida en este estudio como fecha de censura. En los casos en los que no se realizó reporte patológico se utilizó la fecha de la endoscopia diagnóstica. La sobrevida libre de progresión (PFS) es el tiempo transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad (definido igual que para la OS) y el momento de la progresión de la enfermedad. Se considera como progresión de la enfermedad la aparición de metástasis, el aumento del tamaño del tumor o el fallecimiento del paciente.

Análisis estadístico

- Cálculo del tamaño muestral

La muestra requerida para la realización de este estudio se determinó con respecto a los datos históricos (3 años: 2008 - 2010) del número de casos de cáncer gástrico diagnosticados al año en Costa Rica y el número de casos de cáncer gástrico nuevos atendidos al año en cada uno de los hospitales incluidos en el estudio. Se incluyó en el estudio a todos los hospitales que durante el periodo de enero 2009 a enero 2012 contaran con servicio de Oncología Médica y Farmacia Oncológica.

De acuerdo con la información proporcionada por el Registro Nacional de Tumores (RNT) y la Unidad de Seguimiento de Indicadores en Salud, Dirección de Vigilancia en Salud del Ministerio de Salud y con los datos país del porcentaje de pacientes que se diagnostican con cáncer gástrico en estadíos avanzados (60%), en los cuatro hospitales incluidos en el estudio se diagnostican en promedio 250 casos de cáncer gástrico avanzado al año. En Costa Rica, no se tienen datos de la supervivencia promedio de estos pacientes, sin embargo los estudios clínicos de fase III y IV llevados a cabo en otras latitudes indican que la sobrevida promedio de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable es de 2.5 a 3 meses, y que los agentes quimioterapéuticos existentes extienden la sobrevida entre 9 y 11 meses. Usando estos datos, se estimó que

con una muestra de 500 pacientes, el poder estadístico para el presente estudio es de 80% ($\alpha= 0.05$).

- Análisis

La información recolectada se procesó, digitalizó y manejó en bases de datos en archivos del paquete estadístico Excel (Microsoft Office). El análisis estadístico se hizo por grupos, un primer grupo de pacientes con cáncer gástrico avanzado operable, un segundo grupo de pacientes con cáncer gástrico metastásico y un tercer grupo de pacientes con cáncer gástrico avanzado no metastásico irresecable.

Las variables categóricas fueron comparadas con el uso de la prueba Chi-cuadrado y las continuas con el uso de la prueba de T-student. Se realizó un análisis de supervivencia global (OS) y libre de enfermedad por medio del método Kaplan-Meier, tomando el tiempo de seguimiento a partir del primer procedimiento quirúrgico o médico que recibió el paciente, o bien a partir del diagnóstico de cáncer en los sujetos con enfermedad metastásica que no recibieron ningún tratamiento, hasta la fecha de censura (enero de 2016) o muerte. Se empleó la prueba de Log-rank para comparar las curvas de supervivencia global o libre de progresión según los estratos analizados. Un análisis de regresión de COX fue empleado para calcular el Hazard Ratio (HR) de la probabilidad de supervivencia global y sobrevida libre de progresión según las variables estudiadas. Un valor de $p<0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. Se empleó el paquete estadístico SPSS 19.0 para Mac (Chicago, IL, USA)

FASE II: Estandarización y Validación de las pruebas de IHC y FISH

Para la ejecución de esta fase fue necesario obtener la autorización por parte del Comité Ético Científico (CEC) de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (#817-B2-371) y del Comité Local de Bioética del Hospital Calderón Guardia (CLOBI-01-01-2015) (Anexo 4).

Muestras de estudio

Se utilizaron 50 muestras quirúrgicas de tejido parafinado, obtenidas a partir de pacientes que fueron operados de cáncer gástrico entre el 2012 y el 2015. Estas muestras se encontraban almacenadas en el banco de tejido del Departamento de Patología del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia. La selección de los bloques de tejido parafinado para esta fase no fue al azar, pues se trató en la medida de lo posible de utilizar lesiones de cáncer gástrico avanzado o metastásico, de localización anatómica distal y subtipo histológico intestinal. Estas características, de acuerdo con la literatura, aumentan la probabilidad de encontrar sobreexpresión de la oncoproteína HER2. No todas las muestras cumplieron, sin embargo, con estas características. Finalmente, se seleccionó 3 bloques de tejido parafinado de cáncer de mama a los que se les había realizado previamente IHC y FISH para HER2, de los cuales uno había resultado ser positivo para HER2 y dos negativos, razón por la que se utilizaron como controles positivo y negativos, respectivamente.

Inmunohistoquímica (IHC)

Las pruebas de IHC se realizaron en el laboratorio #3 del Programa de Especial Interés Institucional Epidemiología del Cáncer, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica (UCR). Para la realización de estas se utilizó Hercept Test Kit (código K520421; Dako, Glostrup, Dinamarca) siguiendo las instrucciones del fabricante con algunas modificaciones, entre ellas la utilización del horno procesador de tejidos marca Milestone modelo KOS para la incubación y recuperación antigénica, la utilización de gradilla Shandon para aplicación del anticuerpo primario y modificaciones en el tiempo de incubación y recuperación antigénica (ver protocolo utilizado en el anexo 5).

La estandarización del protocolo para llevar a cabo la IHC se realizó utilizando cortes de 5 μm de grosor de los tejidos de cáncer de mama con expresión de HER2 ya conocida (controles positivo y negativos, descritos anteriormente). Una vez estandarizado el protocolo se procedió a la realización de las pruebas en cortes de 5 μm de grosor de los 50

bloques de tejido de cáncer gástrico. Se incluyó un control positivo y un control negativo cada vez que se realizaba un procedimiento de tinción de IHC (8 láminas de cáncer gástrico, 1 control positivo y 1 control negativo por ronda de tinción). Las tinciones fueron posteriormente evaluadas haciendo uso de un microscopio Olympus BX43 del Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (CIEMIC), UCR. Las evaluaciones fueron posteriormente confirmadas por la Dra. Yolanda Roa, Patóloga del Servicio de Patología del Hospital Calderón Guardia.

Hibridación in situ por Fluorescencia

Las pruebas de FISH se realizaron en el Laboratorio #3 del Programa de Especial Interés Institucional Epidemiología del Cáncer, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), UCR. Para la realización de las pruebas se utilizó el kit HER2 pharmDx™ Kit (código K5331/K5599; Dako; donación de la empresa MAKOL Costa Rica). Para llevar a cabo las pruebas de FISH se siguió las indicaciones del fabricante con algunas modificaciones, principalmente en el proceso de desparafinación de las láminas (ver protocolo utilizado en el anexo 6). Primeramente, se procedió a optimizar el protocolo de FISH en cortes de 5 µm de grosor de los tejidos de cáncer de mama con expresión de HER2 conocida (controles) y de los tejidos de cáncer gástrico que resultaron positivas para HER2 mediante IHC. En los experimentos de optimización también se incluyó láminas control de las que vienen como parte de los materiales que contiene el kit.

Una vez estandarizado el protocolo para llevar a cabo las pruebas de FISH, se hicieron cortes histológicos de 5 µm de grosor a partir de los 50 bloques de tejidos de cáncer gástrico y se procedió a realizar la prueba de FISH. Las pruebas de FISH fueron llevadas a cabo posterior a la realización de las pruebas de IHC. La evaluación de las pruebas de FISH se llevó a cabo entre los 30 minutos y las 24 horas posteriores a la finalización del protocolo, para lo cual se utilizó un microscopio Nikon Eclipse 80i del Laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Calderón Guardia.

Capítulo IV

RESULTADOS

Fase I: Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos

Para esta fase del proyecto se llevó a cabo un análisis de expedientes clínicos de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico en el periodo de enero 2009 a enero 2012 en los hospitales México, San Juan de Dios, Rafael Ángel Calderón Guardia y Max Peralta (ver materiales y métodos). De los 1565 expedientes solicitados a los servicios de archivo correspondientes, no fue posible localizar 765 (48%), los cuales correspondían a expedientes pasivos, pacientes difuntos, expedientes microfilmados, etc. De los 800 expedientes a los que si se tuvo acceso, 310 (38.7%) no cumplieron los criterios de inclusión fijados para este estudio por lo que fueron excluidos de la investigación, incluyendo 212 expedientes que presentaron cáncer gástrico temprano. Finalmente, se contó con 490 expedientes para la realización de este estudio. La figura 1 detalla el esquema de selección de los expedientes clínicos.

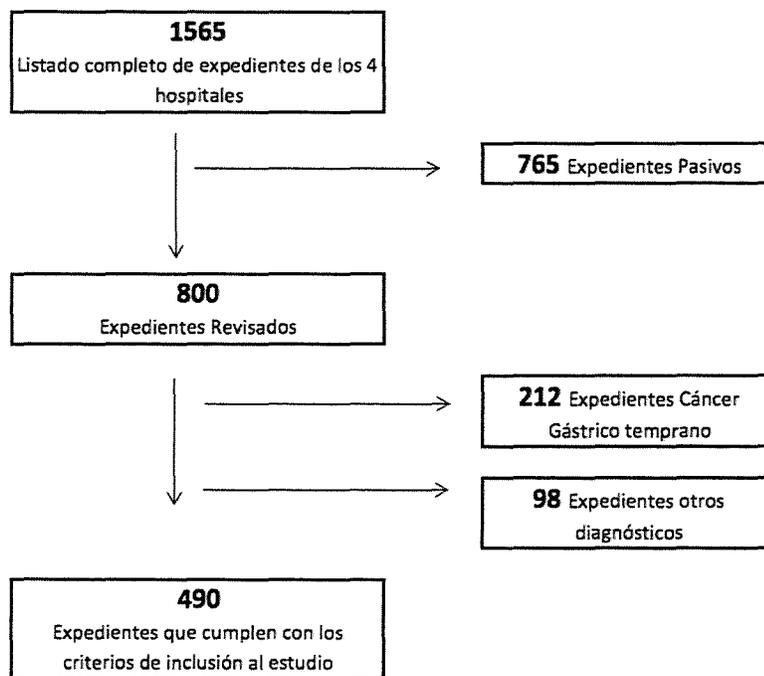


Figura 1. Esquema de selección de los expedientes clínicos

El cuadro 1 resume las principales características demográficas de los 490 pacientes incluidos en el estudio. Se desprende de este cuadro que el número de expedientes revisados fue muy similar entre los 4 hospitales y que la mayoría de pacientes eran de la provincia de San José. La edad promedio de los pacientes incluidos en el estudio era de 61.8 ± 14.6 años (ámbito: 18- 94).

CUADRO 1

Características demográficas del total de pacientes incluidos en el estudio

Variable	Número pacientes (%)
Hospital	
Calderón Guardia	135 (27.6)
México	133 (27.1)
San Juan de Dios	124 (25.3)
Max Peralta	98 (20.0)
Sexo	
Masculino	282 (57.6)
Femenino	208 (42.5)
Provincia procedencia	
San José	210 (42.8)
Cartago	90 (18.4)
Alajuela	60 (12.2)
Limón	49 (10.0)
Heredia	31 (6.3)
Puntarenas	28 (5.7)
Guanacaste	22 (4.5)

Para este estudio, los cinco cantones con mayor número de casos de cáncer gástrico avanzado son San José (10.4%) Cartago (6.9%), Desamparados (6.1%), Goicoechea (4.3%), Paraíso y Pococí (3.3%). Para el estudio de sobrevida, la mediana de seguimiento del estudio fue de 14.63 meses; la mediana de sobrevida libre de progresión (PFS) fue de 12.9 meses (IC 95%: 10.4-15.3) y la mediana de supervivencia global (OS) de 14.7 meses (IC 95%: 11.8 – 17.7).

En relación al estadio de los pacientes incluidos en el estudio, un 24.1% presenta estadio ganglionar N3 (más de 7 ganglios afectados) (Cuadro 2). Este factor es particularmente importante para determinar el pronóstico de los pacientes y el manejo terapéutico que se va a realizar.⁷⁰

CUADRO 2

Clasificación de los pacientes incluidos en el estudio de acuerdo al TNM

Estadio TNM	Número de pacientes (%)
Tamaño Tumoral	
T0	1 (0.2)
T1	0 (0.0)
T2	9 (1.8)
T3	254 (51.8)
T4	165 (33.7)
ND	61 (12.4)
Estadio Ganglionar	
N0	76 (15.5)
N1	89 (18.2)
N2	84 (17.1)
N3	118 (24.1)
ND	123 (25.1)
Metástasis a distancia	
M0	322 (65.7)
M1	168 (34.3)

ND: no disponible

El cuadro 3 resume el estadiaje de los pacientes de acuerdo al TNM. De acuerdo a esta clasificación, los estadiaje IA y IB se consideran cáncer temprano. La mayoría de los pacientes (34.3%) fueron clasificados en estadio IV. Nueve pacientes fueron clasificados como IB, sin embargo estos presentaban invasión de la pared gástrica hasta la muscular propia (T2N0M0), razón por la cual estos 9 casos aparecen clasificados en los expedientes clínicos como cáncer gástrico avanzado.⁵

CUADRO 3

Estadío TNM de los pacientes incluidos en el estudio

Estadío	Número de pacientes (%)
IB	9 (1.8)
IIA	49 (10.0)
IIB	75 (15.3)
IIIA	57 (11.6)
IIIB	68 (13.9)
IIIC	18 (3.7)
IV	168 (34.3)
ND	46 (9.4)

ND: no disponible

Algunas otras variables clínico-patológicas de los 490 pacientes incluidos en este estudio se presentan en el cuadro 4. En la mayoría de los pacientes el tumor estaba localizado en cuerpo y fondo gástrico. En 16 casos (3.3%), el cáncer abarcaba hasta tres zonas del estómago y 1 paciente lo presentaba en todo el estómago. Es interesante hacer notar que para algunas variables, como por ejemplo invasión linfática e invasión vascular, hay un gran problema de registro pues el porcentaje de datos no disponibles llega a ser mayor al 40% (cuadro 4).

CUADRO 4

Caracterización clínico-patológica de la población de estudio

Variable	Número de pacientes (%)
Clasificación Bormann	
1	14 (2.9)
2	83 (16.9)
3	232 (47.3)
4	61 (12.4)
ND	100 (21.4)
Sitio de Localización del Tumor	
Cuerpo	334 (68.2)
Fondo	203 (41.4)
	93 (18.9)

Antro	48 (9.8)
Píloro	11 (2.2)
ND	
Invasión Vascular	
Presente	130 (26.5)
Ausente	131 (26.8)
ND	229 (46.7)
Invasión Linfática	
Presente	200 (40.8)
Ausente	82 (16.8)
ND	208 (42.2)
Escala del estado Funcional (ECOG)	
1	276 (56.3)
2	50 (10.2)
3	29 (5.9)
4	11 (2.2)
ND	124 (25.3)

ND: no disponible

De los 490 pacientes incluidos en el estudio, 276 (56.4%) fueron sometidos a cirugía y de estos un 9.1% presentaban metástasis a órganos distantes, por lo que la cirugía se realizó con fines paliativos. Del total de gastrectomías realizadas, 113 (40.9%) fueron cirugías totales y 163 (59.1%) parciales. La cirugía con disección extendida o D2 se realizó en la mayoría de los pacientes (78.3%). El promedio de ganglios disecados fue de 23.5 por paciente (Cuadro 5). En este estudio, se determinó que a 60 pacientes se le disecaron menos de 15 ganglios, lo que corresponde a un 25.8% .

De los 214 (43.7%) pacientes a los que no se les practicó gastrectomía, un 67.5% se encontraban en estadio IV o presentaban más de 7 ganglios afectados por la enfermedad (N3) al momento del diagnóstico. Por su parte, un 15.8% de los pacientes no presentaban condiciones de salud aptas para someterse a este procedimiento quirúrgico, o decidieron no realizarse la cirugía a pesar de tener un estadio y condiciones de salud aptas para la realización de este.

CUADRO 5

Descripción de los de los procedimientos quirúrgicos realizados en los pacientes con cáncer gástrico avanzado

Procedimiento	n (%)
Cirugía	
No operados	214 (43.7%)
Gastrectomía	276 (56.4%)
Gastrectomía en pacientes no metastásicos	237 (48.6%)
Resección gástrica	
Total	113 (40.9%)
Parcial	163 (59.1%)
Tipo de disección	
D1	27 (9.8%)
D2	216 (78.3%)
Promedio de ganglios disecados	23.5 ganglios \pm 13.6 [rango: 2 – 86 ganglios]
Estado de márgenes quirúrgicos	
R1	42 (15.2%)
R0	166 (60.1%)
ND	68 (24.7%)

ND: no disponible

Análisis de sobrevida libre de progresión y sobrevida global

Para la realización de los análisis de sobrevida se subdividió el total de los pacientes del estudio en tres grupos. El primer grupo incluye a los pacientes que fueron sometidos a cirugía pero no presentaban metástasis al momento del diagnóstico (n=237). El segundo grupo comprende a los pacientes en estadio metastásico, tanto operados como no operados (n=168). Se considera paciente metastásico al que presenta células cancerosas en un órgano distinto al sitio inicial del cáncer, y que no es adyacente al tumor ni un ganglio linfático regional. El tercer grupo incluye a los pacientes que no presentaban metástasis pero que por diferentes razones no fueron sometidos a cirugía (n=85). La sobrevida libre de progresión y sobrevida global de los pacientes operados no

metastásicos es significativamente mayor que la de pacientes metastásicos y de pacientes no metastásicos que no fueron operados (Cuadro 6, Figura 2). Por su parte, la sobrevida libre de progresión y sobrevida global de los pacientes metastásicos es similar a la de pacientes no operados no metastásicos (cuadro 7, Figura 2).

CUADRO 6

Comparación de la sobrevida libre de progresión (PFS) y la sobrevida global (OS) de los pacientes operados no metastásicos con respecto a los pacientes en estadio metastásico y los pacientes en estadio no metastásico pero no gastrectomizados

Grupo	n	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
Gastrectomizados no metastásicos ⁺	237	40.1 (IC 95%: 28.4 – 51.8)		47.6 (IC 95%: 34.7 – 60.4)	
Pacientes Metastásicos	168	5.3 (IC 95%: 4.0 – 6.7)	<0.001	6.0 (IC 95%: 4.3 – 7.7)	<0.001
No operados, no metastásicos	85	6.3 (IC 95%: 4.8- 8.6)	<0.001	7.8 (IC 95%: 5.4- 10.3)	<0.001

+ Grupo de Referencia

CUADRO 7

Comparación de sobrevida libre de progresión (PFS) y sobrevida global (OS) de los pacientes en estadio metastásico versus los pacientes no operados sin metástasis

Grupo	n	PFS (meses)	p	OS (meses)	p
Paciente metastásico+	168	5.3 (IC 95%: 4.0 – 6.7)		6.0 (IC 95%: 4.3 – 7.7)	
No operados, no metastásicos	85	6.3 (IC 95%: 4.8- 8.6)	0.861	7.8 (IC 95%: 5.4- 10.3)	0.545

+ Grupo de Referencia

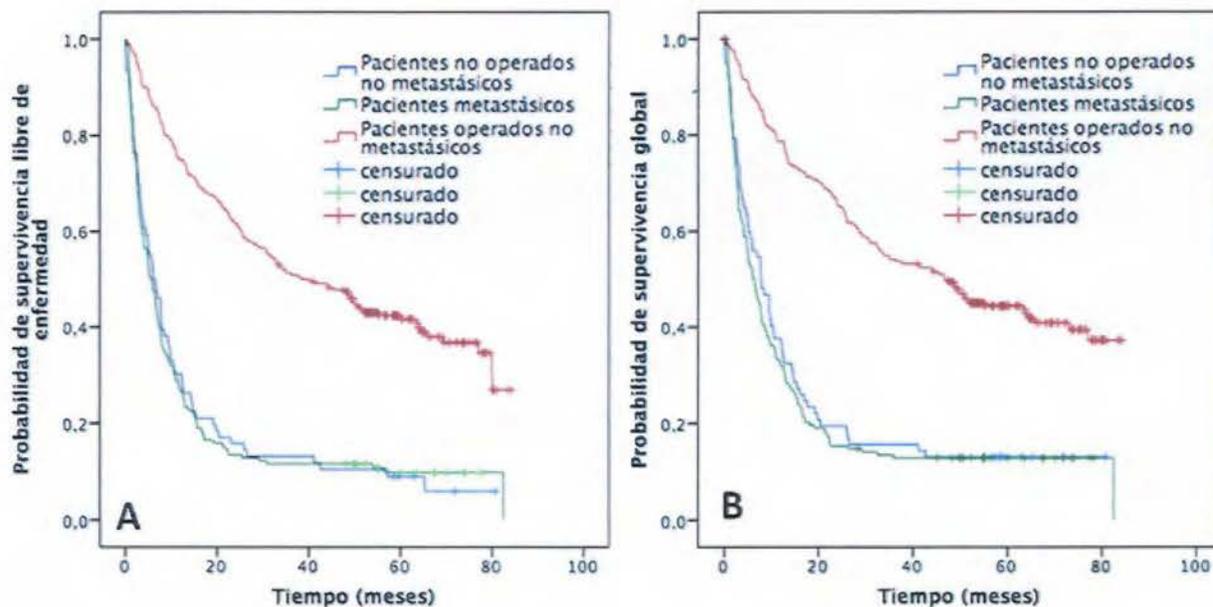


Figura 2. Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida global (OS) de los tres subgrupos de pacientes estudiados.

Pacientes con gastrectomía y estadio no metastásico

Se realizaron una serie de análisis en el grupo de pacientes sometidos a cirugía, que no presentaban metástasis, en los que se tomó en cuenta variables como el tipo de disección ganglionar realizada, el estado de los márgenes quirúrgicos, el manejo clínico posterior a la cirugía, el estado funcional y el estadio del paciente. De acuerdo con estos análisis, el tipo de disección ganglionar realizada durante la cirugía no tiene mayor impacto en la sobrevida libre de progresión o en la sobrevida global de los pacientes (cuadro 8, Figura 3). Por su parte, el estado de los márgenes quirúrgicos posterior a la gastrectomía si es una variable que repercute en la sobrevida libre de progresión y sobrevida global de los pacientes con cáncer gástrico avanzado operable (cuadro 8, Figura 4), con un HR de 1.93 (IC 95%: 1.20 – 3.08) para la sobrevida libre de progresión y un HR de 1.56 (IC 95%: 1.01-2.41) para la sobrevida global. Es importante mencionar que al momento de cierre de recolección de datos de este estudio más del 50% de los pacientes con márgenes quirúrgicos libres (R0) estaban vivos (Figura 4B), por lo que la mediana de sobrevida libre

progresión no fue alcanzada (cuadro 8). También se analizó la sobrevida de los pacientes operados no metastásicos de acuerdo al número de ganglios disecados. No se observó diferencia en la sobrevida libre de progresión, ni en la sobrevida global, entre los pacientes a los cuales se les disecaron más de 15 ganglios y aquellos a los que se les disecaron menos de 15 ganglios (Cuadro 8).

CUADRO 8

Mediana de sobrevida libre de progresión y sobrevida global de acuerdo al tipo de disección ganglionar durante la cirugía, al estado de los márgenes quirúrgicos posterior a la cirugía y al número de ganglios disecados

	N	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
Tipo de Disección Ganglionar					
D1+	21	31.4 (IC 95%: 12.2 – 50.6)		36.3 (IC95%: 6.2- 66.5)	
D2	184	47.6 (IC 95%: 27.5 – 67.6)	0.37	51.5 (IC95%: 35.4- 67.5)	0.17
Márgenes Quirúrgicos					
R0+	145	Mediana no alcanzada		63.4 (IC 95% no calculable)	
R1/R2	33	21.1 (IC 95%: 14.9 - 27.2)	0.005	23.5 (1.1 – 45.6)	0.05
Número de ganglios disecados					
< 15+	60	47.6 (IC 95%: 25.6 – 69.5)		47.6 (IC 95%: 30.5 -64-6)	
> 15	144	44.0 (IC95%: 22.7- 65.3)	0.87	51.1 (IC 95%: 34.2 -67.9)	0.88

+ Grupo de Referencia: D1, R0 y <15

D2: disección ganglionar extendida

R0: márgenes quirúrgicos libres, R1/R2: márgenes quirúrgicos comprometidos

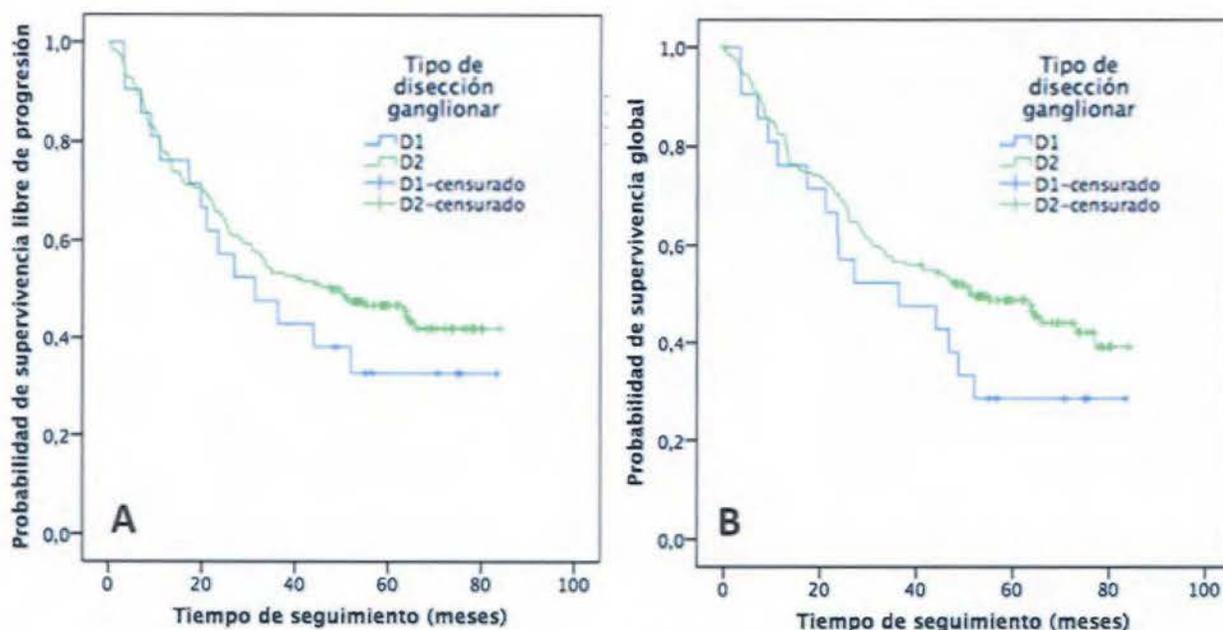


Figura 3. Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico, de acuerdo al tipo de disección ganglionar realizado durante la cirugía

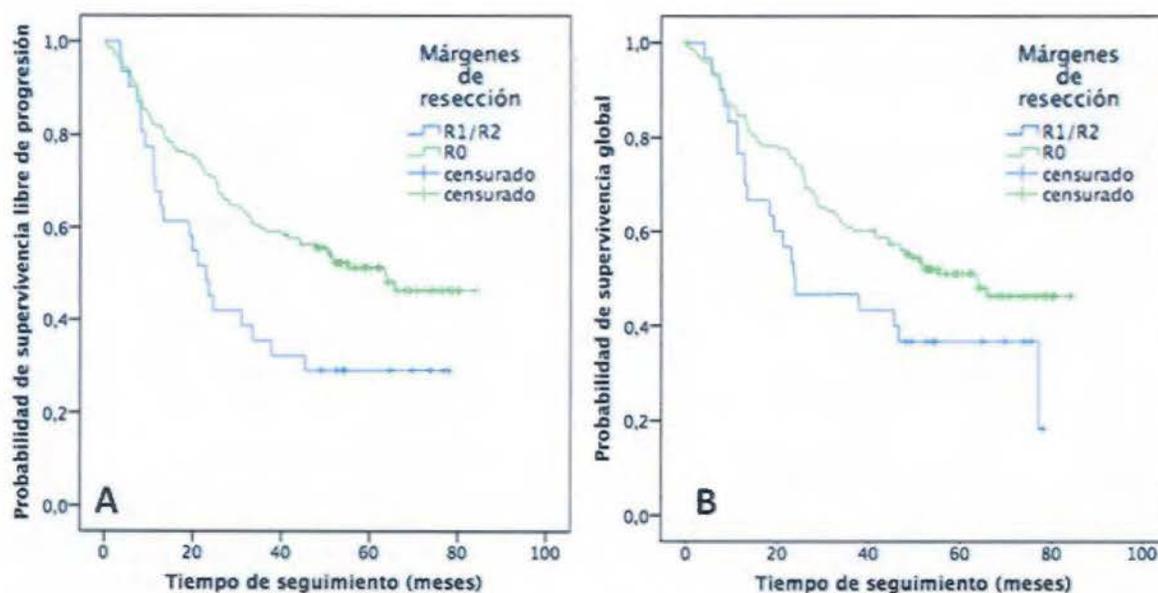


Figura 4. Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico, de acuerdo al estado de los márgenes quirúrgicos (R1/R2: margen comprometido, R0: margen libre)

Otro factor importante, además del número de ganglios disecados, para determinar la sobrevida o establecer terapia de tratamiento en los pacientes con cáncer gástrico es la cantidad de nódulos linfáticos regionales positivos para células tumorales (ganglios regionales metastásicos) o valor de N. Los resultados reportados en el cuadro 9 confirman que el número de ganglios comprometidos tiene un impacto significativo en la sobrevida de los pacientes. Mediante una prueba *post hoc* de Bonferroni se determinó, tanto para la sobrevida global como para la sobrevida libre de progresión, que los pacientes con N0 tiene mayor probabilidad de sobrevivencia en comparación con los que presentan un N1 o superior ($p < 0.001$) (cuadro 9). También se presentan mejores tiempos de sobrevida libre de progresión y sobrevida global en los pacientes con N2 en comparación con los pacientes con N3 (PFS: N1 vs N2 $p = 0.746$, N1 vs N3 $p = 0.060$, N2 vs N3 $p = 0.026$) (OS: N1 vs N2 $p = 0.719$, N1 vs N3 $p = 0.100$, N2 vs N3 $p = 0.046$).

CUADRO 9

Sobrevida libre de progresión y sobrevida global del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al valor de N

Estadía	n	PFS (meses)	p	OS (meses)	p
N0+	65	Mediana no alcanzada		Mediana no alcanzada	
N1	54	32.6 (IC 95%: 11.4-53.7)		33.0 (IC 95%: 12.2-53.9)	
N2	44	38.4 (IC 95%: 13.7 – 63.0)		46.7 (IC 95%: 19.5 – 74.0)	
N3	59	23.5 (IC 95%: 32.3 – 55.6)	0.005	29.0 (IC 95%: 19.9 – 38.1)	0.005

+ Grupo de Referencia

En estudios recientes se ha demostrado que el valor de la razón ganglios positivos/ganglios disecados (razón ganglios linfáticos: LNR o Nr) tiene utilidad pronóstico en los pacientes de cáncer gástrico y podría ser un parámetro determinante para predecir la sobrevida global de los pacientes y el tiempo a la progresión.⁷⁷ Por lo anterior, en este estudio se estimó el tiempo a la progresión y la sobrevida global de los pacientes en función de la razón ganglios linfáticos (LNR), tomando como valores parámetro LNR < 0.2 (n=123), LNR entre 0.2-0.5 (n=43) y LNR > 0.5 (n=36). Los resultados del presente estudio

demuestran contundentemente que este parámetro ayuda a predecir la sobrevida en pacientes operados por cáncer gástrico que no presentan metástasis a distancia (Cuadro 10, Figura 5). Más específicamente, se pudo observar que los pacientes con un LNR <0.2 tienen una mayor sobrevida global y un mayor tiempo a progresión de la enfermedad que aquellos cuyo valor de LNR es mayor a 0.5 (Cuadro 10, Figura 5). Asimismo, los pacientes con LNR entre 0.2- 0.5 presentan mayor sobrevida global y mayor sobrevida libre de progresión que los pacientes con un LNR>0.5 (Cuadro 10, Figura 5). De acuerdo con los valores de HR presentados en el cuadro 10, hay una tendencia a mayor mortalidad y menor tiempo a la progresión en los pacientes que presentan LNR>0.5 comparado con aquellos con un LNR entre 0.2-0.5. El riesgo de progresión en los pacientes con un LNR>0.5 aumenta en un 68% y el riesgo de muerte en un 72%, comparado con pacientes con un LNR entre 0.2-0.5 (Cuadro 10).

CUADRO 10

Sobrevida libre de progresión, sobrevida global y razón de probabilidad del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico acuerdo a la razón ganglios linfáticos (LNR)

LNR	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
<0.2+	65 (IC95% no calculable)		73 (IC 95% 54.1 – 92.0)	
0.2-0.5	35 (IC95%: 10.6-59.4)		37.7 (IC 95% 18.1 – 57.3)	
>0.5	21 (IC95%: 6.1- 36.6)	<0.001	23.5 (IC 95%: 2.5 – 44.5)	<0.001
LNR	PFS (HR)	P	OS (HR)	p
0.2-0.5/ <0.2	1.48 (IC95%: 0.94-2.32)	0.086	1.44 (IC95%: 0.90-2.28)	0.125
>0.5/ 0.2-0.5	1.68 (IC95%: 1.01 - 2.83)	0.048	1.72 (IC95%: 1.01 - 2.94)	0.047
<0.2	0.39 (IC95%: 0.29- 0.52)	0.001	0.39 (IC95%: 0.29- 0.52)	0.001
>0.5	2.74 (IC95%: 2.04- 3.68)	0.001	2.79 (IC95%: 2.06- 3.78)	0.001

+ Grupo de Referencia

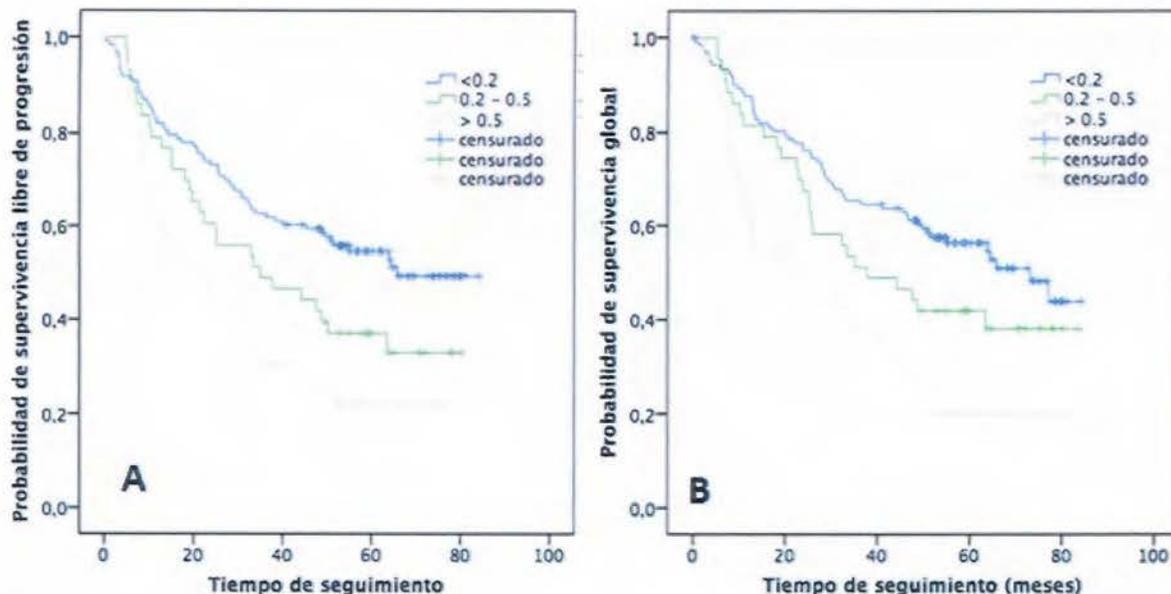


Figura 5. Sobrevida libre de progresión (PFS) y sobrevida global (OS) del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo a la razón ganglios positivos/ganglios disecados

Con respecto al tratamiento recibido posterior a la cirugía, los resultados de este estudio indican que las terapias adyuvantes o la quimiorradioterapia no tienen un impacto significativo en la sobrevida libre de progresión o en la sobrevida global. Esto se hizo evidente al comparar aquellos pacientes que recibieron algún tipo de adyuvancia contra el grupo de pacientes operados que no recibieron ningún otro tipo de tratamiento adicional a la cirugía (grupo en seguimiento u observación clínica) (Cuadro 11, figura 6). También se realizó análisis estadístico para determinar el efecto de las terapias en la sobrevida de pacientes con cáncer gástrico avanzado no metastásico pero considerando únicamente el grupo de pacientes sometidos a una cirugía D2 (n=184). En dicho análisis tampoco se encontraron diferencias significativas en la sobrevida libre de progresión o en la sobrevida global entre pacientes que recibieron terapia adyuvante, neoadyuvante o quimioterapia respecto al grupo de observación clínica (Cuadro 11). El grupo de pacientes con disección D1, así como el grupo de pacientes con márgenes quirúrgicos positivos (R1) son grupos

muy pequeños (21 pacientes y 31 pacientes, respectivamente) por lo cual no fue posible realizar análisis posteriores por tipo de tratamiento con estos subgrupos.

CUADRO 11

Sobrevida libre de progresión y supervivencia global del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al tratamiento recibido

	N	PFS (meses)	p	OS (meses)	P
Modalidad de Tratamiento					
Observación+	101	50.2 (IC 95%: 21.5- 78.9)		50.8 (IC 95%: 22.8- 78.7)	
Adyuvancia	31	30.6 (IC 95%: 15.7- 45.5)		32.3 (IC 95%: 15.6- 49.1)	
Neoadyuvancia	10	14.3 (IC 95%: 0.1- 62.5)		14.3 (IC 95%: 34.5- 60.6)	
QTRT adyuvante*	90	44.2 (IC95%: 24.1- 64.3)	0.57	47.6 (IC95%: 34.7- 60.4)	0.566
Subgrupo con cirugía D2					
Observación+	76	50.2 (IC95% no det.)		65.7 m (IC 95%: 27.6 – 103.9)	
Adyuvancia	21	37.7 (IC 95%: 26.9 – 48.5)		28.3 (IC 95%: 21.6 – 132.5)	
Neoadyuvancia	5	No alcanzada		No alcanzada	
QTRT adyuvante*	82	44.2 (IC 95%: 21.9 – 66)	0.63	47.5 meses (27.2 – 68.0)	0.785
Subgrupo con cirugía R0					
Observación+	66	65.7 (IC 95% no calculable)		65.8 (IC 95%: no calculable)	
Adyuvancia	7	40.1 (IC 95%: 21.6 – 58.6)		40.9 (IC 95%: 21.6 – 60.3)	
Neoadyuvancia	4	No calculable		No calculable	
QTRT adyuvante*	67	55.1 (IC 95%: 35.1 – 75.2)	0.41	55.1(IC 95%: 37.7- 72.6)	0.98

+ Grupo de Referencia

*QTRT: quimioradioterapia

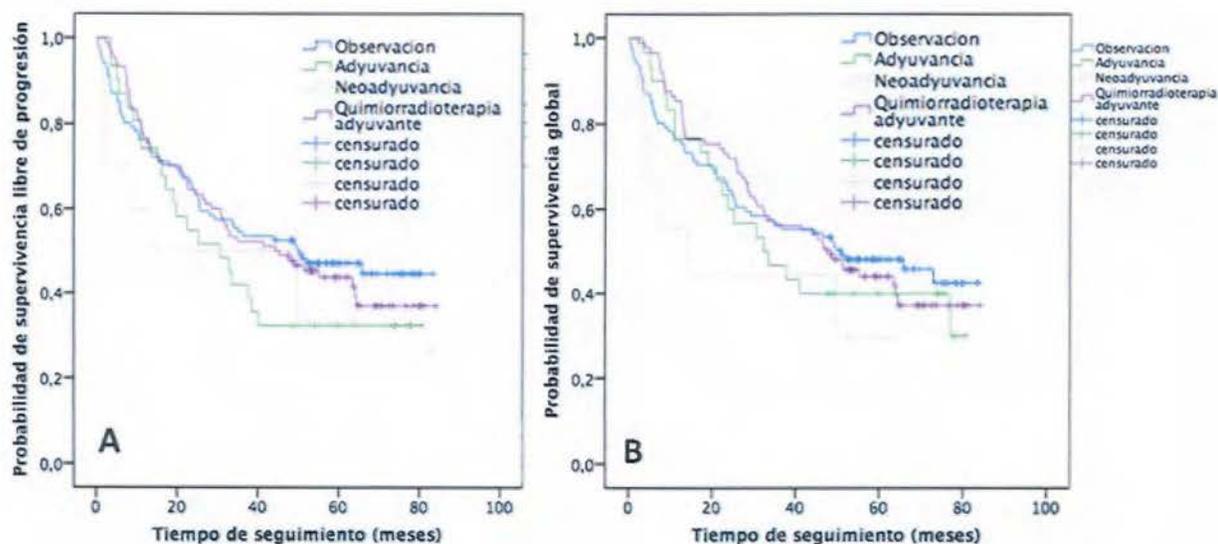


Figura 6. Sobrevida libre de progresión (PFS) y Sobrevida Global (OS) grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico de acuerdo al tratamiento recibido

Al analizar el tiempo a la progresión de la enfermedad y la mediana de sobrevida global de acuerdo al número de medicamentos utilizados como terapia (monoterapia versus terapia doble), no se encontró diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 12). En este grupo de pacientes ninguno fue tratado con terapia triple.

Finalmente, se determinó si el estado funcional del paciente al momento del diagnóstico es un parámetro con impacto en el tiempo a progresión de la enfermedad y la sobrevida global. Únicamente 22 pacientes de los 230 operados no metastásicos cuyo estadio funcional estaba reportado presentaban un ECOG de 2 o más. Un estadio funcional de 2 o mayor es un factor determinante en el manejo clínico del paciente. Para dicho análisis se comparó pacientes con ECOG 0-1 versus los pacientes con un ECOG 2-4. Se determinó que la sobrevida libre de progresión es significativamente mayor en los pacientes con un ECOG de 0-1, en comparación con aquellos pacientes que presentan un estado funcional de 2 o mayor en el momento del diagnóstico (cuadro 12, figura 7), con una reducción del 53% del riesgo de que la enfermedad progrese (HR: 0.47, IC95%: 0.82- 0.78). Igualmente, los pacientes con estadios funcionales 0-1 tienen mayor sobrevida global y presentan una

reducción del 58% del riesgo de fallecer con respecto a los pacientes con ECOG 2 o superior (HR: 0.42, IC95%: 0.25- 0.70) (cuadro 12, Figura 7).

CUADRO 12

Mediana de supervivencia libre de progresión y supervivencia global del grupo de pacientes gastrectomizados en estadio no metastásico, de acuerdo al número de medicamentos utilizados en la terapia y a la escala ECOG

	PFS (meses)	p	OS (meses)	P
Número de medicamentos				
Monoterapia+	32.9 (IC 95%: 19.0- 46.7)		33.4 (IC 95%: 19.8- 47.0)	
Terapia Doble	19.1 (IC 95%: 3.2- 34.9)	0.37	32.3 (IC 95%: 0.0- 87.69)	0.73
Escala ECOG				
0-1+	48.7 (IC 95%: 35.3- 61.9)		49.7 (IC 95%: 36.8- 62.5)	
2- 4	13.2 (IC 95%: 6.0- 20.4)	0.003	13.2 (IC 95%: 8.9- 17.4)	0.001

+Grupos de Referencia: Monoterapia, ECOG 0-1

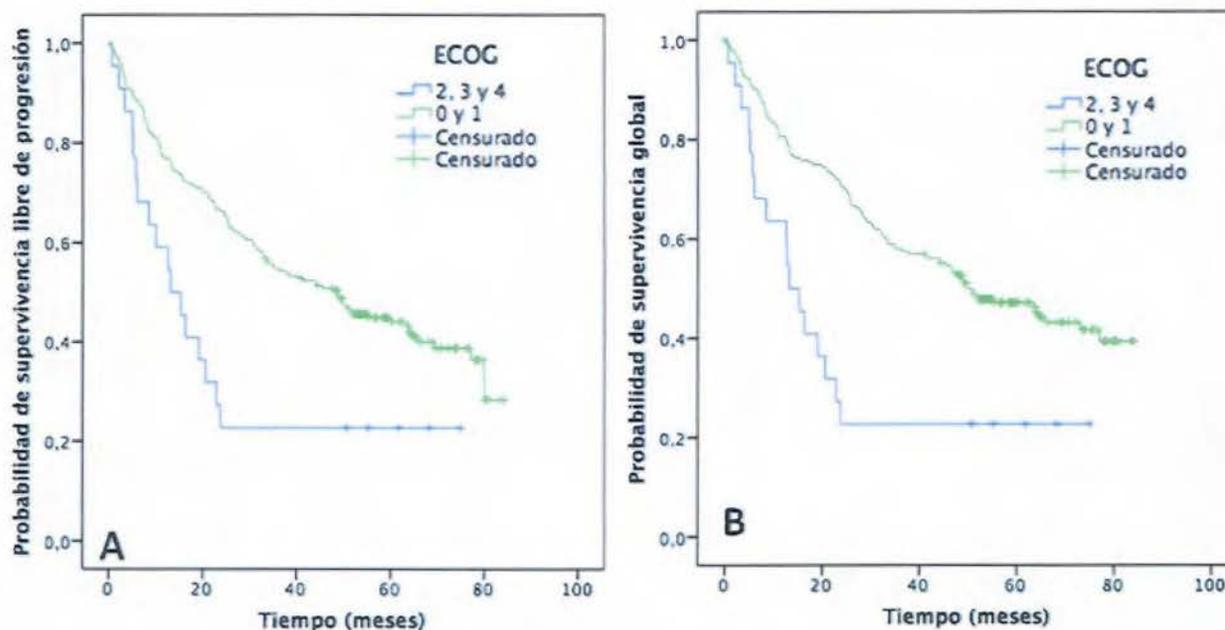


Figura 7. Sobrevida libre al ECOG de progresión (PFS) y supervivencia global (OS) del grupo gastrectomizados no metastásico de acuerdo a ECOG

Pacientes con enfermedad metastásica al momento de diagnóstico

De los 490 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión para este estudio, 168 fueron diagnosticados en estadio metastásico de la enfermedad, lo cual corresponde al 34.28% de la población en estudio. En el cuadro 13 se detalla los principales sitios de metástasis.

CUADRO 13
Principales sitios de metástasis

Sitios de Metástasis	Número de Metástasis (%) n= 168
Hígado	77 (45.8)
Peritoneo	47 (27.9)
Ganglios no regionales	10 (5.9)
Ovario	9 (5.4)
Pulmón	6 (3.6)
Pleura	3 (1.8)
Bazo	3 (1.8)
SNC	2 (1.2)
Otros	12 (7.1)

En general, en este grupo de pacientes la sobrevida libre de progresión fue de 5.3 meses (IC95%: 4.0 – 6.7) y la sobrevida global fue de 6.0 meses (IC95%: 4.3 – 7.7) (cuadro 6). Interesantemente, al analizar la progresión de la enfermedad y la sobrevida global en función del tratamiento farmacológico se determinó que la administración de medicamentos es determinante para extender la sobrevida de los pacientes varios meses. La diferencia entre medianas de supervivencia fue de 5.6 meses en sobrevida libre de progresión y de 8.3 meses en sobrevida global (Cuadro 14).

Con respecto al tratamiento utilizado en este grupo de pacientes, de los 88 pacientes que recibieron tratamiento, sólo 17 pacientes recibieron una segunda línea de tratamiento y únicamente un paciente llegó a iniciar una tercera línea de tratamiento. Se llevaron a cabo análisis estadísticos con este grupo de pacientes metastásicos que recibieron tratamiento,

con la intención de determinar el impacto que tienen el número de medicamentos utilizados en la sobrevida libre de progresión y la sobrevida global (Cuadro 14). El grupo de pacientes que utilizó monoterapia es muy pequeño, lo cual no permitió establecer comparaciones de este grupo con respecto a aquellos que recibieron terapias dobles y terapias triples. En el análisis se determinó que los pacientes a los que se les suministró terapia triple tienen hasta un 69% más de probabilidad de progresar que quienes recibieron terapia doble (HR=1.69, IC 95%: 1.04 – 2.73) (Cuadro 14, Figura 8). En el caso de la sobrevida global, se determinó que la probabilidad de fallecer es 88% más alta cuando se usa terapia triple que cuando se usa terapia doble (HR=1.88, 95% CI: 1.15 – 3.11) (Cuadro 14, Figura 8).

Con respecto a los fármacos utilizados, como terapia doble se utilizó una combinación de platinos con fluoropirimidinas como XELOX (con oxaliplatino u otro platino), FOLFOX y Cisplatino con 5FU. Como terapia triple se utilizó la combinación de epirrubicina, platino y fluoropirimidina (EOX, FEC) y la tripleta DCF (docetaxel, cisplatino, 5FU). Debido a que sólo 2 pacientes fueron tratados con DCF estos no fueron tomados en cuenta para los análisis posteriores. Los resultados de los análisis demuestran que hay diferencias estadísticamente significativas en el tiempo a progresión de la enfermedad y en la sobrevida global de acuerdo al tipo de terapia utilizada (cuadro 14). De acuerdo con los resultados del análisis, los pacientes que usaron EOX o FEC tienen un 32% más probabilidad de progresar (HR= 1.32, IC 95%: 1.03-1.69) y 42% más probabilidad de fallecer (HR=1.42, IC 95%: 1.10-1.83) que los que usaron platino y fluoropirimidinas.

CUADRO 14

Mediana de Sobrevida libre de progresión y mediana de sobrevida global de los pacientes metastásicos de acuerdo al uso o no de terapia farmacológica, el número de fármacos utilizados y al tipo de terapia utilizada (sin TPF)

	n	PFS (meses)	p	OS (meses)	p
Uso de Fármacos					
Sin tratamiento+	76	2.5 (IC 95%: 2.1 – 3.0)		2.5 (IC 95%: 2.1 – 3.0)	
Con tratamiento	88	8.1 (IC 95%: 5.9- 10.3)	<0.001	10.8 (IC 95%: 7.8- 13.7)	<0.001
# de medicamentos utilizados					
Monoterapia*	4	2.9 (IC 95%: 2.9- 3.0)		2.9 (IC 95%: 1.9- 3.7)	
Terapia Doble+	46	10.5 (IC 95%: 3.5- 17.5)		13 (IC95%: 7.3- 18.68)	
Terapia Triple	38	6.3 (IC 95%: 3.0- 9.5)	0.013	7.2 (IC 95%: 3.2- 11.24)	0.012
Tipo de Terapia					
FP + Pt ⁺	46	10.5 (IC 95%: 3.5- 17.5)		13.0 (IC 95%: 7.3- 18.7)	
Epi + Pt + FP	36	6.3 (IC 95%: 2.8- 9.7)	0.035	7.2 (IC 95%: 3.2- 11.3)	0.006

**En el análisis de número de medicamentos no se incluye monoterapia*

+Grupos de referencia: Sin tratamiento, Fluoropirimidina +Platino (FP+ Pt)

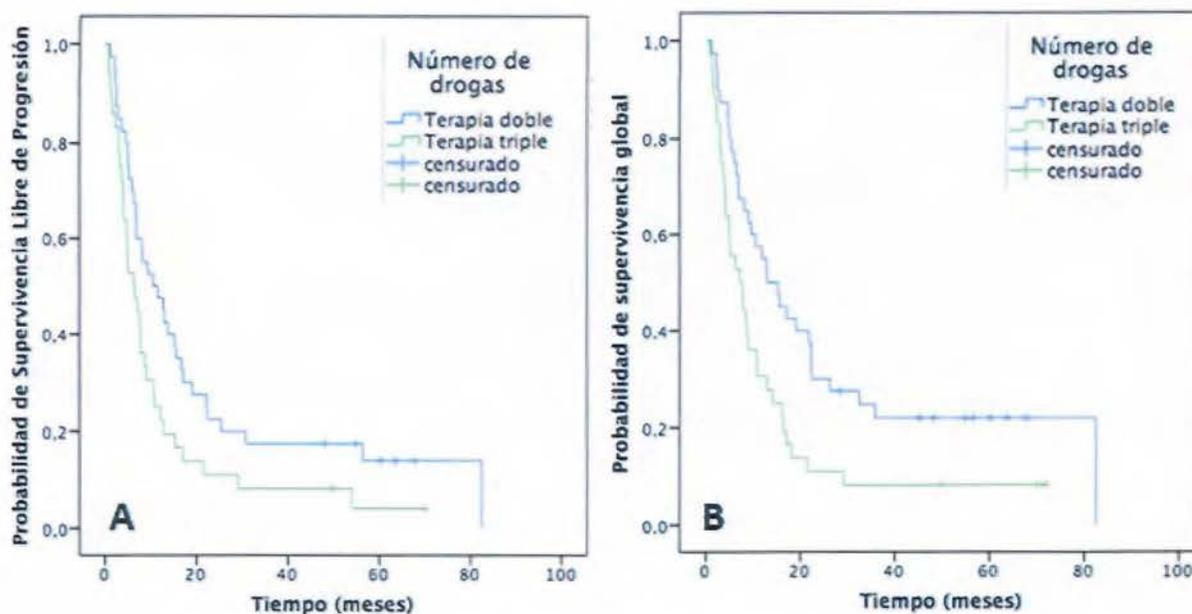


Figura 8. Sobrevida libre de progresión (PFS) y sobrevida global (OS) de acuerdo al uso de terapia doble o triple en los pacientes en estadio metastásico

También se evaluó el impacto del estado funcional del paciente en la sobrevida, por lo que se realizó el análisis entre los pacientes que presentaban un ECOG de 0-1, y aquellos que presentaban un ECOG igual o mayor a 2. Dicho análisis reveló que los pacientes que presentan un ECOG de 0-1 al momento de diagnóstico, aún cuando su estadio sea metastásico, tienen mayor tiempo a progresión de la enfermedad y mayor tiempo de sobrevida global, que quienes se presentan con un estado funcional ECOG igual o mayor de 2 (Cuadro 15, Figura 9). Los pacientes con ECOG 0-1 tienen 36% menos probabilidad de presentar progresión a la enfermedad que aquellos con un ECOG de 2-4 (HR: 0.64, IC95%: 0.45- 0.92) y un 40% más probabilidad de sobrevida que los que presentan un ECOG 2-4 en el momento del diagnóstico (HR: 0.60, IC95%: 0.42- 0.87)

CUADRO 15

Sobrevida libre de progresión del grupo con enfermedad metastásica de acuerdo al ECOG

ECOG	N	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
0-1	85	6.6 (IC 95%: 5.4- 7.8)		7.4 (IC 95%: 5.7- 9.0)	
2-4	47	2.9 (IC 95%: 2.6- 3.2)	0.017	2.9 (IC 95%: 2.6- 3.2)	0.006

Grupo de referencia: ECOG 0-1

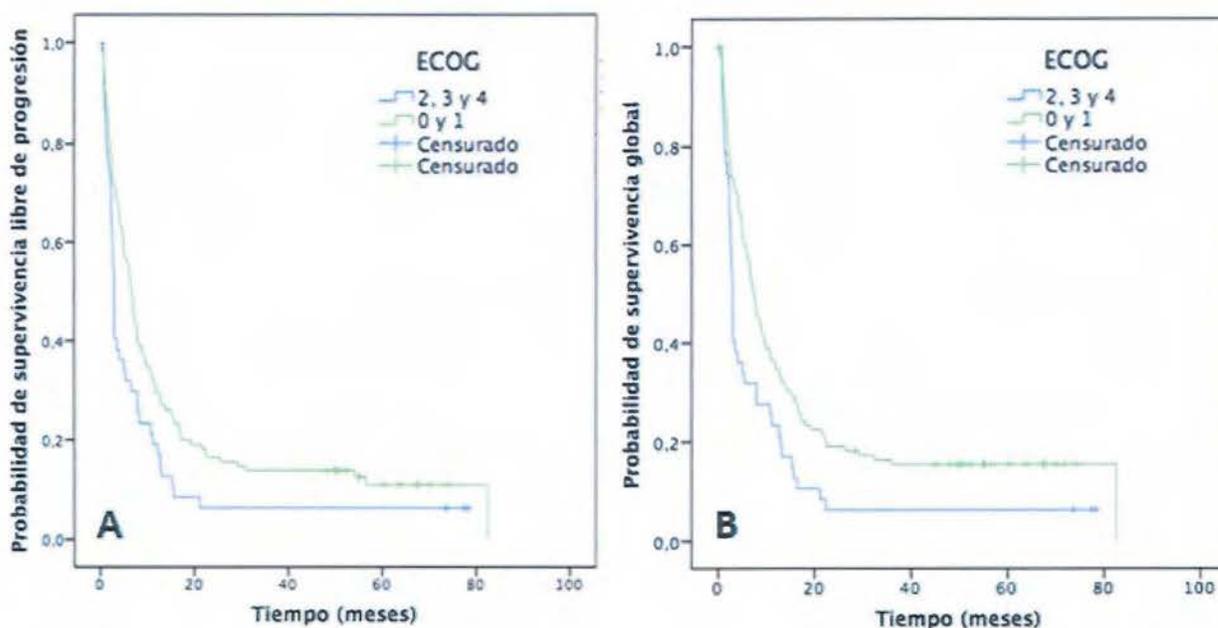


Figura 9. Sobrevida libre de progresión (PFS) y supervida global (OS) del grupo con estadio metastásico de acuerdo al ECOG

El análisis de acuerdo al número de sitios de metástasis (1, 2 y 3 o más sitios) indica que el tiempo de progresión de la enfermedad y la supervida global de los pacientes con cáncer gástrico avanzado metastásico es similar, sin importar el número de sitios con metástasis que presenten al momento del diagnóstico ($p=0.589$ y $p=0.466$).

Pacientes no metastásicos, no gastrectomizados

El último grupo de estudio estaba conformado por 86 pacientes, quienes no presentaban estadio metastásico al momento del diagnóstico, pero que no fueron sometidos a gastrectomía por diversas razones. De los 86 pacientes, únicamente 2 fueron tratados con quimiorradioterapia, por lo que estos no fueron incluidos en los análisis estadísticos subsecuentes. No se observó diferencia en la supervida en los pacientes no operados, en estadio no metastásico, y que no se les hizo ninguna intervención (observación) con respecto a los que recibieron terapia adyuvante posterior al diagnóstico (Cuadro 16).

A pesar de ser un grupo pequeño, se analizó la sobrevida de los 36 pacientes que recibieron terapia adyuvante en función del número de medicamentos utilizados (monoterapia, terapia doble o terapia triple) y el tipo de medicamento administrado. Como monoterapia se utilizó paclitaxel o capecitabina, en el caso de la terapia doble se le prescribió al paciente XELOX y en el caso de un paciente epirrubicina con cisplatino, y en las tripletas EOX, FEC o DCF. El análisis en estos 36 pacientes no reveló diferencias en sobrevida libre de progresión ni en sobrevida global al hacer el análisis con respecto al número de medicamentos usados en primera línea (Cuadro 16). Tampoco se presentaron diferencias debido al tipo de medicamento utilizado, ni en la progresión de la enfermedad ($p=0.82$) ni en la sobrevida global ($p=0.87$).

CUADRO 16

Sobrevida libre de progresión y sobrevida global del grupo sin enfermedad metastásica pero que no se sometieron a gastrectomía, de acuerdo al tratamiento de seguimiento y al número de tratamientos utilizados

Tratamiento	N	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
Modalidad de tratamiento					
Observación+	48	5.93 (IC 95%: 3.49-8.36)		5.93 (IC 95%: 3.49-8.36)	
Adyuvancia	36	7.70 (IC 95%: 4.22-11.17)	0.347	9.86 (IC 95%: 4.40-13.33)	0.31
Número de medicamentos					
Utilizados					
Monoterapia+	3	10.5 (IC 95%: 0.0- 21.7)		10.5 (IC 95%: 0.0- 21.7)	
Terapia Doble	16	4.9 (IC 95%: 4.5- 5.3)		5.1 (IC 95%: 0.0- 14.4)	
Terapia Triple	16	7.7 (IC 95%: 4.7- 10.7)	0.85	9.8 (IC 95%: 3.8- 16.0)	0.98

+ Grupo de Referencia

Al hacer el análisis de acuerdo al estado funcional del paciente (ECOG) tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ECOG 0-1 versus ECOG 2-4), ni en el tiempo a progresión de la enfermedad ni en la sobrevida global (Cuadro 17).

CUADRO 17

Sobrevida libre de progresión y sobrevida global del grupo de pacientes no operados y que no presenta enfermedad metastásica de acuerdo al ECOG

ECOG	n	PFS (meses)	P	OS (meses)	p
0 – 1+	35	6.9 (IC 95%: 5.0- 8.8)		8.4 (IC 95%: 6.3- 10.5)	
2- 4	20	4.9 (IC 95%: 3.5- 6.4)	0.92	4.9 (IC 95%: 3.5- 6.4)	0.53

+ Grupo de Referencia

Efectos Adversos debido a la terapia farmacológica utilizada

Para el análisis de los efectos adversos se tomó en cuenta aquellos efectos adversos reportados en el expediente clínico que estuvieran relacionados con la terapia que estaba utilizando el paciente. De los 490 expedientes revisados, ninguno de los pacientes tenía documentado en el expediente una hospitalización debido a efectos adversos propios de la medicación. Algunos pacientes presentaron más de un evento adverso, por lo que se registró el número de eventos y no el número de pacientes. En total se contó con los registros de 60 eventos adversos en 46 pacientes, es decir el 17.6% de los pacientes tratados con terapias farmacológicas sufrió un efecto adverso que requirió intervención médica, distinta a hospitalización. En el cuadro 18 se clasifican los eventos presentados. Se presentaron más eventos adversos en hombres que en mujeres, y más eventos adversos en los pacientes mayores de 65 años. En el cuadro 19 se detallan los efectos adversos que se presentaron de acuerdo a la terapia utilizada.

CUADRO 18

Eventos adversos reportados en el expediente

Características	Eventos (%)
Eventos de acuerdo al sexo	
Masculino	36 (60)
Femenino	24 (40)
Eventos de acuerdo a la escala ECOG	
1	56 (93.3)
2	3 (5)
ND	1 (1.7)
Eventos de acuerdo a la edad del paciente	
Menor a 50 años	16 (26.67)
Entre 50- 64 años	20 (33.33)
Mayor a 65 años	24 (40.00)

ND: No disponible

CUADRO 19

Eventos adversos reportados en el expediente clínico de acuerdo al tratamiento utilizado

Terapia Utilizada	Eventos	Efecto Observado
5FU+ Leuco+ RT	13	Cardiotoxicidad (1) Diarrea (2) Mucositis (1) Naúsea y Vómito (2) Neutropenia (1) Neutropenia Febril (1) Síndrome Mielodisplásico (5)
Bevacizumab +Capecitabina	1	Toxicidad General (1)
EOX (Capecitabina)	13	Anemia (1) Diarrea (1) Eritrodístesia PalmoPlantar (1)

		Extravasación (1) Naúsea y Vómito (2) Neuropatía (2) Neutropenia Febril (1) Reacción Anafiláctica (2) Trombosis Venosa (2)
FEC (Capecitabina)	4	Diarrea (1) Naúseas y Vómito (3)
Capecitabina + Cisplatino	1	Anemia (1)
EOX	1	Reacción Anafiláctica (1)
FEC	3	Mucositis (1) Naúseas y Vómito (2)
FOLFOX	3	Neuropatía (1) Neutropenia Febril (1) Síndrome Mielodisplásico (1)
XELOX	21	Anemia (1) Caquexia (1) Diarrea (6) Eritrodístesia PalmoPlantar (2) Erupción Maculo Papular (1) Fiebre (1) Mucositis (1) Naúsea y Vómito (1) Neuropatía (3) Neutropenia (1) Reacción Anafiláctica (1) Síndrome Mielodisplásico (1) Trombosis Venosa (1)

Otra variable analizada, fue la indicación o procedimiento realizado por el médico tratante al momento de presentarse el evento adverso. El tratamiento fue suspendido en 14 pacientes y se continuó en 32 pacientes de los que presentaron eventos adversos. En los casos en los que se continuo el tratamiento se tomaron diferentes medidas para controlar el evento adverso que se presentaba (Cuadro 20)

CUADRO 20

Indicación médica ante el evento adverso previo a continuar la terapia

Indicación	n Eventos (%)
Disminuir dosis de quimioterapia	5 (11.9)
Reprogramar ciclo de quimioterapia	12 (28.6)
Dar tratamiento a los síntomas y continuar la terapia	25 (59.5)

Para realizar el análisis estadístico de la incidencia de efectos adversos en el grupo de pacientes incluidos en este estudio, se realizó la comparación tomando en cuenta que de 262 pacientes recibieron terapia con medicamentos, 46 presentaron algún efecto adverso con la terapia recibida. Uno de los parámetros que se evaluó fue la aparición de efectos adversos de acuerdo a la edad del paciente. En el grupo de menores de 50 años, el 17.5% de los pacientes presentó efectos adversos (14 pacientes de 80). En el caso de pacientes entre 50 y 64 años, el 16.7% (17 pacientes de 102) reportaron efectos adversos. Por último, un 18.75% de los pacientes mayores de 65 años (15 pacientes de 80) fueron atendidos en el hospital, pero no internados, por esta causa. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0.192$ $df=2$). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se evaluó la cantidad de pacientes con efectos adversos de acuerdo al estadio de la enfermedad, por lo que se puede afirmar que el estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico no determina la incidencia de los efectos adversos causados por los medicamentos (Cuadro 21)

CUADRO 21

Aparición de efectos adversos (EA) de acuerdo al estadio TNM del paciente

Estadio	N	%	P
	(Efectos Adversos/ paciente en tratamiento)		
IB	0/1	(0)	
IIA	3/22	(13.6)	
IIB	7/41	(24.4)	
IIIA	7/33	(33.3)	0.87
IIIB	10/45	(24.4)	df: 6
IIIC	0/12	(0)	
IV	17/90	(25.5)	
ND	2/18		

ND: no disponible

El último parámetro analizado fue la aparición de efectos adversos de acuerdo a la terapia utilizada. Se tomó en cuenta la aplicación del medicamento tanto en la primera como en la segunda línea (Cuadro 21). La combinación de cisplatino + capecitabina se usó solo en un paciente y la combinación de bevacizumab + capecitabina se usó en dos pacientes, en ambos casos eran tratamientos de segunda línea por lo que el dato no se incluyó en el análisis. Al igual que en las variables anteriores, la aparición de efectos adversos no es determinada por un tratamiento en particular (Cuadro 22)

CUADRO 22

Número de pacientes tratados y porcentaje de efectos adversos (EA) de acuerdo a la terapia utilizada

Terapia Utilizada	n (1era línea+ 2da línea)	%	p
XELOX	87 (68 + 19)	24.2	0.17 Df: 4
EOX (5FU ó Capecitabina)	55 (49 + 6)	25.5	
5FU+ leucovorina+ RT	99 (99 + 0)	13.1	
FEC (5FU ó Capecitabina)	16 (14 + 2)	43.8	
FOLFOX	8 (7 + 1)	37.5	

Fase II: Estandarización y Validación de las pruebas de IHC y FISH

Se verificó en los 490 los expedientes clínicos de los pacientes con cáncer gástrico si se habían realizado las pruebas de IHC y/o FISH para HER2. Se pudo constatar que las pruebas para la determinación de HER2 se llevó a cabo en 62 pacientes, de los cuales únicamente 5 (8%) fueron confirmados como positivos para HER2 (Cuadro 23). Lo anterior evidencia que la determinación del estatus de HER2 en pacientes con cáncer gástrico es raramente solicitada por los servicios de oncología en los hospitales costarricenses. La realización de la pruebas de IHC y FISH para HER2 es importante, pues amplía las opciones de tratamiento para pacientes en los que se demuestre la sobreexpresión de HER2.

CUADRO 23

Diagnóstico de HER2 en pacientes de cáncer gástrico de acuerdo a la información reportada en los expedientes clínicos

Pruebas de Diagnóstico de HER2	n(%)
Total de pruebas solicitadas	62
HER2+ confirmado	5 (8.1)
Inmunohistoquímica	
0 – 1+	53 (85.5)
2+	5 (8.1)
3+	4 (6.4)
Hibridación Fluorescente <i>in situ</i>	
> 2	1 (20)
< 2	0 (0)
No realizado	4 (80)

Por lo anteriormente mencionado, se procedió a estandarizar y validar la metodología para la realización de FISH para HER2 en muestras de tejido parafinado obtenido a partir de pacientes operados por cáncer gástrico. Para esto se contó con 50 bloques de tejido quirúrgico parafinado del servicio de patología del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia. En el Cuadro 24 se muestran algunas características clínico-patológicas de los pacientes a los cuales pertenecían los bloques de tejido mencionados.

CUADRO 24

Características de los pacientes y los tejidos parafinados utilizados en la estandarización de la hibridación fluorescente in situ

Variable	Número pacientes (%)
Edad Promedio (años \pm SD)	63.5 \pm 13.2 [rango: 29- 85]
Sexo	
Masculino	34 (68)
Femenino	16 (32)
Tipo Histológico	
Bien Diferenciado	12 (24)
Moderadamente Diferenciado	14 (28)
Poco diferenciado	19 (38)
Mucinoso	1 (2)
Hepatoide	1 (2)
Mixto	1 (2)
Anillo de Sello	1 (2)
Medular	1 (2)
Localización	
Cardias	15 (30)
Cuerpo	12 (24)
Antro	16 (32)
Píloro	1 (2)
Cuerpo-Antro	1 (2)
Unión gastroesofágica	5 (10)

Prueba de Inmunohistoquímica (IHC)

Para la estandarización de la prueba de IHC se utilizaron cortes de tejidos de pacientes diagnosticados con cáncer de mama, cuyo estatus para HER2 ya era conocido, y la validación posterior se realizó en cortes de los 50 bloques de tejido de cáncer gástrico.

De las 50 muestras analizadas, en 2 (4%) se observó tinción fuertemente positiva para HER2 en centros de células de cáncer distribuidos de manera heterogénea en la lesión maligna, contiguo a zonas negativas para esta oncoproteína. La tinción de las células de cáncer positivas para HER2 se localizaba mayoritariamente en la membrana basolateral o lateral (Figura 10 A y B). De acuerdo con los criterios de puntaje (*scoring*) utilizados para

cuantificar la expresión de HER2 mediante IHC en cáncer gástrico, a la tinción fuertemente positiva en membranas en al menos un 10% de las células de cáncer se les asigna el máximo puntaje, 3+.⁴⁹ En concordancia con estos criterios, los 2 casos anteriormente descritos correspondían a pacientes con sobreexpresión de HER2 (HER2 3+) (Figura 10A y B). En 2 casos se observó inmunorreactividad apenas perceptible en conglomerados de células de cáncer que correspondían a menos del 10% del total de las células malignas, lo cual de acuerdo con los criterios de clasificación correspondía a HER2 1+ (Figura 1D). Las 46 muestras restantes resultaron negativas para HER2 de acuerdo al análisis de inmunohistoquímica (Figura 10C, Cuadro 26:Anexo 7).

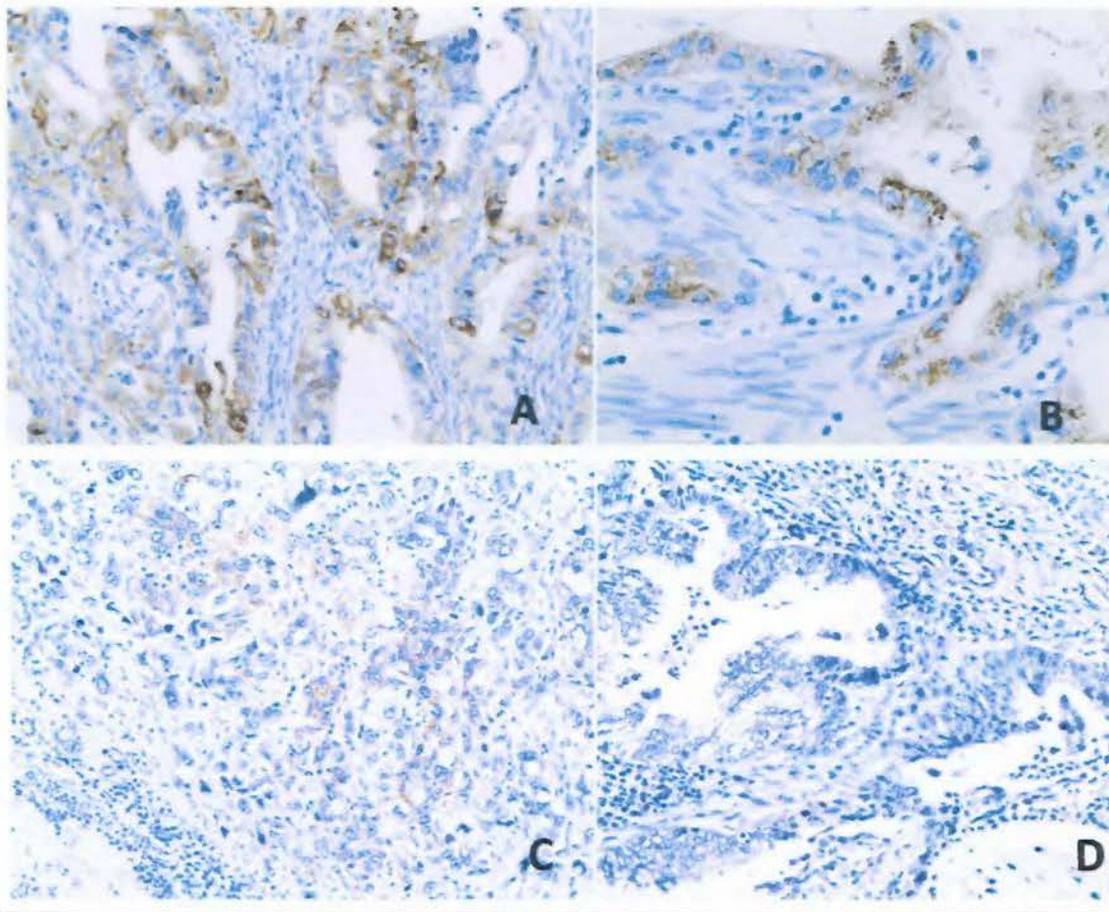


Figura 10. Inmunohistoquímica para HER2 en muestras de tejido de cáncer gástrico avanzado. (A y B) Tinción positiva (color café) de la membrana celular basolateral o lateral en forma heterogénea IHC 3+ (20X), (C) Tinción leve apenas visible IHC 1+ (20X), (D) Ausencia de tinción en membrana IHC 0 (10X)

Prueba de hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

Para la estandarización de la prueba confirmatoria de FISH se utilizaron los mismos tejidos de pacientes diagnosticados con cáncer de mama con estatus de HER2 conocido que se usaron para la IHC. Para la validación de la prueba, se trabajó con cortes de los 50 bloques de tejido quirúrgico de cáncer gástrico mencionados.

Al llevar a cabo las pruebas de FISH en las muestra de tejido de lesiones de cáncer gástrico se observó un 100% de concordancia entre estas y la IHC. Específicamente, se observó amplificación del gen que codifica para HER2 en las 2 muestras con sobreexpresión de la proteína HER2 de acuerdo a la tinción por IHC (Figura 11 A). Los valores de la razón HER2/CEN 17 fueron mayores a 2 en ambas muestras (Anexo 7), lo cual de acuerdo con los criterios estándar se considera como amplificación del gen⁴⁹. En los 48 casos restantes, la prueba de FISH demostró que la relación HER2/CEN 17 era menor que 2, lo cual significa que no había amplificación del gen que codifica para HER2 en estos casos (Figura 11 A y B, Anexo 7).

Como controles para la estandarización se incluyeron: 1) láminas de cáncer de mama con sobreexpresión de HER2 y amplificación del gen correspondiente; 2) cortes de tejido que son incluidos como parte de los insumos del Kit HercepTest para ser utilizadas como control positivo. Adicionalmente, se hizo una repetición de la prueba de FISH con cortes de las dos muestras de cáncer gástrico que, después de realizar el FISH y la IHC, presentaron amplificación y sobreexpresión de HER2 (HER2 3+), respectivamente. Esta repetición se hizo en las instalaciones del Laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Calderón Guardia, es decir en diferentes instalaciones y haciendo uso de equipo y reactivos diferentes a los del primer análisis (realizado en el INISA), con la intención de garantizar las reproducibilidad de los ensayos de FISH. Todas estas pruebas control resultaron satisfactorias, con lo cual se confirmó la veracidad y reproducibilidad del análisis de FISH.

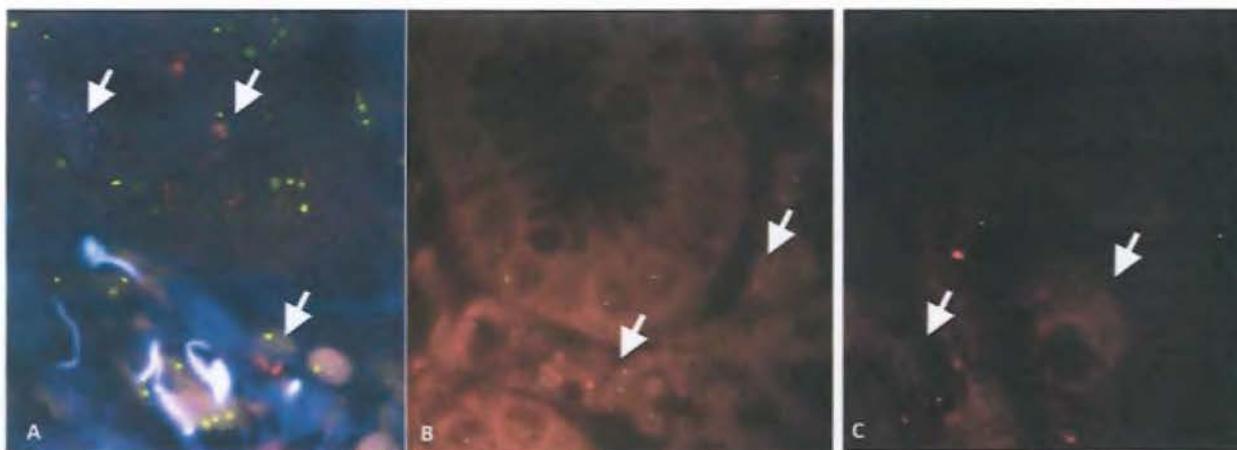


Figura 11. Hibridación Fluorescente in situ en células tumorales de cáncer gástrico avanzado. La señal verde corresponde al cromosoma 17 (CEN 17) y la señal roja corresponde al gen que codifica para HER2 (A) Amplificación del gen *erbB2* (HER2) (40X). (B,C) Relación normal entre HER2/CEN 17 (40X)

En el cuadro 25 se incluyen los resultados de las prueba diagnóstica de IHC y la prueba confirmatoria de FISH para HER2 realizada en las 50 muestra de tejido. De acuerdo con los análisis, tan sólo el 4% de las muestras presentó expresión aumentada para HER2+ (Anexo 7 para más detalles de las pruebas).

CUADRO 25

Resultados de las pruebas de inmunohistoquímica (IHC) e hibridación fluorescente in situ (FISH) de los tejidos parafinados utilizados

Pruebas de Validación		n(%)
IHC		
	0 – 1+	48 (96)
	2+	0 (0)
	3+	2 (4)
FISH		
	> 2	2 (4)
	< 2	48 (96)

Capítulo V

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó los beneficios de las diferentes terapias farmacológicas utilizadas en Costa Rica para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable. La importancia de contar con esta información es la no existencia de evaluaciones similares a la que aquí se llevó a cabo para el país, lo cual es de suma relevancia especialmente si se toma en consideración la alta incidencia y mortalidad del cáncer gástrico en Costa Rica. En general, los resultados de este estudio indican que los pacientes con cáncer gástrico avanzado en estadíos no metastásicos que son operados no obtienen un beneficio adicional, en términos de sobrevida, al recibir quimioterapia posterior a la cirugía. Sin embargo, la utilización de la quimioterapia en pacientes con cáncer gástrico metastásico si extiende la sobrevida de los pacientes. Resultados como estos ponen en evidencia la necesidad de hacer análisis sistemáticos, como el aquí llevado a cabo, para replantear las estrategias a seguir en el tratamiento/manejo oncológico del cáncer en Costa Rica.

Uno de los hallazgos más interesantes que arroja el presente estudio es la relevancia que tiene la razón de ganglios linfáticos (LNR), definida como la proporción de ganglios positivos entre el total de ganglios disecados, como un factor pronóstico en cáncer gástrico. Esto viene a confirmar estudios recientes que demuestran que el LNR es un parámetro a tomar en cuenta para predecir la sobrevida libre de progresión y global de los pacientes con este tipo de tumor maligno.⁷⁷

Aunque este estudio no fue diseñado para determinar la prevalencia de la sobreexpresión del HER2 en cáncer gástrico en Costa Rica, los datos obtenidos de los expedientes y la validación realizada sugieren que la prevalencia de casos de cáncer gástrico con sobreexpresión de HER2 en Costa Rica oscila entre 4% y 8%, siendo este estudio el primero que presenta una estimación de esta prevalencia en el país.

A continuación, se pasa a discutir con mayor detalle los resultados obtenidos en las dos fases del estudio.

Fase I: Evaluación de las terapias farmacológicas en expedientes clínicos

El cáncer gástrico sigue siendo un tumor de importancia a nivel mundial pues aun cuando las tasas de incidencia han disminuido en los últimos años, el número absoluto de muertes por este tumor maligno continúa en aumento.^{1-2,11,78} En Costa Rica las tasas de incidencia han venido a la baja desde hace varias décadas, sin embargo, esta enfermedad sigue siendo la segunda causa de muerte por neoplasias en hombres y la quinta en mujeres.^{61,65,78} En el presente estudio, las provincias donde más casos de cáncer gástrico se presentan son San José y Cartago, lo cual concuerda con los datos que presenta el Registro Nacional de Tumores del Ministerio de Salud, donde para el año 2013 San José presentaba 22.2 casos nuevos y Cartago 20.93 casos nuevos por cada 100.000 hombres. En el caso de las mujeres, para el mismo año se reportó 12.57 casos, y 12.33 casos por cada 100.000 mujeres en San José y Cartago respectivamente.⁶⁵

Cuando se analiza el manejo de los 490 pacientes incluidos en este estudio, se observa que un 78% de los pacientes en estadio no metastásico fueron sometidos a cirugía, lo cual concuerda con las recomendaciones de las guías internacionales para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado, en las que se considera a la remoción quirúrgica del tumor maligno como la primera opción de tratamiento. La gastrectomía radical o subtotal está indicada para estadios IB a III, de acuerdo al sitio y características del tumor.^{5,75-76,79} Los pacientes en estadio metastásico (IV), aquellos pacientes con carcinomas gástricos que invaden peritoneo o en estadios localmente avanzados (ganglios linfáticos N3 o N4) se consideran irresecables. La utilización de quimioterapia es la primera línea para estos pacientes.^{75-76,78,79}

La sobrevida global para todos los 490 pacientes incluidos en la presente investigación es de 14.7 meses, (IC 95%: 11.8 – 17.7). La sobrevida global a 5 años para cáncer gástrico en el mundo oscila entre 24 meses en tumores resecables con intención curativa, 8.1 meses para tumores en estadio metastásico operados con intención paliativa y 5.4 meses en los pacientes con enfermedad avanzada metastásica no operable. Los datos de sobrevida no han sufrido grandes cambios en las últimas décadas, a pesar del advenimiento de terapias novedosas.⁸⁰ En casos en los que la enfermedad ha invadido ganglios linfáticos la sobrevida es de aproximadamente un 30% a 5 años, y en estadios metastásicos llega a ser igual o menor al 5%.^{64, 70 81}

Con respecto al grupo de pacientes gastrectomizados y que no estaban en estadios metastásicos, este estudio revela que el tipo de disección ganglionar realizada no repercute en la sobrevida global o en la sobrevida libre de progresión de estos pacientes. Es importante hacer notar que en la mayoría de los pacientes la disección realizada era de tipo D2. Los beneficios de las disecciones D2 en el aumento de sobrevida en los pacientes ha sido controversial, lo cual ha generado que en los países occidentales este tipo de disecciones sean recomendadas, pero no son consideradas como el estándar de tratamiento.⁸²⁻⁸⁴ Se ha observado un mayor beneficio de las disecciones ganglionares D2 en los pacientes en estadio T3.⁸⁴ En Japón, por su parte, la gastrectomía con disección de nódulos linfáticos extendida (D2) si es considerada como el estándar de tratamiento para pacientes con cáncer gástrico en estadios II o III.⁸⁵ Es importante tomar en consideración que Costa Rica ha sido influenciada por los países orientales, especialmente Japón, con respecto al manejo de los pacientes con cáncer gástrico, y en consecuencia las cirugías con disección ganglionar D2 son el estándar de tratamiento. Esto explica la alta frecuencia de las cirugías D2 en los datos del estudio, y podría también ser un factor que incide en el hecho de que no se haya encontrado diferencias en la sobrevida global y la sobrevida libre de progresión de los pacientes, con respecto a aquellos a los que se les practicó cirugía de tipo D1. Sería necesario realizar estudios con muestras mayores para valorar el impacto de las cirugías D2 con respecto a las D1 antes de concluir al respecto.

De los estudios realizados en los países de Occidente con el objetivo de evaluar el impacto en la sobrevida de acuerdo al tipo de disección realizada en el paciente, sobresalen el *British Cooperative Trial (BCT)* realizado por el *Medical Research Council in the United Kingdom*, y el *Dutch Gastric Cancer Trial (DGCT)*.⁸⁶⁻⁸⁷ En ninguno de los dos estudios se reportó diferencia en las tasas de sobrevida a los 5 años (35% D1 versus 33% D2, HR 1.03, p: 0.82 para *BCT* y 30% D1 versus 35% D2, p: 0.53 para *DGCT*).⁸⁶⁻⁸⁷ El seguimiento de los pacientes del *DGCT* se realizó por 15 años, lo cual permitió asociar las cirugías D2 con una menor recurrencia locoregional y menores tasas de mortalidad asociadas al cáncer gástrico.⁸⁸ Otros estudios realizados en países occidentales (Australia, España) reportan mejores tasas de sobrevida global en los pacientes que son sometidos a cirugías D2, acordes a lo reportado por los estudios realizados en Japón.^{76, 89}

Además del tipo de disección realizada, la presencia/ausencia de tumor residual en los márgenes quirúrgico posterior a la cirugía es un parámetro con comprobada utilidad pronóstico, específicamente en relación con la sobrevida de los pacientes.^{5, 70, 90} Una cirugía cuyos márgenes quirúrgicos estén libres de células de cáncer o negativos (R0) aumenta la sobrevida de los pacientes en comparación a una cirugía con márgenes positivos (R1/R2).⁹⁰⁻⁹² Los resultados de este estudio corroboran estas observaciones, al demostrar que la sobrevida libre de progresión y global de los pacientes con cáncer gástrico avanzado en Costa Rica aumenta cuando la gastrectomía tiene márgenes negativos. No todas las cirugías que se realizan son R0 por factores como son la localización y el tamaño del tumor.

Además del tipo de disección de los nódulos linfáticos regionales, el número de ganglios que se extraen es un aspecto determinante cuando se realiza cirugía en cáncer gástrico, principalmente por la alta prevalencia de metástasis en esta zona.^{76, 87-88, 93} Algunos estudios han demostrado un beneficio en sobrevida entre mayor sea la cantidad nódulos que se extraen en la cirugía sobre todo cuando se realizan disecciones D2,⁸²⁻⁸³ sin

embargo, la recomendación de las guías internacionales es la extracción de al menos 15 ganglios linfáticos para determinar en forma confiable el estadio del paciente.^{5,79, 82} El valor promedio de ganglios disecados en los pacientes de este estudio, así como el tipo de disección que se realiza, permite ver que el país tiene un manejo adecuado y de acuerdo a las recomendaciones internacionales, sin embargo, debido a que este es un estudio retrospectivo no fue posible obtener los datos completos de todos los pacientes, lo cual no permitió realizar análisis estadísticos de sobrevida.

Al igual que en los estudios realizados en otras regiones, este estudio permite corroborar que los pacientes que no presentan ganglios regionales metastásicos al momento de la cirugía (N0) tienen mayor sobrevida libre de progresión y sobrevida global que aquellos pacientes con ganglios comprometidos.⁹³⁻⁹⁶ De acuerdo con diversos estudios, los pacientes con estadios N más avanzados presentan peor pronóstico.^{94, 96} Basándose en la biología tumoral, es de esperar que entre más metástasis ganglionares presente un paciente en el momento del diagnóstico, su pronóstico de sobrevida sea menor.

Relacionado directamente con la variable antes discutida, el valor de la razón ganglios linfáticos (LNR) ha demostrado ser un factor pronóstico más confiable que el valor de N en cáncer gástrico.⁹⁷⁻¹⁰⁰ En este estudio se determinó que la sobrevida de los pacientes con cáncer gástrico avanzado disminuye conforme estos presentan mayores valores de LNR. Estos resultados son congruentes con otras investigaciones realizadas en las que se ha determinado que el aumento el valor de LNR se traduce en un mayor riesgo de progresión del cáncer y una menor sobrevida, independientemente del estadio TNM del cáncer.¹⁰¹ El LNR nos permite obtener una mejor evaluación del pronóstico de los pacientes de cáncer gástrico avanzado debido a que la razón de ganglios linfáticos es una indicación de la diseminación de la enfermedad a ganglios, lo cual podría ser un reflejo de características biológicas del cáncer, como por ejemplo la agresividad y capacidad metastásica. El LNR es también un parámetro que está relacionado con la calidad de la cirugía realizada.^{97-99, 101} Los resultados de este estudio, por lo tanto, sugieren que el uso del LNR como un

parámetro pronóstico puede ser de gran valor en el manejo clínico del cáncer gástrico avanzado, e incluso temprano, en los hospitales costarricenses.

De acuerdo con las guías internacionales, la utilización de la cirugía como terapia única para el manejo terapéutico de los pacientes con cáncer gástrico resecable en estadio no metastásico se ha considerado insuficiente, lo que ha llevado al uso de quimioterapia y quimiorradioterapia como alternativas posteriores a la cirugía.^{5, 51, 79} Sin embargo, no se ha podido llegar a un consenso con respecto al tipo de terapia adyuvante más adecuada para usar en estos pacientes, lo cual se atribuye principalmente a que no en todos los países o regiones geográficas se realiza el mismo tipo de cirugía (D0, D1 o D2).⁵¹ Los resultados de este estudio indican que los pacientes de cáncer gástrico avanzado no metastásico que son sometidos a una gastrectomía no reciben un beneficio adicional, en términos de sobrevida global o sobrevida libre de progresión, si les administra quimiorradioterapia o la quimioterapia en forma adyuvante. Lo anterior implica el uso de agentes quimio-radioterapéuticos en personas que no los necesitan, lo cual podría tener importantes repercusiones, tanto en la calidad de vida de estos pacientes, asociados con la aparición de efectos adversos, como en el recurso económico y de personal humano del sistema de salud costarricense. Es importante, sin embargo, tener en cuenta que algunos parámetros clínico-patológicos como el tipo de cirugía realizada (mayoritariamente D2) y el estadio de los pacientes (principalmente estadio III) enrolados en este estudio podrían contribuir a explicar estos resultados. Dadas las implicaciones mencionadas, es necesario hacer estudios posteriores, idealmente con un mayor tamaño de muestra, para establecer con mayor precisión el impacto de estos y otras variables clínico-patológicas en la sobrevida de los pacientes costarricenses de cáncer gástrico avanzado no metastásico.

A nivel internacional, varios estudios han analizado la sobrevida de los pacientes con cáncer gástrico avanzado, de acuerdo a las terapias utilizadas, entre ellos el estudio Intergroup-0116 (INT-0116) realizado en Estados Unidos¹⁰². Este estudio tenía como objetivo determinar la eficacia de la quimiorradioterapia adyuvante con 5FU y leucovorina,

posterior a la gastrectomía, en pacientes con cáncer gástrico o de la unión gastroesofágica en estadios avanzados (IB-IV). El mismo reportó un aumento en la supervivencia global de nueve meses en el grupo con tratamiento adyuvante, en comparación con el grupo sometido a gastrectomía únicamente. De igual forma, la supervivencia libre de progresión fue de 30 meses versus 19 meses, respectivamente.¹⁰² Los resultados del estudio mencionado dieron pie al establecimiento de la quimiorradioterapia posterior a la cirugía R0 como terapia estándar de tratamiento para estos pacientes.⁵ Un factor importante a considerar es que en dicho estudio la mayoría de los pacientes fueron sometidos a una gastrectomía D0 (54%) o D1 (36%), únicamente al 10% se le realizó a una cirugía D2. No se presentaron diferencias de supervivencia en los pacientes que se realizaron la cirugía D2 y que utilizaron quimiorradioterapia en forma adyuvante.^{51,75,79}

Otro estudio similar fue el estudio ACTC-GC, el cual fue realizado en Japón en pacientes sometidos a cirugías D2 con cáncer gástrico avanzado resecable no metastásico⁵⁶. En este estudio se comparó la supervivencia en pacientes con la gastrectomía como terapia única contra aquellos con gastrectomía más quimioterapia adyuvante, con el agente denominado S1. Se determinó que la supervivencia a 5 años difería significativamente entre ambos grupos (71.7% cirugía+ S1 versus 61.1% solo cirugía). Sin embargo, cuando se tomó en consideración el estadio de la enfermedad, se determinó que entre más avanzada la enfermedad (estadios III) menor era el beneficio de la quimioterapia adyuvante.⁵¹ Resultados similares se encontraron en el estudio CLASSIC, el cual evaluó la eficacia de capecitabina y oxaliplatino posterior a la cirugía D2 en pacientes de cáncer gástrico en estadio II y III de Corea del Sur, China y Taiwán, con mayor supervivencia para el grupo tratado con XELOX y menos beneficio en la supervivencia de pacientes en estadio III por el tratamiento.¹⁰³

Todos estos resultados, en conjunto, sugieren que el beneficio de la quimioterapia adyuvante podría no ser tangible en cáncer gástrico avanzado y que hay que considerar variables como el tipo de cirugía y el estadio, para tener un panorama más claro. Países

como Japón, donde hay un alto control del tumor (detección temprana, monitorización de pacientes) y se encuentra estandarizado el tipo de cirugías que se realizan (resecciones D2), la quimioradioterapia post-operatoria no es utilizada en forma rutinaria.⁴ Otros estudios han demostrado que la quimioterapia adyuvante se asocia con muy pocos beneficios en tasas de supervivencia, observándose generalmente más beneficio en supervivencia en los estudios realizados en pacientes de Asia que en los realizados fuera de este continente.^{76, 79, 104} Es por tanto muy importante que cada país realice sus propias evaluaciones sobre el beneficio de las terapias adyuvantes y no se base en estudios llevados a cabo en otras latitudes, dadas las condiciones particulares que se siguen para el manejo oncológico del cáncer gástrico avanzado.

El otro grupo analizado en esta investigación fue el conformado por los pacientes de cáncer gástrico avanzado en estadios metastásicos (estadio IV). El análisis de los datos de ese grupo de pacientes, permitió comprobar que la aplicación de quimioterapia es beneficiosa para los pacientes en estadio metastásico, al aumentar la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión. Las guías internacionales recomiendan la aplicación de la terapia farmacológica paliativa para estos pacientes y reportan aumentos en la supervivencia de 8.6 a 11.1 meses con el uso de quimioterapia.^{5, 76, 79, 105} Dichas observaciones son similares a los obtenidos en el presente estudio. Es, sin embargo, importante hacer notar que los resultados en relación con el impacto de la quimioterapia en pacientes metastásicos, difieren claramente de los obtenidos en el grupo de casos en estadios no metastásicos gastrectomizados, en donde no se demostró un beneficio en la supervivencia. Los pacientes en estadio metastásico fallecen principalmente, debido a las metástasis,¹⁰⁶ es decir a la invasión de la enfermedad a otros órganos del cuerpo; el tratamiento de estos pacientes con quimioterapia logra, por lo tanto, un control de esa enfermedad diseminada ya no tratable con cirugía. Por otro lado, el paciente no metastásico tiene al momento de la cirugía la enfermedad más localizada, por lo que el beneficio de una cirugía no es superable con el uso de medicamentos. Esto se observa también cuando se analiza el

grupo de pacientes en estadíos no metastásicos y que no fueron gastrectomizados, cuya sobrevida es similar a la de un paciente metastásico.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, los pacientes con estadíos metastásicos obtienen mayor beneficio en términos de sobrevida con el uso de las dupletas que con las tripletas. Los regímenes de terapia doble utilizados en Costa Rica son los aprobados por las guías internacionales para los pacientes en estadio IV,^{5,79} los cuales incluyen un platino y una fluoropirimidina.^{79, 107} El uso de tripletas para pacientes con cáncer gástrico avanzado todavía es controversial, debido al aumento de efectos adversos asociado a estas combinaciones, aun cuando se ha demostrado que estas aumentan la sobrevida de los pacientes.^{5,76, 79, 105, 108} Todas las tripletas utilizadas en los pacientes enrolados en este estudio contenían antraciclina, platino y fluoropirimidina, mientras que la terapia doble contenía platinos con fluoropirimidinas. Un meta-análisis realizado para determinar el beneficio en sobrevida de los pacientes con cáncer gástrico o gastroesofágico avanzado asociado al uso de las tripletas, en relación a la terapia doble, demostró que el régimen triple resulta en mayor sobrevida global, mayor tiempo a progresión de la enfermedad y mayores tasas de respuesta, siempre y cuando la tripleta incluya taxano, platino y fluoropirimidina.¹⁰⁸ Según este meta-análisis, el taxano es particularmente importante pues su reemplazo por una antraciclina se traduce en una pérdida en el beneficio de la tripleta, específicamente una sobrevida global similar a la de pacientes sometido a un régimen de terapia doble.¹⁰⁸ Adicional a esto, el riesgo de trombocitopenia grado 3-4, infecciones y mucositis era superior en los pacientes con terapia triple que los que usaron terapia doble,¹⁰⁸ por lo cual el uso de tripletas debe considerar no sólo la combinación que se quiere aplicar, sino también el estado funcional y las comorbilidades de los pacientes.

Otro estudio en el que se analizó el uso de terapia doble o triple como primera línea de tratamiento en pacientes con cáncer gástrico avanzado y metastásico, no reportó diferencias estadísticamente significativas de sobrevida global entre ambos grupos, pero si

una mayor sobrevida libre de progresión y respuesta en los pacientes que utilizaron tripletas. Las tripletas utilizadas en este estudio fueron ECF, DCF, FAM (5FU, doxorrubicina, ciclofosfamida) y cisplatino, 5FU y mitomicina.¹⁰⁹

De lo anterior, se puede concluir que el uso de tripletas no necesariamente se traduce en un mayor beneficio en sobrevida en comparación con un doblete, lo cual podría estar influenciado por muchos factores, tanto biológicos como clínico-patológicos, y los tipos de agentes quimioterapéuticos que se combinan. Las estrategias para combinar agentes quimioterapéuticos idealmente deben basarse en criterios biológicos, en donde se hace uso de enfoques genéticos y no de ensayos de “prueba y error” que carecen de fundamentación molecular.¹¹⁰

El estado funcional del paciente es un factor determinante para tomar decisiones sobre el manejo clínico a seguir.^{5, 111} En este estudio los pacientes en estadio IV con un estado funcional (ECOG) entre 0-1 presentaron mayor sobrevida, tanto global como libre de progresión, en comparación con los pacientes con estados funcionales igual o superior a 2. Estos resultados concuerdan con los reportados en estudios realizados en pacientes en estos estadios.^{5, 111-112} En aquellos pacientes en estadio metastásico y estados funcionales mayor a 3, los beneficios de la terapia no superan los efectos adversos propios de la medicación, y al ser pacientes en estados fisiológicos complejos el manejo que debe realizarse es paliativo con terapia de soporte.^{5, 111}

El grupo de pacientes con cáncer gástrico avanzado no metastásico que no fueron sometidos a cirugía, presenta sobrevida libre de progresión y sobrevida global similares a la de los pacientes en estadio metastásico. No se observaron diferencias de sobrevida en este grupo debido al uso de quimioterapia o en función del estado funcional del paciente. Estos resultados refuerzan los expuestos anteriormente, que indican que para un paciente con cáncer gástrico avanzado no metastásico la gastrectomía es el factor más importante para aumentar la sobrevida. Es recomendable, sin embargo, realizar estudios con grupos más grandes de pacientes para confirmar estos resultados.

Con respecto a los efectos adversos reportados para los pacientes enrolados en este estudio, todas las toxicidades que se presentaron corresponden a efectos adversos que han sido previamente reportados para las terapias administradas.^{106, 113-114} Debido a que la poca incidencia de reportes de efectos adversos, no se puede concluir mucho sobre los análisis estadísticos realizados con esta variable. Por esta misma razón no se pudo abordar la relación entre la aparición de efectos adversos y variables como estado funcional y edad. La literatura indica que, en un paciente adulto mayor, la utilización de quimioterapia debe sopesarse mas principalmente debido a las comorbilidades del paciente, interacciones que se pueden presentar entre medicamentos y los cambios a nivel de farmacocinética y farmacodinámia que se sufre con la edad, lo que puede llevar a un aumento de la toxicidad o menor eficacia de los medicamentos.¹¹⁵⁻¹¹⁶ El ajuste en la dosis de acuerdo a su función renal o hepática y un mayor control ante la posible aparición de mayor cantidad de efectos adversos, o la aparición de estos en un grado más importante, es una práctica común con los pacientes geriátricos.^{115,117} Sin embargo, la selección adecuada del paciente geriátrico permite asegurar un tratamiento eficaz y seguro¹¹⁸, por lo que la edad como parámetro independiente no debe de considerarse un factor limitante para la administración del tratamiento farmacológico.¹¹⁷⁻¹¹⁸ Finalmente, en esta investigación no se observó diferencias en cuanto a las toxicidades que se presentan de acuerdo a los tipos de terapias utilizadas, contrario a la mayoría de los estudios, donde sí se reportan diferencias con las diversas opciones terapéuticas que se utilizan.^{5, 103, 106, 108-109} Esta diferencia con respecto al presente estudio puede deberse principalmente al número bajo de reportes de toxicidades obtenidos y la variedad de terapias utilizadas para el grupo de pacientes aquí estudiados.

Fase II: Estandarización y Validación de las pruebas de IHC y FISH

La sobreexpresión de HER2 en algunos tumores gástricos malignos ha sido descrita en múltiples estudios,^{43,46, 49, 119} sin embargo, las pruebas para el diagnóstico y la confirmación suelen presentar variabilidad debido factores como los criterios de interpretación y las condiciones en las que se realizan los ensayos. Por lo anterior, la

estandarización y validación de estas pruebas se considera un requisito necesario para la puesta en práctica de la prueba en un laboratorio.¹²⁰ Las pruebas realizadas como parte de esta investigación permitieron la estandarización y validación de esta prueba para la sobreexpresión de la proteína HER2 en cáncer gástrico en Costa Rica, específicamente para pacientes de cáncer gástrico, de manera que pueda ser implementada como parte de los análisis de rutina que se llevan a cabo en los hospitales de referencia y esté a disposición de los médicos cuando así lo requieran.

Con respecto a la realización de las pruebas para determinar la sobreexpresión de HER2 en pacientes con cáncer gástrico, la revisión de los expedientes clínicos permitió concluir que en Costa Rica son pocos los casos a los que se les solicita el análisis de IHC y menor aun los que se verifican con la prueba de FISH. Los resultados también indican que el porcentaje de pacientes con cáncer gástrico avanzado con sobreexpresión de HER2 en cáncer gástrico está entre un 4% y un 8%. El no realizar estas pruebas, principalmente a los pacientes con tumores gástricos en estadios avanzado o metastásico, de localización anatómica distal y subtipo histológico intestinal, está impidiendo que algunos pacientes de esta población se beneficien de recibir la terapia anti-HER2 específica.

De acuerdo con los estudios realizados para determinar la expresión de HER2 en cáncer gástrico, esta oncoproteína tiende a estar sobre expresada en pacientes con cáncer gástrico de subtipo histológico intestinal (clasificación de Lauren), seguido por los pacientes con cáncer gástrico de tipo mixto y en mucho menor proporción en cáncer difuso.^{43,45} El cáncer gástrico que se clasifica como anillo de sello generalmente es negativo.⁴³ En este estudio, se determinó sobreexpresión de la oncoproteína HER2 (HER2 3+) en 2 casos de los 50 que fueron analizados, lo cual representa aproximadamente un 4% del total. A pesar de la utilización del sistema de clasificación histológica de la OMS, se pudo determinar que estos dos casos correspondían a tumores de subtipo histológico bien diferenciado y moderadamente diferenciado (intestinales de acuerdo a la clasificación de Lauren). El bajo número de casos con sobreexpresión de HER2 no permitió realizar análisis estadísticos posteriores. También se ha reportado una mayor prevalencia de casos con sobreexpresión de HER2 en cáncer de la unión gastroesofágica.⁴³ En el presente estudio,

uno de los casos positivos para HER2 estaba localizado en la unión gastroesofágica y el otro se localizaba en cuerpo. Las muestras que presentaron algún tipo de inmunoreactividad, incluyendo las que fueron consideradas como HER2 1+, presentaron un patrón de tinción heterogénea, lo cual es característico de las células tumorales gástricas. Esta heterogeneidad puede presentarse casi en un 5% de los casos de cáncer gástrico con sobreexpresión de HER2, situación poco común en cáncer de mama.^{43 45, 49}

Al llevar a cabo la prueba confirmatoria del FISH en los 50 casos de cáncer gástrico, posterior a su estandarización, se pudo determinar que los dos casos en los que se observó sobreexpresión de HER2 mediante IHC también presentaban amplificación del gen que codifica para esta oncoproteína. La sobreexpresión de HER2 y la amplificación del gen en este tipo de cáncer es una anomalía celular que se han relacionado con un peor pronóstico y un fenotipo más agresivo del cáncer.^{121, 122}

Un resultado de buena calidad, y por lo tanto confiable, es primordial al realizar pruebas de IHC o FISH para HER2. La confiabilidad de las pruebas depende entre otros factores de un buen manejo y procesamiento de la muestra de tejido. En ese sentido, algunos de los factores de especial interés son el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra de tejido, sea esta post-quirúrgica o biopsia, y la fijación en formalina, la incrustación del tejido en parafina, la destreza al hacer el corte del tejido y la adecuada desparafinización del tejido de cara a la realización de la IHC o el FISH.⁴³ El único factor controlable en este estudio fue el proceso de desparafinización del tejido previo a la prueba de IHC y FISH. Este es un proceso importante ya que la desparafinización insuficiente puede llevar a la formación de burbujas y resultar en sobredigestión de la muestra⁴³, lo cual ocurrió en dos de las pruebas preliminares del FISH.

Aunque el presente estudio no permite determinar la prevalencia real del oncogen HER2 en cáncer gástrico en Costa Rica, debido a que en muy pocos de los expedientes se solicitó la prueba para HER2, y los 50 casos utilizados para la estandarización y validación de la prueba no fueron escogidos al azar; si es posible decir que la prevalencia de casos con sobreexpresión de HER2 en Costa Rica podría oscilar entre un 4-8%. Estos porcentajes son

esperables, ya que los estudios han demostrado la alta variabilidad de sobreexpresión para HER2 que se presentan en los diversos países, con porcentajes que van desde 4% hasta 53%, con una media a nivel mundial del 17%.¹²¹⁻¹²² De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, podría considerarse la solicitud de la prueba de IHC y FISH al menos en aquellos casos que, de acuerdo con sus características clínico-patológicas, tienen mayor probabilidad de ser positivos para HER2, y que en caso de sobreexpresar la oncoproteína puedan beneficiarse de una terapia específica y personalizada para su enfermedad.

Capítulo VI

CONCLUSIONES Y LIMITACIONES

Con este estudio, se hace un gran aporte a la investigación de una de las enfermedades con más incidencia y mortalidad en Costa Rica como lo es el cáncer gástrico. Este constituye uno de los primeros estudios en los que se conoce la realidad de los pacientes con cáncer gástrico costarricenses al momento del diagnóstico y los beneficios del tratamiento. El conocimiento de los resultados descritos en esta tesis podría servir de base para dar un manejo más personalizado de cada individuo de acuerdo a las características personales y de la enfermedad. Entre las principales conclusiones del presente estudio se encuentran:

- En terminos de sobrevida, un paciente con cáncer gástrico avanzado en estadio no metastásico no obtiene un beneficio adicional del uso de radioquimioterapia o quimioterapia adyuvante al obtenido con la cirugía; esto puede deberse a que la enfermedad está más localizada y en la gran mayoría de los casos es posible eliminarla por cirugía y disecciones ganglionares adecuadas. Por lo tanto, debe de evaluarse el uso de terapia farmacológica en los pacientes no metastásicos sometidos a gastrectomía, con el objetivo de disminuir complicaciones en el paciente y los costos asociados al tratamiento.
- La utilización de la quimioterapia en pacientes con cáncer gástrico metastásico (estadio IV) si extiende la sobrevida de este grupo de pacientes, principalmente con el uso de dupletas. Es entonces importante, la administración de terapia farmacológica en este grupo de pacientes con el objetivo de mejorar la sobrevida. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de este estudio, es necesario elegir adecuadamente la terapia a utilizar y conocer el estado funcional del paciente, para brindar un beneficio en supervivencia, pero sin generar toxicidades importantes.

- La sobrevida libre de progresión y sobrevida global de un paciente con cáncer gástrico avanzado va a ser mayor cuando este se encuentra en un estadio no metastásico, se ha sometido a una gastrectomía R0 y tiene una disección ganglionar con nódulos linfáticos negativos (N0). Esto se debe a que la remoción del tumor maligno en este paciente es prácticamente del 100%, al no quedar tumor remanente en el estómago y no haber metástasis a nivel ganglionar.
- Las toxicidades son inherentes a la utilización de la terapia farmacológica, sin embargo, un factor como la edad no debe ser por sí sólo un factor limitante para ofrecer a los pacientes esta opción terapéutica. La evaluación del estado del paciente y la terapia a utilizar son factores más importantes al tomar esta decisión.
- La razón ganglionar (LNR) permite predecir el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico avanzado resecable con mayor precisión que el valor de N. Esto porque este parámetro no sólo permite conocer la existencia de metástasis ganglionares, sino que relaciona la extensión de la enfermedad con la precisión de la cirugía realizada, y como se pudo analizar en este estudio, una cirugía óptima favorece la sobrevida de los pacientes.
- La sobreexpresión de HER2 en cáncer gástrico en Costa Rica parece ser baja, menor al 8%. De acuerdo con la literatura, aquellos pacientes con sobreexpresión y/o amplificación que del gen tienen una enfermedad más agresiva y una sobrevida menor que aquellos que no lo sobreexpresan. Por lo tanto, tener la prueba diagnóstica (IHC) y confirmatoria (FISH) validadas brinda la posibilidad de ofrecerlas a aquellos pacientes que, de acuerdo a sus características clínico-patológicas, tienen más probabilidades de ser HER2-positivos, y que en caso de sobreexpresar la proteína HER2 puedan beneficiarse de una terapia específica y personalizada para su enfermedad.

Limitaciones

- El análisis se realizó con los expedientes que se encontraban en estado activo al momento de la revisión, lo que generó un sesgo, pues los expedientes no encontrados correspondían a pacientes en su mayoría ya fallecidos, cuya información no se pudo obtener.
- No todos los expedientes contenían toda la información que se requería para el estudio, lo que generó muchos datos incompletos en cada uno de los expedientes analizados.
- Hay diferencias importantes en cuanto a la forma de recolectar y mantener la información en el expediente entre los diferentes centros hospitalarios, lo que dificulta la búsqueda de la información.
- Al ser un estudio retrospectivo, no se pudo obtener un reporte de todos los efectos adversos que se presentan, lo que limita e impide obtener resultados concluyentes en este aspecto.
- Factores determinantes al realizar las pruebas de IHC y FISH como son la fijación de las muestras, la colocación en parafina y la forma de almacenarla no se pueden controlar debido a que fueron muestras tomadas del banco de tejidos del laboratorio de patología.

BIBLIOGRAFIA

1. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. *Revisado en: www.globocan.iarc Agosto 2016*
2. *International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Cancer Today. gco.iarc.fr. revisado el 2 de agosto 2016*
3. Sierra M, Cueva P, Bravo LE, Forman D. Stomach cancer burden in Central and South America *Cancer Epidemiology*. 2016; 44: S62–S73
4. Forman D, Pisani P. Gastric Cancer in Japan — Honing Treatment, Seeking Causes. *NEJM*. 2008;359:448-451
5. National Comprehensive Cancer Network. *NCCN Clinical Guidelines for Gastric Cancer*. Version 1:2016:1-84. Lochhead P, El-Omar EM. Gastric cancer. *British medical bulletin*. 2008;85:87-100.
6. Lochhead P, El-Omar EM. Gastric cancer. *British medical bulletin*. 2008;85:87-100.
7. Bertuccio P, Chatenoud L, Levi F, et al. Recent patterns in gastric cancer: A global overview. *International Journal of Cancer*. 2009;125(3):666-673.
8. McColl KEL. Cancer of the gastric cardia. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*. 2006;20(4):687-96.
9. Hayakawa Y, Sethi N, Sepulveda A, Bass A, Wang T. Oesophageal adenocarcinoma and gastric cancer: should we mind the gap? *CANCER*. 2016; 16: 305
10. Alpizar-Alpizar W. Gastric Adenocarcinoma: aspects of development and progression in high and low risk countries. 2009;(September).
11. World Health Organization. *World Health Organization Databank: Cancer*. 2012.
12. Uemura N, Okamoto S, Amamoto S, Matsumura R, Al E. Helicobacter Pylori infection and the development of Gastric Cancer. *New England Journal Of Medicine*. 2001; 345(11):784-789.

13. Alpízar-Alpízar W, Pérez-Pérez GI, Une C, Cuenca P, Sierra R. Association of interleukin-1B and interleukin-1RN polymorphisms with gastric cancer in a high-risk population of Costa Rica. *Clinical and experimental medicine*. 2005;5(4):169-76.
14. Con S, Takeuchi H, Valerín AL, et al. Diversity of *Helicobacter pylori* cagA and vacA genes in Costa Rica: its relationship with atrophic gastritis and gastric cancer. *Helicobacter*. 2007;12(5):547-52.
15. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000;404(6776):398-402.
16. Machado JC, Pharoah P, Sousa S, et al. Interleukin 1B and Interleukin 1RN Polymorphisms Are Associated With Increased Risk of Gastric Carcinoma. *Gastroenterology*. 2001;121(4):823-829.
17. El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, et al. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2003; 124(5):1193-1201.
18. Furuta T. Interleukin 1B polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology*. 2002; 123(1):92-105. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508502000677>. Accessed June 11, 2012.
19. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sipponen P. Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*. 2006; 20(4):651-74.
20. Espejo H, Navarrete J. Clasificación de los Adenocarcinomas de estómago. *Revista Gastroenterología*. 2003; 23:199-212.
21. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, et al. Gastric cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2005; 54(3):209-41.
22. Axon A. Symptoms and diagnosis of gastric cancer at early curable stage. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2006;20(4):697-708.

23. Correa P. Human Gastric Carcinogenesis : A Multistep and Multifactorial Process First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research*. 1992; 52(18):6735-6740.
24. Islami F, Sheikhattari P, Ren J, Kamangar F. Gastric atrophy and risk of oesophageal cancer and gastric cardia adenocarcinoma- a systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology*. 2010; 22:754-60.
25. Takeshi S Takashi A. New Japanese classifications and treatment guidelines for gastric cancer: revision concepts and major revised points. *The International Gastric Cancer Association and The Japanese Gastric Cancer Association* 2011;14: 97-100
26. Rodríguez J, Sasako M, Osorio J. TNM 7.a edición 2009 (UICC/AJCC) y Clasificación Japonesa 2010 en Cáncer Gástrico. Hacia la simplicidad y estandarización en el manejo del cáncer gástrico. *CIR ESP*. 2011; 89(5):275–281
27. Shah M, Kelsen D. Gastric and Gastroesophageal Adenocarcinoma. In: *The molecular Basis of Cancer.*; 2008:491.
28. Yasui W, Sentani K, Sakamoto N, et al. Molecular pathology of gastric cancer: research and practice. *Pathology, research and practice*. 2011; 207(10):608-12.
29. Stemmermann GN, Fenoglio-Preiser C. Gastric carcinoma distal to the cardia: a review of the epidemiological pathology of the precursors to a preventable cancer. *Pathology*. 2002; 34(6):494-503.
30. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2007; 133(2):659-72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681184>. Accessed March 11, 2012.
31. Carneiro F, Oliveira C, Suriano G, Seruca R. Molecular pathology of familial gastric cancer, with an emphasis on hereditary diffuse gastric cancer. *Journal of clinical pathology*. 2008;61(1):25-30.
32. Hanahan D, Weinberg R a. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144(5):646-74.

33. Croce CM. Oncogenes and cancer. *The New England journal of medicine*. 2008; 358(5):502-11.
34. Yasui W, Oue N, Aung PP, et al. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review. *Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association*. 2005; 8(2):86-94.
35. Medina, PJ. Shord S. Cancer Treatment and Chemotherapy. In: R, Talbert. JT, DiPiro. GR, Matzke. LM, Posey. BG, Wells. GC Y, ed. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 8th ed. 2011.
36. Fornaro L, Lucchesi M, Caparello C, et al. Anti-HER agents in gastric cancer: from bench to bedside. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. 2011;8(7):369-83.
37. Ross JS, Mulcahy M. HER2 Testing in Gastric / Gastroesophageal Junction Adenocarcinomas : Unique Features of a Familiar Test Signal Transduction by the HER Family Promotes. *Cancer Research*. 2011; 4(2):62-66.
38. Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *The New England journal of medicine*. 2008; 358(11):1160-74.
39. Eccles SA. The epidermal growth factor receptor / Erb-B / HER family in normal and malignant breast biology. *The International Journal Of Developmental Biology*. 2011; 44(November):685-696.
40. Takeuchi K, Ito F. Receptor Tyrosine Kinases and Targeted Cancer Therapeutics. *Biol.Pharm Bull*. 2011; 34(12):1774-1780.
41. Slamon D, Clark G, Wong S, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987; 235(4785):177-182.
42. Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A. HER2 diagnostics in gastric cancer — guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Archiv*. 2010; 457:299-307.
43. Ruschoff J, Hanna W, Bilous M, et al. HER2 testing in gastric cancer : a practical approach. *Modern Pathology*. 2012:1-14.

44. Fox S, Kumarasinghe MP, Armes J, Bilous M, Cummings M. Gastric HER2 Testing Study (GaTHER): An evaluation of Gastric/Gastroesophageal Junction Cancer testing accuracy in Australia. *Am Journal Surg Pathology*. 2012; 0(0).
45. Park YS, Hwang HS, Park HJ, et al. Comprehensive analysis of HER2 expression and gene amplification in gastric cancers using immunohistochemistry and in situ hybridization: which scoring system should we use? *Human pathology*. 2012; 43(3):413-22
46. Bang Y-jue, Cutsem EV, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3 , open-label , randomised controlled trial. *The Lancet*. 2010;376(9742):687-697.
47. Croxtall JD, Mckeage K. Trastuzumab In HER2-Positive Metastatic Gastric Cancer. *Drugs*. 2010; 70(17):2259-2267.
48. Food and Drug Administration. Highlights of prescribing information for trastuzumab. 2010:1-33.
49. Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008;52(7):797-805.
50. Cidon EU, Centeno RG, Lagarto EG, Peral JI. HER-2 Evaluation in a Specific Gastric Cancer Population with the Highest Rate of Mortality in Spain. *Journal of Oncology*. 2011.
51. Takahashi T, Saikawa Y , Kitagawa Y. Gastric Cancer: Current Status of Diagnosis and Treatment. *Cancers*. *Cancers*. 2013; 5: 48-63.
52. Meza-junco J, Sawyer MB. Critical appraisal of trastuzumab in treatment of advanced stomach cancer. *Cancer Managment and Research*. 2011;3:57-64. 39.
53. Ohtsu A, Shimada Y, Shirao K, Boku N. Randomized Phase III Trial of Fluorouracil alone versus Fluorouracil plus cisplatin versus uracil and tegafur plus mitomycin in Patients with unresectable, advanced gastric cancer: The Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG9205). *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(1):54-59.

54. MacDonald J, Schein P, Woolley P, et al. 5-Fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin (FAM) combination chemotherapy for advanced gastric cancer. *Ann Internal Medicine*. 1980;93(4):533-536.
55. Okines AFC, Norman AR, Mccloud P, Cunningham D. Meta-analysis of the REAL-2 and ML17032 trials: evaluating capecitabine-based combination chemotherapy and infused 5-fluorouracil-based combination chemotherapy for the treatment of advanced oesophago-gastric cancer. *Annals of Oncology*. 2009;20:1529-1534.
56. Mochiki E, Ogata K, Ohno T, et al. Phase II multi-institutional prospective randomised trial comparing S-1+paclitaxel with S-1+cisplatin in patients with unresectable and/or recurrent advanced gastric cancer. *British journal of cancer*. 2012;1-6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22617130>. Accessed June 3, 2012.
57. Okines A, Ashley S, Cunningham D, et al. Epirubicin, Oxaliplatin, and Capecitabine With or Without Panitumumab for Advanced Esophagogastric Cancer: Dose-Finding Study for the Prospective Multicenter, Randomized, Phase II/III REAL-3 Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(25):3945-3950.
58. Al-Batran S, Hartmann J, Probst S, Schmalenberg H. Phase III Trial in Metastatic Gastroesophageal Adenocarcinoma with Fluorouracil, Leucovorin Plus Either Oxaliplatin or Cisplatin: A Study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(9):1435-1442.
59. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2014;383:31-39.
60. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E, et al. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1224-1235.

61. Caja Costarricense del Seguro Social. (CCSS) Educación en salud: proyecto cáncer. Incidencia y mortalidad Cáncer en Costa Rica. Disponible en URL: <http://www.ccss.sa.cr/cancer>. Accesado: 9/8/2016
62. Sierra R, Barrantes R. Epidemiología y Ecología del cáncer gástrico en Costa Rica. *Bol of Sanit Panam*. 1983;95(6).
63. Caja Costarricense del Seguro Social. CCSS educación en salud proyecto cáncer 2012: Incidencia y mortalidad del Cáncer en Costa Rica. Costa Rica: 2014. Disponible en URL: <http://www.ccss.sa.cr/cancer?v=41>. Accesado: <8/8/2016>
64. American Cancer Society. Cancer Situation Costa Rica. 2004:1-3. Available at: <http://www.cancer.org>.
65. Ministerio Salud D. *Memoria Institucional Ministerio de Salud, Costa Rica*. Costa Rica; 2010.
66. Sierra R, Muñoz N, Peña AS. Antibodies to *Helicobacter pylori* and pepsinogen levels in children from Costa Rica : comparison of two areas with different risks for stomach cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 1992; 1:449-454.
67. Rosero-Bixby L, Sierra R. X-ray screening seems to reduce gastric cancer mortality by half in a community-controlled trial in Costa Rica. *British journal of cancer*. 2007; 97(7):837-43.
68. Sierra R, Une C, Ramirez V, et al. Relation of atrophic gastritis with *Helicobacter pylori*-CagA(+) and interleukin-1 gene polymorphisms. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2008;14(42):6481-7.
69. Sierra R, Une C, Ramírez V, et al. Association of serum pepsinogen with atrophic body gastritis in Costa Rica. *Clinical and experimental medicine*. 2006;6(2):72-8.
70. Elimova E, Wadhwa R, Charalampakis N, Phan A.T., Das P, Murphy M (2016). Gastric, Gastroesophageal Junction, and Esophageal Cancers. In Kantarjian H.M., Wolff R.A. (Eds), *The MD Anderson Manual of Medical Oncology*, 3e. 2016. Acesado: 13 Julio, 2016 from <http://accessmedicine.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr>.

71. Lee J, Lim T, Uhm JE, et al. Prognostic model to predict survival following first-line chemotherapy in patients with metastatic gastric adenocarcinoma. *Annals of oncology*. 2007;18(5):886-91.
72. Yan S-yan, Hu Y, Fan J-gao, et al. Clinicopathologic significance of HER-2 / neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2011;17(11):1501-1506.
73. Bozzeti C, Negri F, Lagrasta C, et al. Comparison of HER2 status in primary and paired metastatic sites of gastric carcinoma. *British Journal of Cancer*. 2011;104(9):1372-1376.
74. Matuschek C, Bolke E, Peiper M, WT K. The role of neoadjuvant and adjuvant treatment for adenocarcinoma of the upper gastrointestinal tract. *European Journal Of Medicine Research*. 2011;16:265-274.
75. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 345:725- 30.
76. Kuo CY, Chao Y, Li CH. Update on treatment of gastric cancer. *Journal of the Chinese Medical Association* 77 (2014) 345-353
77. Yamashita K, et al., Lymph node ratio as a novel and simple prognostic factor in advanced gastric cancer, *Eur J Surg Oncol* ;2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2016.03.001>
78. Lim S, Muhs BE, Marcus SG, et al. Results following resection for stage IV gastric cancer; are better outcomes observed in selected patient subgroups? *J Surg Oncol* 2007; 95:118-122.
79. Okines A, Verheij M, Allum W, Cunningham L, Cervantes A. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2010; 21: v50–v54
80. Dicken B, Bigam D, Cass C, Mackey J, Joy A, Hamilton S. Gastric Adenocarcinoma. Review and Considerations for Future Directions. *Ann Surg*. 2005; 241: 27–39.

81. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015; 136(5):E359-E386.
82. Smith DD, Schwarz RR, Schwarz RE. Impact of total lymph node count on staging and survival after gastrectomy for gastric cancer: data from a large US-population database. *J Clin Oncol* 2005; 23:7114-7124.
83. Schwarz RE, Smith DD. Clinical impact of lymphadenectomy extent in resectable gastric cancer of advanced stage. *Ann Surg Oncol* 2007;14:317-328
84. Dezsó Tóth, János Plósz, Miklós Török. Clinical significance of lymphadenectomy in patients with gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2016; 8(2): 136-146
85. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M et al. Adjuvant Chemotherapy for Gastric Cancer with S-1, an Oral Fluoropyrimidine. *NEJM*. 2007; 357:1810-20.
86. Cuschieri A, Weeden S, Fielding J, Bancewicz J, Craven J, Joypaul V, et al. Patient survival after D1 and D2 resections for gastric cancer: longterm results of the MRC randomized surgical trial. Surgical Co-operative Group. *Br J Cancer* 1999; 79:1522e30.
87. Hartgrink HH, van de Velde CJ, Putter H, Bonenkamp JJ, Klein Kranenbarg E, Songun I, et al. Extended lymph node dissection for gastric cancer: who may benefit? Final results of the randomized Dutch gastric cancer group trial. *J Clin Oncol* 2004; 22:2069e77.
88. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomized nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11:439e49.
89. Jatzko GR, Lisborg PH, Denk H, et al. A 10-year experience with Japanese-type radical lymph node dissection for gastric cancer outside of Japan. *Cancer* 1995;76:1302

90. Roder J, Bottcher K, Siewert R, Busch R, Hermanek P, Meyer HJ and the German Gastric Carcinoma Study Group. Prognostic Factors in Gastric Carcinoma: Results of the German Gastric Carcinoma Study 1992. *Cancer*. 2006; 72
91. Hermanek P, Wittekind C. Residual tumor (R) classification and prognosis. *Semin Surg Oncol*. 1994;10(1):12-20.
92. Martin RC, Jaques DP, Brennan MF, Karpeh M. Extended local resection for advanced gastric cancer: increased survival versus increased morbidity. *Ann Surg*. 2002; 236: 159-165
93. Wu CW, Hsiung CA, Lo SS, Hsieh MC, Chen JH, Li AF, et al. Nodal dissection for patients with gastric cancer: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2006; 7:309e15.
94. Yoon Young C, Yeong J , Katai H, Seto Y, Fukagawa T, Okumura Y, Wook Kim D3 , Kim H, Cheong JH, Jin Hyung W, 1 Hoon Noh S. A Lymph Node Staging System for Gastric Cancer: A Hybrid Type Based on Topographic and Numeric Systems . *Plos One*. 2016
95. Chae S, Lee S, Lee JH. The effectiveness of the new (7th) UICC N classification in the prognosis evaluation of gastric cancer patients: a comparative study between the 5th/6th and 7th UICC N classification. *Gastric Cancer*. 2011; 14(2):166-71
96. Gholami S, Janson L, Worhunsky DJ, Tran TB, Jin LX, Spolverato G, Votanopoulos KI, Schmidt C, Weber SM, Bloomston M, Cho CS, Levine EA, Fields RC, Pawlik TM, Maithel SK, Efron B, Norton JA, Poultsides GA. Number of Lymph Nodes Removed and Survival after Gastric Cancer Resection: An Analysis from the US Gastric Cancer Collaborative. *J Am Coll Surg*. 2015;221(2):291-9.
97. Lin-Yong Zhao, Chang-Chun Li, Lu-Yu Jia, Xiao-Long Chen, Wei-Han, Zhang, Xin-Zu Chen, Kun Yang, Kai Liu, Yi-Gao Wang, Lian-Xue, Bo Zhang, Zhi-Xin Chen, Jia-Ping Chen, Zong-Guang Zhou, Jian-Kun Hu. Superiority of lymph node ratio-based staging system for prognostic prediction in 2575 patients with gastric cancer: validation analysis in a large single center. *Oncotarget*. 2016; 7(32)

98. Ema A, Yamashita K, Sakuramoto S, Wang G, Mieno H, Nemoto M, Shibata T, Katada N, Kikuchi S, Watanabe M. Lymph node ratio is a critical prognostic predictor in gastric cancer treated with S-1 chemotherapy. *Gastric Cancer*. 2014; 17:67–75
99. Marchet A, Mocellin S, Ambrosi A, et al. Italian Research Group for Gastric Cancer (IRGGC). The ratio between metastatic and examined lymph nodes (N ratio) is an independent prognostic factor in gastric cancer regardless of the type of lymphadenectomy: results from an Italian multicentric study in 1853 patients. *Ann Surg*. 2007; 245: 543–52.
100. Yamashita K, Ooki , Sakuramoto A, Kikuchi S, Katada N, Kobayashi N, Watanabe M. Lymph Node Metastasis Density (ND)-factor Association with Malignant Degree and ND40as “Non-curative Factor” in Gastric Cancer. *ANTICANCER RESEARCH*. 2008; 28: 435-442
101. Yamashita K, Hosoda K, Ema A, Watanabe M. Lymph node ratio as a novel and simple prognostic factor in advanced gastric cancer. *EJSO*. 2016; ARTICLE IN PRESS
102. Estes N, Ajani J, Gunderson L, Goldman B, Martenson J, Jessup JM, Stemmermann G, Blanke C, Macdonald J. Updated Analysis of SWOG-Directed Intergroup Study 0116: A Phase III Trial of Adjuvant Radiochemotherapy Versus Observation After Curative Gastric Cancer Resection. *Journal of Clinical Oncology JCO*. 2012; 30(19): 2327-2333
103. Bang YJ, Kim YW, Yang HK, Chung HC, Park YK, Lee KH, et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trials. *Lancet* 2012; 379:315e21.
104. Earle CC, Maroun JA. Adjuvant chemotherapy after curative resection for gastric cancer in non-Asian patients: revisiting a meta-analysis of randomized trials. *Eur J Cancer* 1999; 35:1059-64

105. Izuishi K, Mori H. J Recent Strategies for Treating Stage IV Gastric Cancer: Roles of Palliative Gastrectomy, Chemotherapy, and Radiotherapy. *Gastrointestin Liver Dis.* 2016; 25: 87-94
106. Shord SS, Medina PJ. Chapter 104. Cancer Treatment and Chemotherapy. In: DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey L. eds. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 9e. New York, NY: McGraw-Hill; 2014.
<http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=689&Sectionid=48811497>. Accessed October 06, 2016.
107. Lim DH, Park SH, Park KW, Kang JH, Oh SY, Hwang IG, Kwon JM, Lee SC, Lee HY, Kim HS, Lim HY, Kang WK. Retrospective analyses of cisplatin-based doublet combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *BMC Cancer.* 2010; 10:583
108. Mohammad NH, Veer E, Ngai L, Mali R, Van Oijen MG, Van Laarhoven HW. Optimal first-line chemotherapeutic treatment in patients with locally advanced or metastatic esophagogastric carcinoma: triplet versus doublet chemotherapy: a systematic literature review and meta-analysis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015; 34:429–441
109. Bittoni A, Del Prete M, Scartozzi M, Pistelli M, Giampieri R, Faloppi Li, Cascinu S. Three drugs vs two drugs first-line chemotherapy regimen in advanced gastric cancer patients: a retrospective analysis. *Springerplus.* 2015; 4: 743.
110. Prahalad A & Bernards R. 2016. Opportunities and challenges provided by crosstalk between signalling pathways in cancer. *Oncogene* 35; 1073-1079
111. Berger AK, Zschaebitz S, Komander C, Jäger D, Haag GM. Palliative chemotherapy for gastroesophageal cancer in old and very old patients: A retrospective cohort study at the National Center for Tumor Diseases. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(16): 4911-8

112. Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Saigusa S, Yasuda H, Toiyama Y, Araki T, Yasuhiro I, Kusunoki M. Identification of prognostic factors and surgical indications for metastatic gastric cancer. *BMC Cancer*. 2014; 14:409
113. Longo DL. Approach to the Patient with Cancer. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19e. New York, NY: McGraw-Hill; 2015. <http://accessmedicine.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=1130&Sectionid=79729174>. Accessed October 06, 2016.
114. Hecht KA, Sutton S. Oncology Overview and Supportive Care. In: Sutton S. eds. *McGraw-Hill's NAPLEX® Review Guide*, 2e. New York, NY: McGraw-Hill; 2014. <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=1432&Sectionid=86378061>. Accessed October 06, 2016
115. Lau S, Cheung L.K., Chow D (2016). Application of Pharmacokinetics to Specific Populations: Geriatric, Obese, and Pediatric Patients. In Shargel L, Yu A.C. (Eds), *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, 7e. <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr>
116. Buxton I.O., Benet L.Z. (2011). Pharmacokinetics: The Dynamics of Drug Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination. In Brunton L.L., Chabner B.A., Knollmann B.C. (Eds), *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12e. <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=1613&Sectionid=102157226>.
117. Balducci L. Systemic treatment of gastric and esophageal adenocarcinoma in elderly patients. *J Gastrointest Oncol*. 2015;6(1):75-8.
118. Hyeong S, Jung H, Ji W, Byung C . Chemotherapy in Elderly Patients with Gastric Cancer . *Journal of Cancer*. 2016; 7(1): 88-94.
119. López-Ríos F, Concha A, Corominas JM, García-Caballero T, García-García E, Iglesias M, López JA, Ramón y Cajal S, Rojo F, Palacios J, Vera-Sempere F et al. Consenso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) sobre la determinación de HER2 en el

- carcinoma gástrico. Revista Española de Patología. 2011
120. Moelans C, Van Diest P, Milne A, Offerhaus J. HER-2/neu Testing and Therapy in Gastroesophageal Adenocarcinoma. Pathology Research International 2011
 121. Abrahao-Machado LF, Scapulatempo-Neto C. HER2 testing in gastric cancer: An update. World J Gastroenterol. 2016; 22(19):4619-25.
 122. Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. J Cancer. 2012; 3:137–144.

ANEXOS

04 de mayo de 2015
VI-2762-2015

Dra. María Soledad Quesada Morúa
Directora
INIFAR

Estimada señora:

En atención a su oficio INIFAR-76-2015, nuestra Vicerretoría autoriza la asignación de cargas académicas aplicadas al proyecto "Evaluación de las terapias farmacológicas utilizadas en Costa Rica en pacientes con cáncer gástrico avanzado o metastásico irreseccable y optimización de la técnica de hibridación por fluorescencia in situ del oncogen c-erbB-2/HER2" No 817-B2-371, a los siguientes investigadores:

- M.Sc. Ana Eugenia Cordero García, Investigadora principal con 1/4 de carga académica del 01 de enero de 2015 al 15 de julio de 2016.
- Dr. Warner Alpízar Alpízar, Investigador asociado con 1/8 de carga académica del 01 de enero de 2015 al 15 de julio de 2016.

De usted atentamente,



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA



VICERRECTORÍA DE
INVESTIGACIÓN

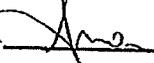
Alice L. Pérez, Ph.D.
Vicerrectora de Investigación

ALP/DHC

C. Dra. Lidiette Fonseca González, Decana, Facultad de Farmacia
Dr. Adrián Pinto Tomas, Director, CIEMIC
M.Sc. Ana Eugenia Cordero García, INIFAR
Dr. Warner Alpízar Alpízar, INIFAR
Sección de Cargas Académicas, CEA
Consejo Científico, INIFAR
SIP/Archivo.

INIFAR - U.C.R.

10 MAY 2015

RECIBIDO POR: 

18 de octubre del 2012
VI-6642-2012

M.Sc. Eugenia Cordero García
Investigadora
INIFAR

Estimada señora:

Nos complace comunicarle que esta Vicerrectoría ha aprobado la inscripción y ejecución del proyecto "Evaluación de las terapias farmacológicas utilizadas en Costa Rica en pacientes con cáncer gástrico avanzado o metastásico irreseccable y optimización de la técnica de hibridación por fluorescencia in situ del oncogen c-erbB-2/HERS", con el código N° 817-B2-371, cual se registrará bajo las siguientes condiciones:

VIGENCIA: Del 18 de julio del 2012 al 15 de julio del 2015.

PRESUPUESTO PARA EL AÑO 2013: A continuación se le comunica el presupuesto asignado al proyecto, cuyo otorgamiento definitivo queda sujeto a la aprobación oportuna del presupuesto institucional por parte de las instancias superiores correspondientes.

Partida	Descripción	Monto
2-99-02	Útil y material medico hospitalario	<u>€1.200.000.00</u>
TOTAL		€1.200.000.00

Condiciones generales para la ejecución del presupuesto:

- ☞ Los fondos asignados deben ejecutarse al menos en un 50% antes del 31 de julio del 2013. En caso de que, a dicha fecha no se haya ejecutado presupuesto alguno, esta Vicerrectoría procederá automáticamente a disponer del 50% del presupuesto asignado.
- ☞ Para el trámite de pago de facturas con cargo al presupuesto asignado es requisito que la documentación sea firmada por usted como investigador(a) principal.
- ☞ Con respecto a las Horas Estudiante y Horas Asistente, el presupuesto se debe ejecutar en los meses para los cuales fueron aprobadas. Es importante recordarle que, los nombramientos deben tramitarse cuando el/la estudiante inicie su participación en la investigación; debido a que, bajo ninguna circunstancia se tramitarán designaciones con nombramientos retroactivos superiores a los tres meses.
- ☞ El monto que se indica en las Horas Estudiante y Horas Asistente, corresponde a una estimación, por lo que en todo momento deberán guiarse por el número de horas y no por el monto estipulado.
- ☞ La liquidación de viáticos dentro del país se debe presentar en esta Vicerrectoría dentro de los cinco días hábiles posteriores a la fecha de regreso de la gira, de conformidad con la circular

VI-6642-2012

Página 2

- ☞ Para los trámites de adquisición de insumos de las investigaciones que requieran Orden de Compra (mayores a ₡ 360.600,00), pueden comunicarse con el Sr. Juan Manuel Sanabria a la extensión 5831.
- ☞ Las fechas límites para realizar trámites en la Vicerrectoría son las siguientes:

Documento	Fecha
Designaciones (P14)	18 de octubre del 2013
Facturas, fondos de trabajo	08 de noviembre del 2013
Requisiciones (despachos de bodega)	08 de noviembre del 2013

PRESENTACIÓN DE INFORMES: Los formularios y guías para la presentación de informes los puede obtener en la dirección electrónica: www.vinv.ucr.ac.cr en el módulo INVESTIGADORES. Para el presente proyecto/programa/actividad se establecen las siguientes fechas para su presentación:

I Informe Parcial: 15 de julio del 2013

II Informe Parcial: 15 de julio del 2014

Informe Final: 15 de julio del 2015

Le recordamos que el fin principal de todo proceso de investigación es la búsqueda sistemática de conocimientos que repercutan en la docencia y la acción social; por lo que, consideramos conveniente que los resultados sean divulgados ampliamente por todos los medio académicos y extraacadémicos de conocido impacto nacional y/o internacional. La Vicerrectoría valorará estas acciones en la inscripción futura de nuevas propuestas.

Le solicitamos que tome en consideración que, parte fundamental de sus obligaciones laborales y académicas es presentar los informes debidamente aprobados por las comisiones de investigación y/o consejos científicos oportunamente en las fechas asignadas, tal como se estipula en las resoluciones de esta Vicerrectoría publicadas en la Gaceta Universitaria 24-98 y Alcance de la Gaceta 02-2009, tanto como en la Resolución VI-8668-2008. No obstante, le sugerimos que, en caso de que se le presente algún inconveniente para la presentación de sus informes, nos notifique con suficiente anticipación con el aval de la dirección de la unidad de adscripción del proyecto; o bien, de no ser posible, en un plazo no mayor a quince días posterior a la fecha asignada para la presentación del informe, con el fin de encontrar una solución conjunta.

El/la director(a) de su unidad tiene la obligación de velar por la buena marcha de esta investigación; por lo tanto, los informes deben ser presentados a la Vicerrectoría a través de la Dirección, previa aprobación de la comisión de investigación o el consejo científico; en caso de incumplimiento o informes insatisfactorios, esta Vicerrectoría se reserva el derecho de suspender



VI-6642-2012

Página 3

la autorización para seguir ejecutando el proceso de investigación en referencia y de aplicar la normativa universitaria correspondiente.

INVESTIGADORES PARTICIPANTES:

Eugenia Cordero García, Investigadora Principal, con $\frac{1}{4}$ de carga académica, del 18 de julio del 2012 al 15 de julio del 2015, con un costo de ₡5.452.300.00.

Warner Alpizar Alpizar, Investigador Asociado, sin carga académica.

Andrés Baez Astua, Colaborador Externo del Hospital Calderón Guardia.

Luis Alberto Corrales Rodríguez, Colaborador Externo del Hospital San Juan de Dios

De contar con carga académica esta debe ser aprobada por el director de la unidad que asigna la carga, en el documento respectivo de aprobación de carga académica por el período asignado.

AVAL COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO:

Este proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité Ético Científico, según oficio VI-4558-2012, en la Sesión No. 236 del 18 de julio del 2012.

Asimismo, le solicitamos respetuosamente tomar nota de que todos los proyectos aprobados por el Comité Ético Científico deben presentar la hoja de vida de los profesionales que realicen investigaciones con seres humanos, la cual debe incluir:

- ✓ Datos personales
- ✓ Formación
- ✓ Experiencia en investigaciones realizadas, nombre del estudio, fase, puesto que ocupó en el estudio, números de pacientes enrolados y periodo.
- ✓ Experiencia clínica
- ✓ Publicaciones

Esta información será remitida a la Dirección de Regulación de la Salud del Ministerio de Salud.

Adicionalmente, le comunicamos que el Comité Ético Científico ha iniciado el proceso de seguimiento de los proyectos; por tanto, al presentar sus informes parciales y final deberá acompañarlos del formulario *Aplicación para revisión continua o para cerrar el estudio*, que se encuentra en la dirección electrónica de la Vicerrectoría en el módulo Investigadores.

AUSENCIA DE CONFLICTOS DE INTERÉS

[Firma manuscrita]

VI-6642-2012

Página 4

Con la aceptación de estas condiciones, está usted aceptando que no se presenta por su parte o algunos de los colaboradores del de la investigación un conflicto de interés directo, indirecto, familiar, empresarial o de cualquier naturaleza que pueda afectar la objetividad del proceso de investigación que se está aprobando. En caso contrario, por favor comuníquese inmediatamente con la Vicerrectoría para realizar una declaración jurada de los conflictos existentes y tomar decisiones al respecto.

En caso de que usted no esté de acuerdo con alguna de las condiciones antes señaladas, le solicitamos comunicarse por escrito con la Vicerrectoría en un plazo máximo a los quince días hábiles siguientes al recibo de esta comunicación. En caso de no recibir una solicitud formal de modificación de condiciones en dicho plazo, damos por aceptadas con total conformidad dichas condiciones.

Atentamente,


M.Sc. Roberto Salom E.
Vicerrector a.i



RSE/DHC/lfc

C. Dra. Lidiette Fonseca González, Decana, Facultad de Farmacia
Dra. Olga Baudrit Carrillo, Directora, INIFAR
Consejo Científico, INIFAR
Dr. Warner Alpizar Alpizar, Investigador, INIFAR
Sección de Cargas Académicas, CEA
SIP /Archivo



FORMULARIO COM-II
CARTA AUTORIZACION DE INVESTIGACION

17 de octubre de 2013
DE-3115-2013

Dra. Eugenia Cordero García
Investigadora Principal

Estimada investigadora:

ASUNTO: Autorización del Protocolo: "Evaluación de la terapia farmacológica utilizada en Costa Rica para el tratamiento del cáncer gástrico avanzado o metastásico irresecable"

De conformidad con lo establecido por la "**Modificación y adición Normativa para la aprobación de estudios observacionales en los centros asistenciales de la Caja Costarricense de Seguro Social, aprobada por la Junta Directiva, en artículo 26° de la Sesión N° 8601, del 20 de septiembre de 2012**" el Comité Ético Científico Institucional de la Caja Costarricense de Seguro Social (CECI-CCSS), ha revisado su propuesta de investigación y considera que ésta cumple con los requisitos éticos y científicos que rigen esta materia; por tanto, no se presenta impedimento alguno para iniciarse, por lo cual esta Dirección procede a autorizar su desarrollo.

Número de protocolo asignado: R013-SABI-00048

Número de sesión en que se aprobó este estudio: 014-09-2013

Fecha de sesión en que se aprobó este estudio: 12/09/2013

Nombre del investigador principal: Dra. Eugenia Cordero García

Nombre de los centros asistenciales donde se realizará la investigación:

- Hospital San Juan de Dios
- Hospital Rafael A. Calderón Guardia
- Hospital México
- Hospital Max Peralta

Esta recomendación es válida hasta: **17/10/2014**.

Nombre de los miembros del CECI que participaron en la sesión en que se aprobó el estudio: Dra. Erna Meléndez Bolaños, Dr. Carlos Molina Jiménez, MSc. Carlos Roberto Montenegro Ríos, Ph.D. Melvin Morera Salas. Dr. Erasmo Antonio Serrano Frago y Licda. Hannia Rodríguez Arias.

A la vez, le recuerdo la obligatoriedad de enviar un informe trimestral mientras se desarrolle la investigación, en el **Formulario INF-I Presentación de Informes**. Este informe debe ser presentado al CECl el primer viernes de los meses de enero, abril, julio y octubre, independientemente de la fecha de inicio del estudio y constituye un factor condicionante para la continuación del mismo. Asimismo, al concluir la investigación, debe adjuntar un informe final en el **Formulario RES-II Presentación de Resultados de Estudio Observacional** en formato impreso y digital. Estos formularios están disponibles en www.cendeiass.sa.cr, vínculo Bioética.

Igualmente, se le advierte sobre la discreción y ética en el manejo de la información obtenida en el estudio y el deber de cumplir las condiciones que versaron para su aprobación.

Atentamente,


Dr. Alvaro Salas Chaves
Director Ejecutivo CENDEISS



C.c.: Dra. Hilda Oreamuno Ramos, Directora Médica Hospital San Juan de Dios.

Dr. Ronald Gutiérrez Cerdas, Presidente Comité Local de Bioética en Investigación, Hospital San Juan de Dios.

Dr. Luis Paulino Hernández Castañeda. Director Médico Hospital Calderón Guardia.

Dr. Ronald Chacón Chaves. Presidente Comité Local de Bioética en Investigación. Hospital Calderón Guardia.

Dr. Douglas Montero Chacón. Director Médico Hospital México.

Dra. Carmen DiMare Hering. Presidente Comité Local de Bioética en Investigación. Hospital México.

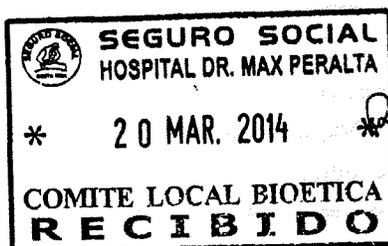
Dra. Krisia Díaz Valverde Directora Médica Hospital Dr. Max Peralta.

MSc. Alejandra Trejos Chacón. Presidente Comité Local de Bioética en Investigación. Hospital Dr. Max Peralta.

Dra. Erna Melénez Bolaños, Presidenta Comité Ético Científico Institucional, Caja Costarricense de Seguro Social.

Archivo

FORMULARIO COM-II
Revisado 06/01/2012



ANEXO 3

Hoja de recolección de datos

Nº de identificación del proyecto: CG-_____ Sexo: M___ F___

Fecha de nacimiento: ___/___/___ (DD/MM/AAAA)

Provincia: _____ Cantón: _____ Distrito: _____

Fecha de diagnóstico (DD-MM-AAAA): ___/___/___

Gastrectomía: No: ___ Sí: ___

Total: _____ Subtotal: _____ Antro y Cuerpo: _____ Antro: _____

Clasificación macroscópica (Borrmann): Tipo 1 ___ Tipo 2 ___ Tipo 3 ___ Tipo 4 ___

Localización: Fondo: _____ Cuerpo: _____ Antro: _____ Píloro: _____

Clasificación Histológica Adenocarcinoma

- () Papilar bien diferenciado
- () Tubular bien diferenciado
- () Medianamente diferenciado
- () Pobremente diferenciado
- () Mucinoso
- () Células en anillo de sello
- () Otros tipos: _____

Clasificación histológica Laurent:

- () Difuso
- () Intestinal
- () Mixto

Tamaño del tumor (en cm): _____

Invasión de la pared gástrica:

- () Mucosa
- () Submucosa
- () Muscular propia
- () Serosa
- () Sobrepassa la serosa
- () Infiltra órganos

Invasión vascular: Si ____ No ____ Invasión linfática Si ____ No ____

Ganglios linfáticos Total ____ Positivos: ____ Negativos: ____

Metástasis a otros órganos: Si ____ No ____ Número de sitios: ____

Órganos: _____

Estadío TNM: ____ Clasificación del estadío UICC: ____

Terapia previa:

() Radioterapia

() Gastrectomía

Fecha de inicio de terapia farmacológica (DD-MM-AAAA): ____/____/____

ECOG 1____ 2____ 3____ 4____ 5____

Terapia a Utilizar:

- () FEC: Epirubicina, Cisplatino, 5-FU
- () EOX: epirubicina, oxaliplatino, 5FU
- () DCF: docetaxel, cisplatino y 5FU
- () FOLFOX: oxaliplatino, 5FU y leucovorina
- () XELOX: capecitabina, oxaliplatino
- () Trastuzumab, capecitabina y cisplatino
- () Trastuzumab, cisplatino, 5FU

Número de ciclos aplicados: ____

IHC para HER2 SI ____ NO ____ Fecha (DD-MM-AAAA):

IHC 1+ ____ 2+ ____ 3+ ____

FISH SI ____ NO ____ Fecha (DD-MM-AAAA): ____/____/____

Resultado: Número de amplificaciones: ____

Fecha de progresión: (DD-MM-AAAA): ____/____/____

() Aumento de tamaño

() Metástasis

Fecha de suspensión de terapia (1era línea): (DD-MM-AAAA): ____/____/____

Segunda línea de tratamiento: SI _____ NO _____

Cual? _____

Hospitalizaciones

#	Fecha de Ingreso	Fecha de Salida	No. Días de Internamiento	Razón de ingreso (complicaciones)	La razón de ingreso se relaciona con la terapia de cáncer (Si/No)
1					
2					
3					
4					

En caso de que la razón de ingreso, se deba a la terapia recibida por el paciente para el tratamiento del cáncer, completar la siguiente información:

#	Razón de ingreso	Terapia aplicada (medicamento)	Dosis	Días de Tx	Resolución de la complicación (efectiva, cambio de tx, fallecimiento)
1					
2					
3					
4					

Fecha de defunción: (DD-MM-AAAA): _____/_____/_____

Código de INEC (defunción): _____

Fecha de registro en INEC: _____



**FORMULARIO COM-II
 CARTA APROBACIÓN DE INVESTIGACIÓN**

28 de enero del 2015
 DM-0463-01-2015

Investigadora
 Eugenia Cordero García
 PRESENTE

Estimado investigador:

Asunto: Aprobación del protocolo de investigación: "Validación de la técnica FISH para el encogido c-erbB-2/HER2 como prueba de tamizaje para el uso de Trastuzumab en el Tratamiento de Cáncer Gástrico en Costa Rica"

De conformidad con lo establecido por el "Normativa para la aprobación de estudios observacionales en los Servicios Asistenciales de la CCSS" el Comité Local de Bioética en Investigación del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia ha revisado su propuesta de investigación y considera que esta cumple con los requisitos éticos y académicos, por tanto, no posee impedimento alguno para iniciarse, por lo cual esta Dirección General procede a aprobar su desarrollo. (Revisión de expedientes)

Número de protocolo asignado: CLOBI-01-01-2015
 Número de sesión en que se aprobó este estudio: 01-2015
 Fecha de sesión en que se aprobó este estudio: 22/01/2015
 Nombre del investigador principal: Eugenia Cordero García
 Nombre de los otros subinvestigadores (si hubiera): Warner Alpizar Alpizar / Yolanda Roa Martínez
 Nombre del tutor (si aplica): NI
 Nombre del centro y el servicio donde se realizará la investigación: Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia
 Esta recomendación es válida hasta: 22/01/2016
 Nombre de los miembros del CLOBI que participaron en el análisis de este estudio: Dr. Ronald Chacón, Dr. Donato Salas. Dr. Franklin Dawkins, Msc. Zeidy Vargas; Diplo. Julia Barboza; Secretaria Ana Laura Solís

A la vez, le recuerdo la obligatoriedad de enviar un informe trimestral mientras se desarrolle la investigación, en el **Formulario INF-I Presentación de Informes**. Este informe debe ser presentado al CLOBI el primer viernes de los meses enero, abril, julio y octubre, independientemente de la fecha de inicio del estudio y constituye un factor condicionante para la continuación del mismo. Asimismo, al concluir la investigación debe adjuntar un informe final en el **Formulario RES-II Presentación de Resultados (Observacional)**. Estos formularios están disponibles en www.cendeiss.sa.cr, vínculo Bioética.

Igualmente se le advierte sobre la discreción y ética en el manejo de la información obtenida en el estudio y el deber de cumplir las condiciones que versaron para su aprobación.

Atentamente,

Dr. Arnoldo Matamoros Sánchez
 Director General a.i.



AMS/Lsv

C Dr. Ronald Chacón Chaves, Presidente CLOBI
 Dr. Jorge Villalobos Alpizar, Coordinador Subárea de Bioética e Investigación, CENDEISS
 Lic. Alberto Rodríguez, Jefe del Servicio de Archivo y Microfilm
 Lic. Malenia Méndez Ngón, Jefe del Servicio de Estadística

ANEXO 5

Protocolo para tinción por Immunohistoquímica para HER2*Eugenia Cordero/Warner Alpizar**Noviembre 2015*

Este protocolo está optimizado para trabajar con el Kit HerceptTest de la marca Dako (K520421)

1. PREPARACIÓN DE REACTIVOS**A. Solución de Recuperación Antigénica**

Solución 10x. Se prepara una dilución 1:10 del Vial 7 Kit HerceptTest de la marca Dako (K520421) utilizando agua destilada desionizada.

La solución que no se utiliza puede guardarse por 1 mes entre 2 y 8°C. No utilizar si se pone opaca. Para utilizarla debe estar a temperatura ambiente. Se puede reutilizar un máximo de 3 veces.

B. Buffer de Lavado TBS-T

Solución 10x de TBS: Tris 50mM, NaCl 150mM, agua destilada. Solución con un pH 7.6

Se prepara una dilución 1:10 con agua desionizada de la solución de TBS y se le agrega 5mL del detergente Triton X-100. Agitar 5-10 minutos hasta que se disuelva el detergente. La solución que no se utiliza puede guardarse por 1 mes 2-8°C. No utilizar si se pone opaca. Para utilizarla debe estar a temperatura ambiente.

C. Preparación del Sustrato Cromógeno (DAB)

Utilizar 1 mL de DAB sustrato buffer (vial 5 Kit HerceptTest de la marca Dako (K520421) y agregar 1 gota de DAB cromógeno (vial 6 del kit Kit HerceptTest de la marca Dako (K520421)

D. Solución para Bloqueo de la Actividad Peroxidasa endógena:

A 200 mL de agua desionizada se le agrega 6 mL de peróxido de hidrógeno al 30%.
La solución queda al 1%.

2. PROCEDIMIENTO

- Todos los reactivos deben de estar a temperatura ambiente antes de ser usados.
- No se debe permitir que los tejidos se sequen en ningún momento del procedimiento.

A. Desparafinización y Rehidratación de las cortes de tejido

Este proceso permite eliminación de la parafina y rehidratación el tejido. Este proceso debe realizarse a temperatura ambiente (20-25°C) en una cámara de extracción de gases. Se requiere 1 baño de xileno, 2 baños de alcohol al 99%, 2 baños de alcohol al 95% y un baño de alcohol al 70%.

1. Coloque las láminas en el baño de xileno por 25 minutos.
2. Coloque las láminas en el baño de alcohol al 99% por 30 segundos. Cambie las láminas a un segundo baño y repita este paso.
3. Coloque las láminas en el baño de alcohol al 95% por 30 segundos. Cambie las láminas a un segundo baño y repita este paso.
4. Coloque las láminas en el baño de alcohol 70% por 1 minuto.
5. Coloque las láminas bajo una corriente de agua suave por 5 minutos, sin que esta impacte directamente las láminas.

B. Procedimiento de Tinción

Se debe de realizar a temperatura ambiente (20-25°C)

Paso 1: Recuperación Antigénica

- Se llena el frasco especial para el horno procesador de tejido con la solución de Recuperación Antigénica, aproximadamente 1 L o lo necesario para que cubra las láminas.
- Se colocan las láminas, se introduce el frasco en el horno procesador de tejido y se va calentando gradualmente hasta alcanzar 98°C y luego se incuba a esa temperatura por 15 minutos.
- Se remueve el frasco del horno procesador de tejido y se deja enfriar por 20 minutos a temperatura ambiente (quitar la tapa, sin retirar las láminas).
- Se colocan las láminas en el frasco Ziehle-Nielsen plástico y se les agrega agua (corriente de agua suave por 5 minutos).

Paso 2: Bloqueo de peroxidasa

- A las láminas colocadas en el frasco Ziehle-Nielsen plástico, se les decanta el agua y se les agrega la solución de peróxido de hidrógeno al 1% recién preparada. Se incuba por 15 minutos.
- Se coloca el frasco Ziehle-Nielsen con agua por 5 minutos
- Se colocan en la gradilla con Buffer de Lavado TBS-T 1x.
- Se montan las láminas en la gradilla Shandon, para lo cual primero se montan en el soporte plástico mojado con TBS-T. Se debe evitar la aparición de burbujas en la lámina.
- Una vez colocadas en la gradilla se les hace dos lavados con TBS-T.

Paso 3: Anticuerpo Primario

- Se le aplica a las láminas 100 μ L de anticuerpo policlonal anti-HER2 humano. Se tapa la gradilla Shandon y se incuba a 4 °C durante la noche (mínimo 12 horas).
- Se sacan del refrigerador y se deja 30 minutos a temperatura ambiente.
- Se lavan las láminas con TBS-T 2 veces.

Paso 4: Anticuerpo Secundario

Se agrega a cada lámina 2 gotas del “Reactivo de Visualización” (Visualization Reagent del Kit HerceptTest de la marca Dako (K520421).

- Se incuba por 45-50 minutos a temperatura ambiente (en la gradilla con tapa).
- Se lavan las láminas con TBS-T 2 veces.

Paso 5: Crómogeno DAB

- Se le agrega a cada lámina 3 gotas (100 μ L) de la “Solución de sustrato cromógeno” (prepararlo cada vez que se requiere).
- Se incuba por 10 minutos.
- Se lava con agua desionizada 2 veces.

Paso 6: Contraste (Hematoxilina)

- Se le agrega a las láminas 3 gotas de Hematoxilina.
- Se incuba por un periodo entre 30 y 60 segundos.
- Se lava con agua desionizada 2 veces.
- Se extraen las láminas del rack y se colocan en el frasco Ziehle Nilsen con agua de tubo.

- Se colocan bajo una corriente de agua de tubo por 5 minutos. El agua no debe caer en forma directa sobre las láminas.

C. Deshidratación y Montaje

Se debe de realizar a temperatura ambiente (20-25°C). No se deben dejar las láminas en etanol por tiempos prolongados.

1. Coloque las láminas en el baño de alcohol al 70% por 15 segundos.
2. Coloque las láminas en el baño de alcohol al 95% por 15 segundos. Cambie de baño y repita.
3. Coloque las láminas en el baño de alcohol 99% por 15 segundos. Cambie de baño y repita.
4. Se colocan dos gotas de medio de montaje en el cubreobjetos y se coloca la lámina. Debe de evitarse la aparición de burbujas.

ANEXO 6

Protocolo para Hibridación *in situ* fluorescente para HER2*Eugenia Cordero/Andrés Báez/Warner Alpizar**Abril 2016*

Este protocolo está optimizado para trabajar con el “Histology FISH Accessory Kit” de la marca Dako (K5331, K5599)

SOLUCIÓN DE PRE-TRATAMIENTO: Una vez diluida puede ser refrigerada por 1 mes (2 a 8°C). Descartar si se pone turbia

SOLUCIÓN ASTRINGENTE: Una vez diluida puede ser refrigerada por 1 mes (2 a 8°C). Descartar si se pone turbia

BUFFER DE LAVADO: Una vez diluida puede ser refrigerada por 1 mes (2 a 8°C). Descartar si se pone turbia

1. PREPARACIÓN

Colocar un frasco resistente al calor con solución de pre-tratamiento en un baño maría (baño de agua) y calentar entre 95-99°C.

A. Desparafinización y Rehidratación

Este proceso permite eliminación de la parafina y rehidratación el tejido. Este proceso debe realizarse a temperatura ambiente (20-25°C) en una cámara de extracción de gases. Se requiere 1 baño de xileno, dos baños de etanol al 99%, dos baños de etanol al 95% y un baño de alcohol al 70% y un baño de buffer de lavado.

1. Para eliminar la parafina se calientan las láminas en el hibridador a 60°C por 30 minutos.
2. Coloque las láminas en el baño de xileno por 5 minutos. Cambie las láminas a un segundo baño y repita este paso.

3. Coloque las láminas en el baño de etanol al 95% por 2 minutos. Cambie las láminas a un segundo baño y repita este paso.
4. Coloque las láminas en el baño de etanol al 70% por 2 minutos. Cambie las láminas a un segundo baño y repita este paso.
5. Coloque las láminas en el buffer de lavado por 2 minutos.

B. Pre-Tratamiento

1. Verificar que el frasco que está en el baño de agua haya llegado a una temperatura de 95-99°C.
2. Sumergir las láminas en la solución de pre tratamiento y dejar por 10 minutos.
3. Sacar el frasco del baño, quitar la tapa y dejar enfriar por 15 minutos a temperatura ambiente.
4. Pasar las láminas a un frasco con buffer de lavado por 3 minutos. Cambie de baño y repita este paso.

C. Digestión Enzimática

1. Secar de los bordes el exceso de buffer de lavado.
2. Colocar en el hibridizador a 37°C.
3. Aplicar 5-8 gotas (250µL) de RTU pepsina en el tejido, suficiente para cubrirlo (el reactivo debe estar frío de 2 a 8°C). Se incuba por 5 minutos en el hibridizador.
4. Se colocan las láminas en buffer de lavado por 3 minutos a temperatura ambiente. Cambie de baño y repita este paso.
5. Se deshidrata los tejidos: tres frascos con etanol al 70%, 85% y 95%. En cada uno deben permanecer 2 minutos.
6. Permitir que el tejido se seque completamente.
7. Marcar la zona de interés para la aplicación de la sonda.

A partir de este punto todo se debe trabajar en la oscuridad

D. Hibridación

1. En una cámara de extracción de gases, aplicar 10 μ L de Probe Mix (sonda) en la zona del tejido marcada.
2. Colocar el cubreobjetos inmediatamente, evitando la formación de burbujas.
3. Sellar cada lámina con Sellante (Kit DAKO 5331/5599). colocar el sellante en la periferia del cubreobjetos.
4. Colocar en el hibridizador en el programa de HER2 (Programa de HER2: 5 minutos desnaturalización a 82°C e hibridación a 45°C por 16-18 horas). Se deben colocar las bandas húmedas en el hibridizador.

SEGUNDO DÍA

Se debe trabajar en la oscuridad

E. Lavado Riguroso

Colocar dos frascos resistentes al calor con Buffer de Lavado Astringente de la siguiente forma: uno en la cámara de extracción de gases, y el otro con tapa en un baño de agua. La solución que se encuentra en el baño de agua debe de precalentarse hasta 65°C (puede volverse turbia en este momento, sin embargo, eso no altera la efectividad del buffer).

1. Sacar las láminas de la cámara de hibridación.
2. Eliminar el sello y el cubreobjetos.
3. Colocar las láminas en el primer frasco hasta que se desprenda el cubreobjetos o por lo menos hasta que sea de muy fácil remoción (20 minutos)
4. Colocar las láminas en el frasco colocado en el baño caliente. Lave por 10 minutos agitando el frasco en forma vigorosa (que se forma bastante espuma).
5. Colocar las láminas en Buffer de lavado por 3 minutos a temperatura ambiente. Cambie de baño y repita este paso
6. Se deshidrata los tejidos: tres frascos con etanol al 70%, 85% y 95%. En cada uno permanecen 2 minutos.

F. Montaje

1. Las láminas deben estar totalmente secas.
2. Aplicar 15 μ L de medio de montaje fluorescente que contiene DAPI al área de interés y coloque el cubreobjetos.
3. Guardar las láminas en un lugar oscuro y en refrigeración (entre 2°C y 8°C)
4. Las láminas deben leerse luego de 15 minutos y antes de 7 días. Utilizar filtros DAPI para la lectura y visualización de los núcleos y filtros D/F/R C109572 para la lectura de la señales.

G. Lectura

Para determinar el valor HER2/CEN-17:

1. Para cada núcleo determinar las señales rojas (HER2) y las señales verdes (CEN-17).
2. Se deben contar al menos 20 núcleos en el área estudiada del tejido
3. Dividir el número de señales rojas entre el número de señales verdes (HER2/CEN-17).
 - a. Amplificación: cuando el resultado de la división es mayor a 2.
 - b. Normal: cuando el resultado de la división es menor a 2

ANEXO 7

CUADRO 26

Resultados de las pruebas de Inmunohistoquímica (IHC) e hibridación fluorescente in situ (FISH) de los 50 bloques de tejido parafinado utilizados

n	Resultado IHC	FISH (HER2/Cen17)	Resultado
1	Negativo (0)	1,12	No Amplificado
2	Negativo (0)	0,93	No Amplificado
3	Negativo (0)	0,96	No Amplificado
4	Negativo (0)	0,93	No Amplificado
5	Negativo (0)	0,88	No Amplificado
6	Negativo (0)	1,14	No Amplificado
7	Negativo (0)	0,96	No Amplificado
8	Negativo (0)	0,75	No Amplificado
9	Negativo (0)	1,22	No Amplificado
10	Negativo (0)	0,68	No Amplificado
11	Negativo (0)	0,88	No Amplificado
12	Negativo (0)	0,71	No Amplificado
13	Negativo (0)	0,96	No Amplificado
14	Negativo (0)	0,87	No Amplificado
15	Negativo (0)	1,00	No Amplificado
16	Negativo (0)	1,14	No Amplificado
17	Negativo (0)	0,76	No Amplificado
18	Negativo (0)	0,86	No Amplificado
19	Negativo (0)	0,91	No Amplificado
20	Negativo (1+)	1,00	No Amplificado
21	Positivo (3+)	2,91	Amplificado
22	Negativo (0)	1,02	No Amplificado
23	Negativo (0)	0,89	No Amplificado
24	Negativo (0)	0,97	No Amplificado
25	Positivo (3+)	3,09	Amplificado
26	Negativo (0)	0,85	No Amplificado
27	Negativo (0)	0,78	No Amplificado
28	Negativo (0)	1,08	No Amplificado
29	Negativo (0)	0,97	No Amplificado
30	Negativo (0)	1,04	No Amplificado
31	Negativo (0)	0,84	No Amplificado
32	Negativo (0)	1,18	No Amplificado
33	Negativo (1+)	1,1	No Amplificado

34	Negativo (0)	0,89	No Amplificado
35	Negativo (0)	0,89	No Amplificado
36	Negativo (0)	1,04	No Amplificado
37	Negativo (0)	0,83	No Amplificado
38	Negativo (0)	0,97	No Amplificado
39	Negativo (0)	0,79	No Amplificado
40	Negativo (0)	0,87	No Amplificado
41	Negativo (0)	0,75	No Amplificado
42	Negativo (0)	0,76	No Amplificado
43	Negativo (0)	1,21	No Amplificado
44	Negativo (0)	1,00	No Amplificado
45	Negativo (0)	0,96	No Amplificado
46	Negativo (0)	0,93	No Amplificado
47	Negativo (0)	0,77	No Amplificado
48	Negativo (0)	1,04	No Amplificado
49	Negativo (0)	1,04	No Amplificado
50	Negativo (0)	0,83	No Amplificado