

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CORRELACIÓN CLÍNICO – PATOLÓGICA DE LA PRESENCIA DE INESTABILIDAD DE  
MICROSATÉLITES EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO  
ESTADIO CLÍNICO II Y III EN EL HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS DEL AÑO 2010 AL 2015

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado de  
Especialidades Médicas para optar por el grado y título de Especialista en Oncología Médica

CANDIDATA

Alejandra Méndez Golcher

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica 2020

## Dedicatoria

A toda mi familia, en especial a mi mamá y papá por ser mi motivación, por el apoyo incondicional, enseñarme a nunca darme por vencida y por ser mi modelo por seguir.

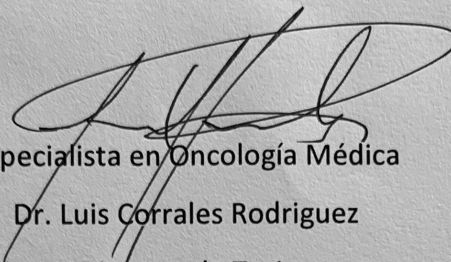
## Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. Luis Corrales por retarme, enseñarme y apoyarme durante la investigación y mi residencia.

Al Dr. Allan Ramos, por su ayuda incondicional.

A la Dra. Melisa Juárez, por guiarme y aconsejarme durante esta aventura.

"Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades Médicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialista en Oncología Médica"



Especialista en Oncología Médica

Dr. Luis Corrales Rodríguez

Director de Tesis

Melissa Juárez V.

Especialista en Oncología Médica

Dra. Melissa Juárez Villegas

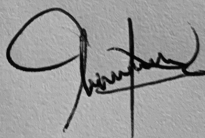
Lectora



Especialista en Oncología Médica

Dr. Allan Ramos Esquivel

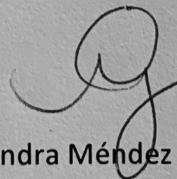
Lector



Especialista en Oncología Médica

Dr. Geiner Jiménez Jiménez

Director del programa de Posgrado en Oncología Médica



Alejandra Méndez Golcher

Candidata



## Tabla de contenido

PORTADA	I
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE CUADROS	IX
LISTA DE TABLAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
CAPÍTULO 1	1
MARCO TEÓRICO	1
CAPÍTULO 2	24
OBJETIVOS	24
2. <i>Pregunta de investigación</i>	25
3. <i>Justificación</i>	26
CAPÍTULO 3	28
MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1 DISEÑO DE ESTUDIO:	28
3.2 DEFINICIONES DE SUPERVIVENCIA	31
3.3 <i>Análisis de estadístico</i>	31
CAPÍTULO 4	33
RESULTADOS	33
CARACTERIZACIÓN DE PACIENTES CON MSI	39
CAPÍTULO 5	47
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	52
ANEXO	62

## Resumen

**Antecedentes:** El cáncer gástrico (GC) sigue siendo uno de los cánceres más comunes en los países subdesarrollados, aunque sus tasas de incidencia y mortalidad han disminuido constantemente en los últimos cincuenta años. El desarrollo del adenocarcinoma gástrico es un proceso complejo de varios pasos que involucra numerosas alteraciones genéticas. El desarrollo del cáncer gástrico se realiza a través de tres vías moleculares diferentes: la vía de la inestabilidad cromosómica (CIN), la vía del fenotipo mutador (o vía de la inestabilidad de microsatélites, MSI) y la vía del fenotipo del metilador de isla CpG (CIMP).

La ruta del fenotipo mutador se caracteriza por mutaciones frecuentes en regiones del ADN que contienen secuencias de microsatélites. Los tumores estables en microsatélites o los tumores con bajos niveles de inestabilidad de microsatélites (MSS / MSI-L) se desarrollan a través de la vía CIN, mientras que los tumores con alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) se consideran desarrollados a través de la vía carcinogénica del fenotipo mutante.

El objetivo del estudio es analizar las características clínicas, demográficas y la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con cáncer gástrico estadio clínico II y III que presentan inestabilidad de microsatélites.

**Materiales y métodos:** Se llevó a cabo un estudio observacional de cohorte retrospectivo; fue desarrollado en pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer gástrico en estadios clínicos II y III del Hospital San Juan de Dios en el periodo comprendido entre el 2010 y 2015. Se obtuvo la información a partir de la revisión de expedientes y de las biopsias.

**Resultados:** Se analizaron 255 casos diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio II y III de los cuales la mayoría correspondió al sexo masculino (n= 60.4% ) con edad media de 67.5 años. La histología más frecuente fue el adenocarcinoma moderadamente diferenciado (n=37.2%), y la localización más frecuente fue la antral (n= 45.9%) y del tipo intestinal de Lauren (n= 49%). El estadio clínico predominantemente fue el II (con un 91,3%, n=21), Un total de 9.2% pacientes (n=23 pacientes) presentaron MSI siendo la proteína MLH1 la ausente en el 100% de los casos. Para los pacientes con MSI, las características clínico-patológicas fueron sexo femenino, con una mediana de edad de

67.2 años, y predominio de histología intestinal, localización predominantemente en antro y menor invasión nodal. La media de supervivencia libre de progresión para el grupo sin presentar MSI fue 36.7 (rango:0.07-137.6) meses y una mediana de 17.9 meses y para el grupo con MSI presente fue de 73.2 (rango:21.4-120.1) meses con una mediana de 65.8 meses.

Conclusiones: El estado de MSI podría ser un biomarcador útil en el cáncer gástrico local o localmente avanzado para predecir su pronóstico.

La presencia de MSI en el cáncer gástrico se asoció con mejor supervivencia libre de progresión, reflejada en características clínico-patológicas favorables para tumor.

## Abstract

Background: Gastric cancer (GC) remains as one of the most common cancers in developed countries although its incidence and mortality rates have steadily declined in the last fifty years. The development of gastric adenocarcinoma is a complex multistep process involving numerous genetic alterations. Gastric cancer development proceeds through three different molecular pathways: the chromosomal instability (CIN) pathway, the mutator phenotype (or microsatellite instability pathway, MSI) pathway and the CpG island methylator phenotype (CIMP) pathway. The mutator phenotype pathway is characterized by frequent mutations in regions of the DNA containing microsatellite sequences. Microsatellite stable tumours or tumours with low levels of microsatellite instability (MSS/MSI-L) develop through the CIN pathway, whereas the tumours with high microsatellite instability (MSI-H) are considered to develop through the mutator phenotype carcinogenic pathway. The objective of the study is to analyze the clinical, demographic and disease-free survival characteristics of patients with stage II and III clinical cancer who have microsatellite instability.

Materials and methods: An observational retrospective cohort study was formalized; it was developed in patients with confirmed diagnosis of stage II & III gastric adenocarcinoma at the San Juan de Dios Hospital in the period from 2010 to 2015. Data were retrieved from clinical records and biopsies.

Results: 255 cases diagnosed with stage II and III gastric adenocarcinoma were analyzed, 60.4% of which were male and 39.6% female, with a mean age of 67.5 years. Moderately differentiated adenocarcinoma was the most frequent reported histology for 37.2%, located in the antrum 45.9%, intestinal type 49%. Clinical stage II was the most frequent stage (91,3%). A total of 9.2% patients presented MSI, with MLH1 100% absent. For patients with MSI, the clinical-pathological characteristics were female sex, with a median age of 67.2 years, predominance of intestinal histology, predominantly antrum location

and less nodal invasion. The determination of median progression-free survival for the group without MSI was 36.7 (range: 0.07-137.6) months and a median of 17.9 months for the group with MSI present it was 73.2 (range: 21.4-120.1) months with a median 65.8 months.

Conclusions: MSI status could be a useful biomarker in local or locally advanced gastric cancer to predict its prognosis. The presence of MSI in gastric cancer was associated with better progression-free survival than the ones that didn't express MSI, reflected in favorable clinical-pathological characteristics of the tumor.



## Lista de cuadros

Cuadro 1: Determinación de características generales de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 2: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según diagnóstico patológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 3: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según grado de diferenciación. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 4: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III, según diagnóstico patológico y grado de diferenciación. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015.

Cuadro 5: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según localización anatómica. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 6: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según tipo histológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 7: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según compromiso ganglionar. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 8: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según estadio patológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 9: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según estadio clínico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 10: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según expresión de mutaciones. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Cuadro 11: Determinación de características generales de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III con MSI.

Cuadro 12: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según grado de diferenciación con MSI.

Cuadro 13: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según localización anatómica con MSI

Cuadro 14 Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según tipo histológico con MSI

Cuadro 15: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según compromiso ganglionar con MSI

Cuadro 16: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según estadio patológico con MSI

Cuadro 17: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según estadio clínico con MSI

Cuadro 18: Determinación de factores asociados a la progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según expresión de mutaciones. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015. Modelo univariado.

Cuadro 19. Comparación de características clínico-patológicas pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III con presencia y no de MSI.

## Lista de tablas

Tabla 1.1 Características de los descriptores T, N y M establecidos para cáncer gástrico por la American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th ed. (2010).

Tabla 1.2 Clasificación TNM para cáncer gástrico por la American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th ed. (2010).

Tabla 3.1 Variables

## Lista de figuras

Figura 1 Microscopía óptica de dos tumores gástricos de tipo difuso e intestinal.

Figura 2 Secuencia de lesiones gástricas precancerosas de un carcinoma gástrico de tipo intestinal.

Figura 3 Funcionamiento del complejo MMR.

Figura 4. MSI en cáncer gástrico con pérdida de expresión de MLH-1.

Figura 5. Flujograma de selección de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en el HSJD del año 2010 al 2015.

Figura 6: Determinación de Kaplan-Meier para sobrevida libre de progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015.

Figura 7: Determinación de Kaplan-Meier para sobrevida libre de progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico según presencia de MSI. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015.



## Lista de abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AJCC: American Joint Committee on Cancer.

CIN: Inestabilidad. Cromosómica.

CIMP: Metilador de isla CpG.

EC: Estadio clínico.

GC: Cáncer gástrico.

HSJD: Hospital San Juan de Dios.

IARC: Agencia Internacional Investigación de Cáncer.

IHQ: Inmunihiistoquímica.

MMR: Mismatch Repair Genes.

MSI: Inestabilidad de microsatélites.

MSI-H: Inestabilidad de microsatélites alta.

MSI-L: Inestabilidad de microsatélites baja.

MSS: Microsatélite estable.

NGS: Secuenciador de nueva generación

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCR: Reacción Cadena Polimerasa.

SLE: Supervivencia Libre de Enfermedad.

SLP: Supervivencia Libre de Progresión.

TNM: Estadiaje según tamaño tumoral, ganglios.

UGE: Unión. Gastro-esofágica.



**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, Alejandra Méndez Golcher, con cédula de identidad 112970495 , en mi condición de autor del TFG titulado CORRELACIÓN CLÍNICO – PATOLÓGICA DE LA PRESENCIA DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO ESTADIO CLÍNICO II Y III EN EL HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS DEL AÑO 2010 AL 2015.

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. **X SI NO\***

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

**INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:**

Nombre Completo: Alejandra Méndez Golcher. Número de Carné: Número de cédula: 122970495  
Correo Electrónico: amgolcher@hotmail.com Fecha: 11 de mayo 2020. Número de teléfono: 88268167 .

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Luis Alberto Corrales Rodríguez.

**FIRMA ESTUDIANTE**

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## Capítulo 1

### Marco teórico

Aunque su incidencia está disminuyendo constantemente, el cáncer gástrico sigue siendo una de las neoplasias más comunes y mortales en el mundo (1). El estómago, ubicado en el tracto digestivo entre el esófago y el intestino delgado, secreta enzimas y ácido gástrico para ayudar en la digestión de los alimentos. También secreta el factor intrínseco necesario para la absorción de vitamina B12. El estómago está revestido con una membrana mucosa compuesta por células y glándulas epiteliales columnares. Estas células son propensas a la inflamación, conocida como gastritis, que puede provocar úlceras pépticas y, en última instancia, cáncer gástrico (2).

Los adenocarcinomas gástricos se clasifican principalmente como cardias y no cardias según su sitio anatómico. Los cánceres del cardias gástrico surgen en la región que se une a la unión esofágica-gástrica y, por lo tanto, comparten características epidemiológicas con el adenocarcinoma esofágico (EAC). El cáncer no cardíaco, también conocido como cáncer de estómago distal, es más común y surge en la parte inferior del estómago (2). Histológicamente, los dos tipos principales de cáncer gástrico son el tipo difuso y el intestinal (2).

Según los datos de GLOBOCAN 2018, el cáncer gástrico es la tercera causa de muerte por cáncer en todo el mundo, después de la mortalidad general solo por cáncer de pulmón y colorrectal. Aproximadamente 1 de cada 12 de todas las muertes oncológicas son atribuibles al cáncer gástrico. El cáncer gástrico tiene la quinta incidencia más alta entre los cánceres, con un 5,7% de todos los casos nuevos atribuibles a la enfermedad. Más de un millón de casos nuevos de cáncer gástrico se diagnostican, en todo el mundo, cada año (1).

En Costa Rica ocupa el quinto lugar en incidencia en mujeres en el 2009, y segundo lugar de mortalidad. En hombres ocupa el tercer lugar con una tendencia descendente sostenida desde el año 2004, para el año 2009 luego de ocupar primer lugar en mortalidad en

hombres presentó una tendencia descendente y pasa a ocupar el segundo lugar (3).

## **ETIOLOGÍA.**

El noventa y cinco por ciento de los cánceres de estómago son adenocarcinomas, seguidos de linfoma gástrico primario. Estos adenocarcinomas se dividen en cánceres cardiacos y no cardiacos según su sitio anatómico.

El cáncer gástrico puede ocurrir de manera esporádica, familiar o como una enfermedad hereditaria. En 1988, Correa describió un modelo para la carcinogénesis de cáncer gástrico esporádico: una gastritis atrófica crónica conduce a metaplasia intestinal, displasia y, finalmente, cáncer (4).

### *Helicobacter pylori.*

La presencia en el estómago de una infección debida a la presencia de *Helicobacter pylori*<sup>1</sup> es considerado el mayor factor de riesgo en el desarrollo del cáncer gástrico. Esta bacteria fue clasificada como carcinógeno en 1994 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) (5). Desde entonces, son numerosos los estudios en los que ha sido establecida como causa principal en el desarrollo de la mayoría de tumores gástricos esporádicos, pero no como causa única de la carcinogénesis.

La gastritis producida por *H. pylori* se caracteriza por ser un proceso crónico, que se manifiesta en alternancia con episodios agudos de inflamación de la mucosa gástrica. Este daño progresivo produce una respuesta inmunológica activa y persistente que, en combinación con factores ambientales y variaciones genéticas del propio hospedador, conducen a la atrofia de la mucosa, progresión a metaplasia intestinal y displasia y, finalmente, al desarrollo de un carcinoma (6).



Aunque la inflamación es el principal factor conductor hacia el desarrollo de una neoplasia en el estómago, se producen también otras alteraciones específicas que contribuyen a un marco de cambios moleculares propios de esta asociación. Recientemente, se han asociado factores de virulencia presentes en la propia bacteria, como *cagA* (*citotoxin associated gene A*), *vacA* (*vacuolating citotoxin gene*) y *dupA* (*duodenal ulcer promoting gene A*) con el riesgo a desarrollar cáncer gástrico en los individuos afectados por *H. pylori* (7).

La infección por *H. pylori* se asocia principalmente con tumores gástricos de tipo intestinal y localización distal, cuyo proceso de desarrollo también está relacionado con lesiones precancerosas que incluyen la gastritis crónica y la metaplasia intestinal. Sin embargo, la asociación entre la infección por *H. pylori* y los tumores gástricos de localización proximal no está del todo clara. Los tumores del cardias muestran dos orígenes etiológicos distintos, y son asociados con *H. pylori* solamente aquellos de origen gástrico, pero no los de origen esofágico (8).

*Virus de Epstein-barr.*

El virus de *Epstein-barr* pertenece a la familia de los herpesvirus y posee cierta actividad oncogénica. Este virus ha sido detectado en enfermedades malignas de origen linfocítico o epitelial, como el linfoma de Burkitt o el carcinoma nasofaríngeo. En 1990 fue detectado por primera vez en tumores gástricos, y se indicó la existencia de una asociación entre ambos (9).

Los tumores gástricos producidos por el virus de *Epstein-barr* son proliferaciones a partir de una única célula que ha sido infectada de forma persistente con el virus. Este permanece en estado de latencia y expresa los genes virales *EBNA1* (*Epstein-barr nuclear antigen 1*), *EBER1* y *EBER2* (*Epstein-barr virus-encoded small RNAs 1 and 2*) para su mantenimiento, lo que confiere a las células infectadas cierta ventaja en la supervivencia (9). La expresión de estos genes está sujeta a regulación epigenética, por lo que los tumores gástricos relacionados con el virus de *Epstein-barr* se asocian frecuentemente con el fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP).

Los carcinomas gástricos asociados con la infección por el virus de *Epstein-barr* presentan una histología de tipo difuso y frecuente infiltración linfoide. Su incidencia se distribuye a lo largo de todo el mundo, pero los mayores índices se encuentran en países como EE.UU. o Alemania (10). Este tipo de tumores se corresponde con el 10% del total de los carcinomas gástricos diagnosticados.

### **CÁNCER GÁSTRICO HEREDITARIO.**

Aproximadamente, el 10 - 15% de los tumores gástricos diagnosticados poseen un componente familiar hereditario. La presencia de síndromes hereditarios que confieren una predisposición al cáncer, como la poliposis adenomatosa familiar (FAP), el cáncer de colon hereditario no poliposo (HNPCC), o el síndrome de Peutz-Jeghers, aumentan el riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

El cáncer gástrico difuso hereditario (HDGC) es un tipo de tumor causado por mutaciones en la línea germinal de *CDH1* (*cadherin-1*), el gen codificante para la proteína de adhesión E-cadherina. Los individuos portadores de esta mutación tienen un 70% más de riesgo de desarrollar este tipo de cáncer que los individuos que no la presentan (11). Ocasionalmente, también se ha observado el desarrollo de cáncer gástrico en familias con mutaciones en la línea germinal de genes como *TP53* (*tumor protein 53*) (conocido como síndrome de Li-Fraumeni), o *BRCA2* (*breast cancer type 2*) (12).

### **CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DEL CÁNCER GÁSTRICO.**

A lo largo de los años se han desarrollado varios sistemas de clasificación para los carcinomas gástricos. Analizando las características macroscópicas del tumor, la más utilizada es la clasificación de Borrmann, que subdivide los carcinomas gástricos en cuatro tipos diferentes: tipo I (poliposo), tipo II (ulcerado), tipo III (ulcerado-infiltrante) y tipo IV (infiltrado difuso) (13).

Por otro lado, si se evalúan las características microscópicas de los tumores, existen muchos sistemas diferentes de clasificación. Algunos de ellos son los desarrollados por Ming (16),

Nakamura (14), Mulligan (15), o la clasificación establecida por la Asociación Japonesa de Cáncer Gástrico (17). En cambio, las más usadas en este tipo tumoral son: la clasificación de Lauren, que subdivide los adenocarcinomas gástricos en dos patrones histológicos, difuso e intestinal (18); y el sistema descrito por la OMS (19), que divide los carcinomas gástricos en 5 subtipos histológicos (adenocarcinoma, papilar, tubular, mucinoso y células en forma de anillo). Aproximadamente, el 95% de las neoplasias gástricas malignas de origen esporádico se consideran adenocarcinomas, por lo que el sistema de clasificación de Lauren es el más utilizado (20).

### **CLASIFICACIÓN DE LAUREN.**

Según esta clasificación, los adenocarcinomas gástricos se subdividen en dos tipos histológicos principales: el tipo difuso y el tipo intestinal. Ambos subtipos poseen características diferentes, tanto morfológicas como clínico-patológicas (Figura 1). Aproximadamente, un 17% de los tumores gástricos no pueden ser clasificados por este sistema y se consideran adenocarcinomas indeterminados, no clasificables, o de tipo mixto, debido a que poseen características de ambos tipos histológicos (21).

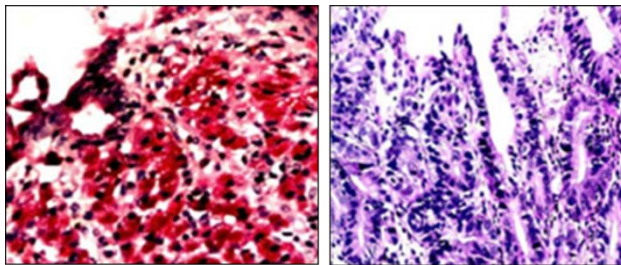


Figura 1 Microscopía óptica de dos tumores gástricos de tipo difuso e intestinal, cortesía patología HSJD.

#### **Cáncer gástrico de tipo intestinal.**

El carcinoma gástrico de tipo intestinal o bien diferenciado es el tipo histológico más común y se corresponde con el 50% de los casos. Generalmente se localizan en la zona distal del estómago, más próxima al intestino, de cuyas células adquieren cierta morfología, puesto que las células del epitelio gástrico se desvían de sus vías normales de diferenciación hacia

un fenotipo más intestinal. Este tipo de tumores presentan estructuras glandulares bien definidas, buena cohesión célula a célula, y exhiben bordes bien definidos. Su crecimiento es de tipo superficial, muestran preferencia por la invasión hacia los vasos sanguíneos, y desarrollan metástasis hacia hígado o pulmones (21).

Cáncer gástrico de tipo difuso.

Los carcinomas gástricos de tipo difuso son tumores pobremente diferenciados. Microscópicamente, el tumor es una masa de aspecto mucoso, compuesta por células en forma de anillo, o bien por pequeñas agrupaciones de células sin apenas formación glandular. Son tumores cuyos bordes presentan un patrón de crecimiento infiltrativo y difuso, y se expanden mayoritariamente hacia la pleura o el peritoneo por vía linfática. Representan el 33% de los tumores gástricos, y se pueden localizar en cualquier parte del estómago, pero especialmente en el cardias (21).

### **LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DEL CÁNCER GÁSTRICO.**

De acuerdo con la localización que presente el tumor, los carcinomas de estómago pueden subdividirse en tumores proximales, localizados en la zona superior del estómago, denominada cardias; o bien tumores distales, que son aquellos que se encuentran localizados en cualquier otra zona del estómago. Ambos subtipos muestran características etiológicas y epidemiológicas diferentes.

Hasta hace poco tiempo, los tumores del cardias representaban una pequeña proporción de la globalidad de los tumores gástricos; sin embargo, esta tendencia está cambiando. Su incidencia, en los últimos años, ha aumentado hasta suponer un 50% de los tumores gástricos diagnosticados en países desarrollados, al igual que ha ocurrido con la incidencia de otros tumores localizados en zonas similares, como los tumores de la unión gastroesofágica (UGE), o de la zona distal del esófago (22).

Hay autores que consideran a los carcinomas del cardias como un subtipo particular de cáncer gástrico debido a las características que presentan, como la transformación hacia un

tipo histológico indiferenciado en paralelo a la progresión tumoral, una penetración de la mucosa gástrica más profunda, metástasis a vasos linfáticos principalmente, y peor pronóstico clínico. Todas estas características son indicadoras de un fenotipo tumoral más agresivo que en el caso de los tumores distales (23). Asimismo, también se ha visto que las modificaciones genéticas que se observan en este tipo de tumores son más parecidas a las observadas en tumores esofágicos, que a las observadas en los tumores gástricos de localización distal (24).

## **ESTADIFICACIÓN**

Con el fin de establecer correlaciones entre las determinaciones moleculares realizadas en las muestras objeto de estudio y sus características clínico-patológicas, fue proporcionada por el propio hospital toda la información referente a cada paciente, junto con su seguimiento clínico; así como las características propias de cada tumor. Las pautas por seguir para la estadificación de dicha población, se obtuvieron de la Guía de Prácticas en Oncología versión 2.2010 para cáncer gástrico de la *American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th ed.* (25). En ella, se establecen los criterios para la aplicación del sistema TNM (*Tumour, Node and Metastasis*) en este tipo tumoral, y de esta forma definir los distintos estadios de la enfermedad bajo un criterio global. El sistema TNM de clasificación considera tres parámetros clave de información:

- T: describe la extensión del tumor primario (crecimiento hacia el interior de la pared del estómago y órganos cercanos).
- N: describe la propagación a los ganglios linfáticos adyacentes al tumor.
- M: indica la presencia o no de diseminación a regiones distantes del organismo.



<b>TUMOR PRIMARIO (T)</b>	TX	No se puede evaluar el tumor principal.	
	T0	No se encuentran evidencias de un tumor principal.	
	Tis	Carcinoma in situ: tumor intraepitelial sin invasión de la lamina propia.	
	T1	El tumor invade desde la capa superior de la mucosa hacia las capas inferiores.	
	T1a	El tumor está creciendo hacia la lámina propia o la mucosa muscularis.	
	T1b	El tumor crece a través de la lámina propia y la mucosa muscularis hacia la submucosa.	
	T2	El tumor crece hacia la capa muscularis propia.	
	T3	El tumor crece hacia la capa subserosa.	
	T4	El tumor ha crecido hacia la serosa y puede estar creciendo hacia un órgano adyacente.	
	T4a	El tumor crece hacia la serosa, pero no invade ningún órgano o estructura adyacente.	
	T4b	El tumor invade órganos o estructuras adyacentes.	
	<b>INVASIÓN GANGLIONAR (N)</b>	Nx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos adyacentes
		N0	No hay propagación a los ganglios linfáticos adyacentes.
N1		Metástasis en 1 - 2 ganglios linfáticos adyacentes.	
N2		Metástasis en 3 - 6 ganglios linfáticos adyacentes.	
N3		Metástasis en 7 o más ganglios linfáticos adyacentes.	
N3a		Metástasis en 7 - 15 ganglios linfáticos adyacentes.	
N3b		Metástasis en 16 o más ganglios linfáticos adyacentes.	
<b>METÁSTASIS (M)</b>	M0	No hay metástasis a distancia (el cáncer no se ha propagado a órganos o sitios distantes, tales como el hígado, los pulmones o el cerebro)	
	M1	Hay metástasis distantes (el cáncer se propagó a órganos o ganglios linfáticos distantes del estómago).	

Tabla 1.1 Características de los descriptores T, N y M establecidos para cáncer gástrico por la American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th ed. (2010).

ESTADIO TUMORAL		ESTADIO	Subestadio	Tumor (T)	Nódulos (N)	Metástasis (M)		
ESTADIO I	IA			T1	N0	M0		
	IB			T1, N1	M0	T2, N0	M0	
ESTADIO II	IIA			T1, N2	M0	T2, N1	M0	
				T3, N0	M0	T1, N3	M0	
	IIB			T2, N2	M0	T3, N1	M0	
				T4a	N0	M0		
ESTADIO III	IIIA			T2, N3	M0	T3, N2	M0	
				T4a	N1	M0	T3, N3	M0
	IIIB			T4a	N2	M0	T4b, N0 ó N1	M0
ESTADIO IV	IIIC			T4a	N3	M0	T4b, N2 ó N3	M0
		IV			T, N	M1		

Tabla 1.2 Clasificación TNM para cáncer gástrico por la American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7th ed. (2010).

### MECANISMOS MOLECULARES DE LA CARCINOGENÉISIS GÁSTRICA.

El cáncer de estómago es considerado una enfermedad multifactorial, porque es el resultado de la combinación de una serie de factores ambientales, hereditarios, y alteraciones genéticas específicas. Las alteraciones, tanto genéticas como epigenéticas, de multitud de oncogenes, genes supresores de tumores, reguladores del ciclo celular, moléculas de adhesión y genes de reparación del ADN, están implicadas en el complejo proceso de la carcinogénesis gástrica.

La combinación particular de todas ellas resulta en la distinción de dos rutas genéticas distintas implicadas en el desarrollo de los tumores gástricos de tipo difuso e intestinal.

Los cambios secuenciales que se producen en la mucosa gástrica como antesala al desarrollo de un cáncer invasivo, se conocen como “cascada pre-cancerosa”, y fueron descritos por primera vez por Correa en 1975 (26). Este modelo de carcinogénesis describía el progreso de la mucosa gástrica hacia un carcinoma diferenciado de tipo intestinal, a través de una serie de lesiones precursoras. A partir de una gastritis crónica, se produce la atrofia del epitelio gástrico, el desarrollo de metaplasia intestinal y una posterior displasia (27).

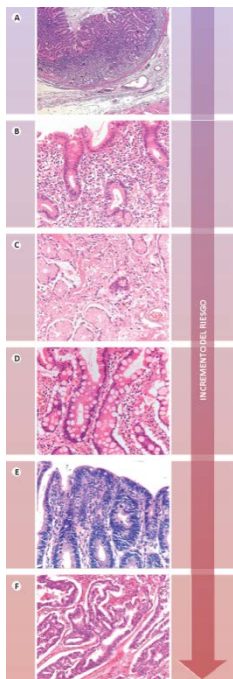


Figura 2 Secuencia de lesiones gástricas precancerosas de un carcinoma gástrico de tipo intestinal. (A) Mucosa normal, (B) Gastritis crónica, (C) Atrofia, (D) Metaplasia intestinal, (E) Displasia, (F) Carcinoma de tipo intestinal, (Adaptado de Hartgrink et al., 2009).

Más recientemente, Tahara (28) describió un modelo de carcinogénesis gástrica que resume la secuencia de eventos moleculares que se suceden durante el desarrollo de los tumores gástricos de tipo difuso e intestinal. En el caso de los carcinomas de tipo intestinal, este modelo contempla el anterior modelo de Correa pero introduce, además, otras posibles secuencias que llevan al desarrollo de un tumor: la secuencia metaplasia intestinal - adenoma - carcinoma (29).

A nivel molecular, la inestabilidad en microsatélites (MSI), las mutaciones en *TP53*, una disminución en la expresión de *p27*, un aumento en la expresión de *ciclina-E*, y la transcripción del gen *c-Met* (*MET* or *MNNG HOS transforming gene*), están implicados en la transición de las lesiones precursoras hacia un fenotipo maligno; mientras que la presencia de LOH (*Loss of Heterozygosity*), las mutaciones en *APC* (*Adenomatous polyposis coli*), una completa pérdida de expresión de *p27* y *DCC* (*Deleted in Colorectal Carcinoma*), la disminución de la expresión del receptor tipo I de TGF- $\beta$  (*Transforming growth factor beta*), y la amplificación de *erbB-2* (*human epidermal growth factor receptor 2*), son características de estadios más avanzados de los tumores de tipo intestinal (30).

Respecto a la carcinogénesis de los tumores gástricos de tipo difuso, se han descrito alteraciones moleculares implicadas en este proceso, en muchos casos, implicadas también en el desarrollo de tumores gástricos de tipo intestinal. Sin embargo, no se cuenta con una secuencia equivalente de eventos genéticos. La alteración molecular más frecuentemente asociada a los tumores gástricos de tipo difuso son los defectos en la función de E-cadherina. Esta falta de funcionalidad puede ser debida a mutaciones somáticas, a una pérdida de expresión, o bien, por la metilación del promotor del gen codificante para la E-cadherina (*CDH1*) (31). Como ya se ha mencionado anteriormente, individuos con mutaciones en la línea germinal de *CDH1* exclusivamente desarrollan tumores gástricos de tipo difuso. La pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 17p (*TP53*) también está implicada en el desarrollo de este tipo de tumores, mientras que la pérdida de expresión de *p27*, y la amplificación de genes como *K-sam* y *c-Met*, intervienen en su progresión.

### **MECANISMOS DE INESTABILIDAD GENÓMICA.**

La inestabilidad genómica es un evento que tiene lugar en las primeras etapas del desarrollo de un carcinoma gástrico (32). Actualmente, son tres los mecanismos de inestabilidad genómica descritos: la inestabilidad cromosómica (CIN, *chromosomal instability*), la inestabilidad en microsatélites (MSI, *microsatellite instability*) y la metilación de las islas CpG (CIMP, *CpG island methylator phenotype*). Estos mecanismos se corresponden con las

distintas vías de desarrollo del cáncer gástrico, y no son totalmente independientes entre sí, sino que incluso se encuentran solapados en algunos casos (33).

### **Inestabilidad cromosómica (CIN).**

La inestabilidad cromosómica es el tipo más común de inestabilidad genómica en los tumores humanos, y se encuentra presente en el 60% de los tumores gástricos (34). Este mecanismo se caracteriza por la presencia de aberraciones cromosómicas tales como, modificaciones en el contenido de ADN por cambios en el número de copias de los cromosomas, un elevado nivel de presencia de pérdidas alélicas (LOH), y deleciones y/o amplificaciones de determinados genes. Estas alteraciones producen la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores, lo que da lugar a la progresión de un cáncer a través de la conocida como vida supresora(34).

Los tumores gástricos CIN positivos, se caracterizan por la presencia de frecuentes pérdidas de heterocigosidad (LOH) en los *loci* situados en varios cromosomas: 1p, 3p, 4p, 5q, 7p, 8p, 8q, 9p, 12p, 13q, 17p, 18q, 20q, y 22q, segmentos entre los cuales se incluyen genes como *TP53* (cromosoma 17), *DCC*, *DPC4* (*Deleted in Pancreatic Carcinoma, locus 4*), *SMAD2* (cromosoma 18), *APC*, *MCC* (*Mutated in Colorectal Cancer*) (cromosoma 5) y el gen *K-ras* (cromosoma 12) (35).

Por otro lado, también se han definido mutaciones somáticas en genes supresores de tumores, como es el caso de *p16INK4a*, o el ya mencionado *TP53*, que se encuentra mutado en el 60% de los carcinomas gástricos. Las mutaciones en *APC* son las segundas más frecuentes en este tipo tumoral, y se detectan también en las lesiones precursoras, lo que indica su papel en la progresión a adenocarcinoma. Asimismo, se ha observado la pérdida de expresión de genes codificantes para moléculas de adhesión como *CDH1* que, como ya se ha comentado, se encuentra implicado en el desarrollo del carcinoma gástrico de tipo difuso. Oncogenes como *c-Met*, *K-ras*, *c-erbB2*, o *K-sam* se sobreexpresan en este tipo tumoral, al igual que factores de crecimiento de la familia del EGF (*epidermal growth*

*factor*), numerosas citoquinas como TGF (*transforming growth factor*), IL-1 e IL-8 (*interleukin 1 and 8*) o inhibidores de la apoptosis como BCL-2 (*B-cell CLL/lymphoma 2*) (36).

### **Inestabilidad en microsatélites (MSI).**

La presencia de inestabilidad en microsatélites es una característica comúnmente descrita en un porcentaje intermedio de los adenocarcinomas gástricos. Este tipo de inestabilidad genómica es característica de los tumores desarrollados por la vida del fenotipo mutador, y se define como la presencia de errores de replicación, resultantes de la inserción o delección de unidades de repetición en secuencias cortas y repetitivas del ADN, denominadas secuencias microsatélite.

Este tipo de alteración fue descubierta en 1993 asociada al cáncer de colon hereditario no poliposo (HNPCC) y, posteriormente, fue asociada a otros tipos tumorales, como el cáncer gástrico o el cáncer de endometrio (37). En el caso del cáncer gástrico, la presencia de inestabilidad en microsatélites se ha asociado a los tumores de origen hereditario desarrollados en el contexto del síndrome de Lynch, y entre el 15 - 50% de los tumores gástricos de origen esporádico (38).

Los tumores desarrollados por la vida del fenotipo mutador presentan una elevada frecuencia de errores de replicación. Esto se debe a la deficiencia o inactivación de uno o varios de los genes que forman parte del sistema de reparación de errores de replicación (MMR, *Mismatch Repair*) (Figura 3) como son *hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6*, *hMPS1* o *hPMS2* (39). Este sistema se encarga de la reparación de errores que ocurren de forma natural durante el proceso de replicación del ADN; por lo tanto, el déficit de su funcionamiento se traduce en la presencia de nuevos alelos en el ADN del tejido tumoral, que no están presentes en el ADN del tejido no tumoral. Esta inactivación funcional se produce, bien por mutaciones en los genes *hMLH1* y *hMSH2*, que han sido descritas en el 12 - 15% de los tumores gástricos desarrollados por esta vida, o bien, por mecanismos de silenciamiento epigenético, como es el caso de la hipermetilación del promotor del gen *hMLH1* que está presente en el 50% de los casos (40).

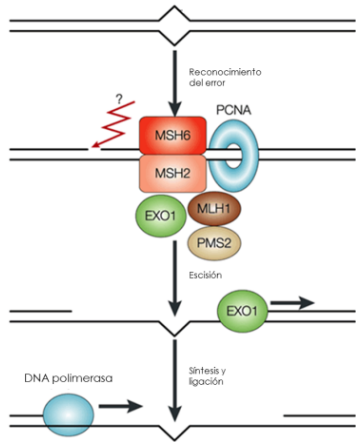


Figura 3 Funcionamiento del complejo MMR. Adaptado

Martin and Scharff, 2002

La inactivación de los genes indicados en el párrafo anterior no constituye, por sí misma, un evento suficiente para el desarrollo de un tumor, sino que va seguida de una serie de alteraciones genéticas adicionales, generalmente por presencia de mutaciones de cambio del marco de lectura que provocan la inactivación de genes implicados en la regulación del ciclo celular y la apoptosis como *TGF-β*, *IGF1R*, *TCF4*, *RIZ*, *BAX*, *CASP-5*, *FAS*, *BCL10* y *APAF1* (41); o bien, de genes implicados en el mantenimiento de la estabilidad genómica (*hMSH6*, *hMSH3*, *MED1*, *RAD50*, *BLM*, *ATR* y *MRE11*) (42). Estas alteraciones favorecen la inestabilidad genómica y el desarrollo del tumor hacia un fenotipo maligno (43).

### Metilación de las islas CpG (CIMP).

El silenciamiento epigenético de genes relacionados con el proceso tumorigénico por metilación de las islas CpG, es una de las alteraciones genéticas más importantes implicadas en el desarrollo del cáncer (44). Este tipo de inestabilidad genómica se caracteriza por un grado anormal de hipermetilación en las islas CpG, localizadas en los promotores de genes implicados en el proceso tumorigénico, lo que implica a su silenciamiento transcripcional. Esta nueva vida carcinogénica está presente en el 50% de los tumores gástricos, y fue asociada a este tipo tumoral por primera vez en 1999. Este tipo de alteraciones constituye

un importante mecanismo para la génesis del cáncer de estómago, debido a que se han detectado en las lesiones que preceden a un adenocarcinoma gástrico invasivo, y su acumulación se incrementa de forma paralela al estadiaje tumoral (45).

Los tumores CIMP positivos se caracterizan por la presencia de metilación en múltiples genes relacionados con tumores, como *APC*, *CDH1*, *MLH1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, y *RUNX3*. La inactivación de genes supresores de tumores, como *CDH1* o *PTEN*, se ha asociado a una peor supervivencia de los pacientes, e intervalos libre de enfermedad más cortos. Sin embargo, tumores con un marcado fenotipo metilador se asocian a una mejor supervivencia, por lo que la relación entre esta vida y las variables clínicas no está aún bien determinada (46).

Un caso especial es el del gen *hMLH1* que, como se ha comentado anteriormente, se encuentra silenciado por hipermetilación de su promotor en el 50% de los tumores gástricos con inestabilidad en microsatélites. Este hecho hace pensar en la asociación entre estas dos vías carcinogénicas, pues tal y como se ha demostrado, el porcentaje de metilación de genes como *p16INK4a*, *CDH1*, y el propio *hMLH1* es mayor en el caso de tumores que presentan una elevada tasa de inestabilidad en microsatélites. También se ha encontrado mayor proporción de tumores CIMP-H (*CIMP-high*, tumores con metilación en más del 50% de los genes analizados) entre los casos que presentan inestabilidad en microsatélites, que entre los tumores gástricos sin inestabilidad en microsatélites (46).

### **Diagnóstico MSI**

Existen varios métodos validados y en uso para detectar un cáncer deficiente de MMR:

1. Amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de las secuencias de microsatélites.
2. Tinción de inmunohistoquímica (IHC) para la expresión de proteínas MMR.
3. Secuenciación de próxima generación (NGS) para la detección de MSI.



La amplificación por PCR con cebadores específicos para repeticiones de microsatélites da como resultado un perfil de amplificación distintivo [47]. Al comparar la posición alélica del locus del microsatélite en el tumor y el tejido normal, se puede evaluar el MSI como "desplazamiento" en el ferograma de uno o más microsatélites. Para alcanzar una alta especificidad y sensibilidad y también para garantizar la reproducibilidad y en la normalización entre diferentes laboratorios, el Instituto Nacional del Cáncer recomienda el llamado Panel Bethesda como referencia para las pruebas de diagnóstico.

Este panel está compuesto por cinco marcadores microsatélite específicos para dos loci de mononucleótidos (BAT-25 y BAT-26) y tres loci de dinucleótidos (D2S123, D5S346 y D17S250). Estas regiones se amplifican en paralelo utilizando PCR fluorescente y sus tamaños son evaluados por electroforesis capilar posterior [48]. Si se usa este método, se pueden establecer tres estadios diferentes basados en diferentes patrones de tamaño alélico en el tejido canceroso en comparación con el normal. El estado de MSI alto (MSI-H) viene dado por un cambio de tamaño en al menos dos de los cinco loci de microsatélites; El MSI bajo (MSI-L) se administra mediante un cambio de tamaño en un lugar de cinco y un microsatélite estable (MSS) con cualquier cambio en el tejido canceroso en comparación con el normal.

Se demostró que los marcadores dinucleótidos son menos sensibles y específicos que los mononucleótidos para la detección de tumores con deficiencias en la reparación de desajustes. Además, los marcadores mononucleótidos son más comúnmente monomorfos, lo que potencialmente evita la necesidad de probar el ADN normal correspondiente, para superar las limitaciones del sistema Bethesda debido a la presencia de marcadores dinucleótidos [49].

La evaluación MSI por inmunohistoquímica (IHC) permite la detección de la expresión o la ausencia total de proteínas MMR y es posible una puntuación relativa. Este método muestra características de rendimiento comparables y alta tasa de concordancia (> 90%) con detección de MSI con PCR [50]. La pérdida de expresión de una proteína única o de una pareja heterodimérica del complejo MMR sugiere la presencia de MMRD; Por lo tanto, es

una evidencia indirecta de MSI. A nivel de proteínas, hMLH1 y hMSH2 son estables sin sus respectivos socios diméricos, hPMS2 y hMSH6, mientras que estos últimos componentes rara vez son estables sin sus contrapartes.

Así pues, los tumores con genes *hMLH1* o *hMSH2* mutados generalmente muestran pérdida del dímero funcional respectivo; a la inversa, las mutaciones de los genes *hPMS2* o *hMSH6* generan la pérdida de solo la proteína afectada. O sea, IHC permite la determinación de cuál de los genes MMR es defectuoso y apoya la decisión sobre un análisis genético adicional. Se debe apreciar que IHC proporciona información engañosa para los casos raros de mutaciones sin sentido en los genes *hMLH1* o *hMSH6*, lo que da como resultado proteínas traducidas con afinidad de anticuerpos normalmente, pero con actividad enzimática perdida. En estos casos, solo las pruebas MSI basadas en PCR pueden ayudar a determinar si existen verdaderas proteínas MMR funcionales a través de estas mutaciones [50].

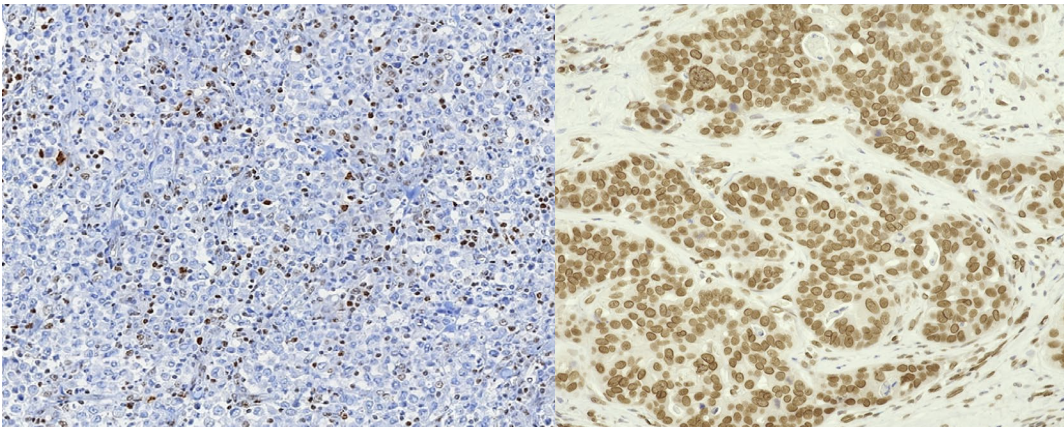


Figura4. MSI en cáncer gástrico con pérdida de expresión de MLH-1. Cortesía HSJD patología.

Muchos estudios han intentado evaluar y comparar el mejor método rentable para definir el estado de MMR entre IHC y PCR. Además, se ha evidenciado en muchos informes, la alta correlación entre los resultados de IHC y las pruebas basadas en PCR para determinar el rasgo fenotípico del tumor. En un estudio reciente, se encontró una discrepancia entre la evaluación de MMRD y MSI. No obstante, la concordancia general entre el análisis inmunohistoquímico de la expresión de la proteína MMR y la MSI fue alta. Los autores

explicaron la correlación imperfecta con la variabilidad interobservador en la evaluación del análisis inmunohistoquímico, la heterogeneidad de la expresión del biomarcador en el cáncer gástrico y la presencia de proteínas MMR normalmente traducidas pero no funcionales en el contexto de una mutación MLH1, o defectos genómicos raros que resultan en estado de MSI-H con función MMRD intacta, por ejemplo, mutación de ADN polimerasa.

Una de las ventajas de la técnica IHC consiste en su amplia integración en las pruebas de rutina en los laboratorios de patología molecular y de diagnóstico y en su capacidad para identificar qué gen se debe investigar para proceder con análisis moleculares adicionales en caso de sospecha de síndromes de cáncer hereditario. Además, cuando se utiliza IHC solo se requiere el tejido tumoral, mientras que se requieren muestras normales y tumorales para la prueba MSI con PCR [51]. Las pruebas moleculares con PCR detectan MSI directamente como consecuencia de MMRD. En estos 5 a 11% de las neoplasias malignas por MSI que no exhiben pérdida de la proteína MMR, generalmente debido a la antigenicidad retenida en una proteína que no es funcional, IHC puede subestimar los casos de MSI-H. En esta situación, la prueba basada en la PCR ayuda a definir el diagnóstico correcto.

Evaluación de MSI por secuenciación de nueva generación (NGS) algunos laboratorios comenzaron a utilizar NGS para diagnosticar el estado de microsatélites [51]. En la mayoría de los casos, también la determinación de MSI basada en NGS necesita tejido tumoral y tejido normal [52]. Recientemente, se ha establecido un ensayo de MSI que utiliza datos de un panel NGS comercial disponible para la determinación del estado de MSI [53]. Una ventaja de este ensayo basado en NGS para la evaluación de MSI es que no requiere muestras de tejido normal. Además, los métodos basados en NGS cubren una gama más amplia de loci de microsatélites; por lo tanto, no se limita a los cinco sitios de microsatélites utilizados en el método basado en PCR [53]. Las desventajas son los altos costos de inversión por muestra para NGS y el mayor tiempo necesario para completar análisis NGS y bioinformáticos en comparación con los métodos de análisis de PCR y MSI basados en IHC.

En uno de los primeros estudios elaborado en 1996 por Renault et al., se analizaron 40 pacientes no tratados, afectados por tumor primario de estómago, ninguno de los pacientes había desarrollado un cáncer a una edad temprana, y ninguno tenía antecedentes familiares que sugirieran una predisposición genética al cáncer. Se Incluyeron 29 tumores de tipo intestinal y 7 de tipo mixto o difuso, y se clasificaron en etapas de la siguiente manera: 10 tumores de estadio I-II, 14 de estadio III y 12 de estadio IV. Se demostró una alta incidencia de MSI (32,5%) y así la asociación entre las lesiones genéticas y los parámetros clínico-patológicos sugieren que los tumores gástricos que muestran inestabilidad genética tienen un fenotipo ligeramente menos agresivo [54].

Sugimoto et al. investigaron las características clínico - patológicas en pacientes cáncer gástrico temprano y MSI [55]. Examinaron a 330 pacientes con adenocarcinoma de tipo intestinal. Las muestras se examinaron utilizando una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) 53 casos con presencia de MSI. Concluyeron que el fenotipo MSI en cáncer gástrico en etapas tempranas es una lesión precursora principal en el cáncer gástrico y se caracteriza por características clínico - patológicas y moleculares distintas de los que no lo portan.

Pereira et al. investigaron MSI y su relación con las características clínico-patológicas y el pronóstico del paciente. Se evaluó a 287 pacientes con cáncer gástrico sometidos a D2-gastrectomía a través de IHQ. Veintisiete por ciento fue positivo por MSI, en pacientes con edad avanzada, sin ganglios linfáticos, determinaron mejor supervivencia en estos pacientes con presencia MSI [56].

Benghelli et al. determinaron la importancia clínica de la MSI en 510 cánceres gástricos esporádicos. Los resultados se compararon con la expresión inmunohistoquímica de las proteínas de reparación de desapareamiento Mlh1 y Msh2. La MSI estuvo presente en 83 (16%) cánceres y se correlacionó con una mejor supervivencia cuando se agruparon según la etapa, solo los cánceres en etapa II mostraron un efecto significativo del estado de MSI sobre la supervivencia. La MSI también se correlacionó con la edad avanzada, el sexo

femenino, intestinal y menor afectación ganglionar. Concluyeron MSI, así el análisis tiene utilidad clínica en la determinación del pronóstico, pero debe determinarse solo en neoplasias en estadio II en un entorno clínico de rutina [57].

Kim et al revisaron 1,276 pacientes con cáncer gástrico en estadios II y III, se sometieron a gastrectomía con intención curativa entre enero de 2005 y junio de 2010. Se analizó el pronóstico de los tumores MSI-H en comparación con los tumores MSI-L / MSS, de acuerdo con la administración de quimioterapia y otras características clínico-patológicas. Un total de 361 (28.3%) pacientes no recibieron quimioterapia (MSI-alta 47 y MSI-baja / MSS 314), mientras 915 (71.7%) pacientes recibieron quimioterapia (MSI-alta 58 y MSI-baja / MSS 857).

En los análisis de subgrupos, el pronóstico de MSI-H fue mejor en el estadio III, las mujeres con metástasis a los ganglios linfáticos y los subgrupos de histología indiferenciada cuando no se recibió la quimioterapia. Empero, en pacientes tratados con quimioterapia, el pronóstico fue peor para los tumores con MSI alta en estadio III, histología indiferenciada y subgrupos de tipo difuso de cáncer gástrico. En conclusión, los tumores con MSI alta se asociaron con un buen pronóstico en el cáncer gástrico en estadios II y III cuando los pacientes fueron tratados solo con cirugía, y los beneficios del estado de MSI alta se atenuaron con la quimioterapia [58].

Mathiak et al. publicaron la necesidad de utilizar la MSI en cáncer gástrico. Se estudió los fenotipos, los genotipos y las características clínico-patológicas de MSI, en 482 pacientes. Treinta y cuatro fueron MSI. Concluyó con las mismas características de estudios mencionados previamente con MSI presente, significativamente más frecuente en pacientes de edad avanzada, distal del estómago, y se asoció con un número significativamente menor de metástasis en los ganglios linfáticos y una supervivencia general y tumoral significativamente mejor. MSI constituye un subgrupo pequeño pero relevante con distintas características clínico -patológicas. Esta revisión ilustra las deficiencias de los algoritmos faltantes para pruebas estandarizadas con prevalencias de MSI que oscilan desde 0% al 44.5% [59].

Choi et al. investigaron la utilidad del estado de MSI como un predictor de pronóstico y capacidad de respuesta a la quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer gástrico en estadios II y III. Recolectaron muestras de tumores e información clínica de pacientes inscritos en el ensayo CLASSIC, un estudio aleatorizado y controlado de capecitabina más quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino. De 592 especímenes, 36 tenían una MSI alta. Entre 286 pacientes no tratados con terapia adyuvante, aquellos con tumores MSI-H tuvieron una mejor tasa de supervivencia libre de enfermedad a 5 años que aquellos con tumores MSI-bajos / SMS.

Entre 306 pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante, el estado de MSI-H no se correlacionó con una mejor supervivencia sin enfermedad. Los beneficios de la quimioterapia adyuvante difieren según el estado de MSI; aunque la quimioterapia adyuvante mejoró la supervivencia sin enfermedad entre pacientes con MSI-baja / MSS, no se observó beneficio en el grupo MSI-H. Ellos concluyeron que entre los pacientes con cáncer gástrico en estadios II y III, el estado de MSI-H se correlacionó con un pronóstico favorable, y la quimioterapia adyuvante benefició a aquellos con tumores MSI-L / MSS, pero no a aquellos con tumores MSI-H [60].

Choi et al efectuaron una revisión sistemática y un metanálisis exhaustivo utilizando las principales bases de datos electrónicas con palabras clave relacionadas con "inestabilidad de microsatélites", "cáncer gástrico" y "pronóstico". Encontraron veinticuatro estudios con 5,438 participantes (712 casos fueron de cáncer gástrico MSI) que se incluyeron para agrupar las estimaciones de riesgo de MSI en el cáncer gástrico. Diecisiete estudios informaron la supervivencia general; y concluyeron que el cáncer gástrico MSI se asoció con un buen pronóstico, pero hubo heterogeneidad en los estudios recientes. La epidemiología modificada y los efectos de la quimioterapia son causas potenciales de heterogeneidad. El establecimiento de un consenso para definir la MSI en el cáncer gástrico debe preferirse para estudios futuros [61].

En el 2017 en un análisis del estudio MAGIC, la cual fue diseñada para valorar si el uso de quimioterapia perioperatoria tenía mejor impacto en supervivencia global que la cirugía

sola en cáncer gástrico; la cual fue positiva para el brazo de quimioterapia perioperatoria. En este análisis se tomaron las biopsias de 303 pacientes y se concluyó que de estos 283 no presentaban inestabilidad de microsatélites y 20 sí lo presentaron. Demostraron que los pacientes con MSI-H presentaron una supervivencia global no alcanzada al momento de la cohorte en los cuales recibieron solo cirugía, en cambio en estos pacientes sometidos al brazo de quimioterapia y cirugía presentan una menor supervivencia global que quienes presentaban MSI-L, esto quizá en relación con la resistencia a las fluoropirimidinas dada por la MSI [62].

En el 2017 se aplicó un metaanálisis donde se incluyó 48 estudios con un total de 18612 pacientes. Se encontró MSI-H en 9.2% de los pacientes, 1718 de 18612. Estaba asociado con el sexo femenino, edad más de 65 años, tipo histológico intestinal, de localización media y sin presencia de ganglios linfáticos, y al igual que en los estudios mencionados se asociaba con mejor supervivencia global y esto por sus características clínico – patológicas [63].

En el 2018 Choi et al. en un estudio retrospectivo, de muestras patológicas del estudio CLASSIC; el cual consistió en el uso de capecitabina y oxaliplatino en adyuvancia en pacientes con cáncer gástrico. Le solicitaron MSI evaluados por inmunohistoquímica. De un total de 582 pacientes un 6.8% (40 pacientes) presentaron MSI-H. En pacientes sin MSI, la quimioterapia adyuvante mejoró la supervivencia libre de enfermedad, así como no se observó beneficio en la adyuvancia en los MSI-H [64].

En el 2019, Tadayoshi et al. presentaron un estudio retrospectivo del valor de la MSI y el pronóstico y la respuesta a quimioterapia perioperatoria, para un total de 285 muestras, por medio de inmunohistoquímica relacionaron la pérdida o presencia de MLH1. La pérdida de MLH1 no se traduce en presencia de MSI. De estos 285 pacientes, un 85.7% presentaban pérdida de MLH1. La pérdida de este fue asociada con quimioresistencia a base de fluoropirimidinas y sin prolongar la supervivencia con la quimioterapia adyuvante [65].

Se publicó un metaanálisis en el 2019, el cual valoraba la eficacia de las fluoropirimidinas en pacientes con MSI-H, puesto que presentar MSI es un factor predictor de uso de



quimioterapia a base de fluoropirimidinas en cáncer de colon. Sin embargo, ya varios estudios como se describió aquí previamente, aportaron que en cáncer gástrico el estatus de MSI parece tener impacto en el rol de la quimioterapia, por el cual este estudio incluyó 4 estudios, con un total de 1174 pacientes dentro de los cuales 84 pacientes presentaban MSI-H y 1090 MSI-L. En el análisis se encontró que no existía correlación entre el estatus de MSI y la quimioterapia, en cáncer gástrico todavía es controversial, ya que está bien establecido en cáncer de colon [66].

En un estudio prospectivo formalizado en Alemania por M. Kohlruss, publicado en el 2019 se quiso determinar el valor pronóstico y predictivo de la quimioterapia a base de fluoropirimidinas y platino en los pacientes con MSI-L y MSI-H. Todas las biopsias fueron analizadas antes de iniciar tratamiento con quimioterapia. MSI-H no tuvo correlación con el uso de quimioterapia, el MSI-L sí obtuvo mejor repuesta con quimioterapia y ningún beneficio en recibir solo cirugía, por lo que recomiendan dar terapia combinada y una peor supervivencia global. MSI-H indica un pronóstico favorable independientemente del uso o no de la quimioterapia [67].

En un metaanálisis elaborado en el 2019, el cual contemplaba los estudios MAGIC, CLASSIC, ARTIST y ITACA-S, los cuales son estudios esenciales en cáncer gástrico que contemplan quimioterapia perioperatoria, cirugía sola, radioterapia adyuvante, o quimioterapia adyuvante todo dependiendo del estudio, en un total de 1556 pacientes, 121 presentaron MSI-H. Para supervivencia libre de enfermedad, se efectuó la siguiente comparación: MSI-H y MSI-L fue superior para MSI-H (71.8%. versus 52.3%), para supervivencia global a los 5 años se obtuvo los mismos hallazgos (77.5% versus 59.4). Se llegó a la conclusión que los pacientes con MSI-L se benefician de quimioterapia y de cirugía, no así los de MSI-H, estos solo se vieron beneficiados por cirugía [68].



## Capítulo 2

### Objetivos

#### 1.1. Objetivos general

- Analizar las características clínicas, demográficas y la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con cáncer gástrico estadio clínico II y III que presentan inestabilidad de microsatélites.

#### 1.2 Objetivos específicos

- Describir las características demográficas y clínicas de la población.
- Determinar la frecuencia de inestabilidad de microsatélites en cáncer gástrico en los pacientes de estudio.
- Evaluar la supervivencia libre de recurrencia de los pacientes con MSI.
- Describir la frecuencia de la expresión de las proteínas reparadora por inmunohistoquímica.

## **2. Pregunta de investigación**

¿Cuál es la correlación clínico – patológica de la presencia de inestabilidad de microsatélites en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III en el Hospital San Juan de Dios del año 2010 al 2015?

### 3. Justificación

El cáncer gástrico (GC) es una de las neoplasias malignas más agresivas, con alto potencial metastásico. A pesar de los grandes esfuerzos para definir mejores estrategias curativas, la quimioterapia y la administración dirigida de medicamentos no proporcionaron los resultados esperados y el pronóstico sigue siendo pobre.

Muchos estudios de GC ahora se basan en la evidencia de que la supervivencia de los pacientes y la respuesta al tratamiento no solo dependen de la estratificación del tumor sino también de las características moleculares heterogéneas del GC.

TCGA primero proporcionó una clasificación sistemática de GC, y se centró en el perfil genético, así definió cuatro subtipos diferentes con una composición molecular específica. El GC con inestabilidad de microsatélites representa un grupo de interés debido a su peculiar microambiente inmunológico y su respuesta al tratamiento.

Grandes metaanálisis de estudios retrospectivos documentaron a la MSI-H GC como una enfermedad separada, principalmente asociada con la edad avanzada, el sexo femenino, la localización distal del estómago, tipo histológico intestinal. Estos estudios permitieron identificar por completo un significado pronóstico y predictivo para este subgrupo molecular, como ya se evaluó en el cáncer colorrectal. A pesar de que MSI-H resultó asociado con una mejor SG en pacientes con quimioterapia sin tratamiento previo en comparación con el grupo de MSS, se relacionó con un mayor riesgo de muerte y resultados más pobres cuando se administró quimioterapia perioperatoria en la enfermedad más avanzada.

La MSI-H GC muestra características histológicas y moleculares típicas, comportamiento clínico definido y respuestas peculiares a los tratamientos. Estas evidencias sugieren que

podría ser útil evaluar a los pacientes con GC para el estado de microsatélites en todas las etapas de la enfermedad.

Otros estudios prospectivos, especialmente para las primeras etapas, con un perfil genético planificado previamente de pacientes con GC, podrían validar las evidencias actuales. Es importante saber el estado mutacional del GC para comprender el perfil del tumor molecular, para finalmente garantizar el tratamiento más adecuado y personalizado para cada paciente con GC.

## CAPÍTULO 3

### Materiales y métodos

#### **3.1 Diseño de estudio:**

Un estudio observacional de cohorte retrospectivo fue desarrollado en pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer gástrico en estadios clínicos II y III en el Hospital San Juan de Dios durante el periodo comprendido entre el 2010 y 2015.

La información de estos pacientes se recopiló a partir de una base de datos con un protocolo de investigación previamente aprobado por el Comité Ético Científico del Hospital San Juan de Dios en la sesión 25-2019.

#### Análisis de muestra por inmunohistoquímica

La evaluación de la expresión de las proteínas MLH1, MSH2 y MSH6 en el tumor se realiza por IHQ en secciones de tejido fijado en formalina y embebido en parafina. El análisis IHQ se realizó en el laboratorio de anatomía patológica del HSJD para los pacientes reclutados entre el 2010 y el 2015. Cortes histológicos fueron montados en portaobjetos con carga positiva y desparafinados. Los pacientes procesados durante el período del 2010 al 2015 fueron evaluados utilizando los anticuerpos para MLH1, MSH2 y MSH6 respectivamente. Brevemente, la recuperación de la inmunoreactividad se realizó durante 20 min a 95°C en una solución de alto pH. La tinción IHQ se realizó de forma automatizada en el Autostainer 48 (Dako) usando un kit según las instrucciones del fabricante. Para el contraste nuclear se utilizó hematoxilina de Mayer. Se consideró como tinción negativa o ausencia de la expresión de la proteína cuando menos del 10% de las células tumorales demostraron un patrón de tinción nuclear, bajo los lineamientos del Colegio Americano de Patólogos con su última versión del 2018.

Se aplicaron los siguientes criterios de inclusión:

- Edad mayor de 18 años.
- Género femenino o masculino.
- Pacientes con diagnóstico confirmado por biopsia de adenocarcinoma gástrico.
- Biopsia con histología positiva adenocarcinoma gástrico y de la unión gastroesofágica Siewert II y III.
- Diagnóstico entre los años 2010 y 2015.
- Diagnóstico en el Hospital San Juan de Dios.

Criterios de exclusión:

- Ausencia de expediente clínico.
- Neoplasias concomitantes.
- Estadio Clínico I, IV.

Las variables recolectadas fueron las siguientes:

Variables	Clasificación	Definición conceptual	Definición operativa	Valores
TNM al diagnóstico	Cualitativa ordinal	TNM estipulado por la AJCC (American Joint Committee on Cancer, séptima edición)	Imágenes radiológicas Biopsia	Estadio Clínico II, III

Histología	Cualitativa ordinaria	Clasificación de Lauren	Biopsia	1. Tipo intestinal 2. Tipo difuso
Grado histológico	Cualitativa ordinaria	Parámetros de la Sociedad Americana de Patólogos.	Biopsia	1. Bien diferenciado 2. Moderadamente diferenciado 3. Pobrementemente diferenciado
Topografía	Cualitativa nominal	Parámetros de la Sociedad Americana de Patólogos.  Anatomía	Biopsia  Imágenes radiológicas  Gastroscopía	Cardias  Antro  Cuerpo
Supervivencia libre de enfermedad	Cuantitativa continua	Tiempo transcurrido durante y después del tratamiento en el que la enfermedad no crece ni se disemina	Tiempo medio en días o meses que tardó la enfermedad en progresar	1. Meses 2. Años
Edad en años	Cualitativa	Número de años cumplidos	Edad al momento del diagnóstico	Edad en años
Fecha al diagnóstico	Cualitativa ordinal	Fecha calendario	Fecha en que se reporta biopsia	Día, años, mes

Inestabilidad de microsatélites	Dependiente Cualitativa ordinal	Fallo en mecanismos de la reparación de la replicación del ADN	Ausencia de proteínas MMR valoradas por IHQ	MLH1 (1) hMSH2 (2) hMHS6 (3) hPMS2 (4)
------------------------------------	---------------------------------------	--	---	---

Tabla 3.1 Variables

### 3.2 Definiciones de supervivencia

Para efectos de la investigación, se definió la supervivencia libre de enfermedad (SLE) como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta la recurrencia o progresión de la enfermedad, o bien que el paciente falleciera o traspasara la fecha de censura de la investigación. Se aceptó como progresión, que estuviera documentada por biopsia, imágenes o clínica por criterios RECIST.

### 3.3 Análisis de estadístico

Para el análisis de datos se estimó las frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y la determinación de la media para las variables cuantitativas con la estimación del rango como medida de dispersión.

Las variables cualitativas analizadas fueron sexo, diagnóstico patológico, grado de diferenciación tumoral, localización anatómica, tipo histológico, compromiso ganglionar, estadio patológico, estadio clínico y expresión de mutaciones. De las variables cuantitativas analizadas fueron edad al diagnóstico, ganglios totales resecados y ganglios con compromiso tumoral.

Posteriormente, se estimó la sobrevida libre de progresión (SLP) para la cohorte general de pacientes y posteriormente la SLP según expresión de mutación de MSI, comparando las



curvas de supervivencia por medio de la prueba de Log-Rank. En la última etapa del análisis se aplicó la determinación del Hazard Ratio (HR) entre las diversas exposiciones para evaluar la asociación con la SLP. Para el modelo, las variables cualitativas fueron ingresadas en el modelo como variables indicadoras. Todos los análisis fueron desarrollados por medio de Stata 15.1 (Stata Corp, 2019 Texas, USA) y se definió como un punto crítico de 0.05 como estadísticamente significativo.

## Capítulo 4

### Resultados

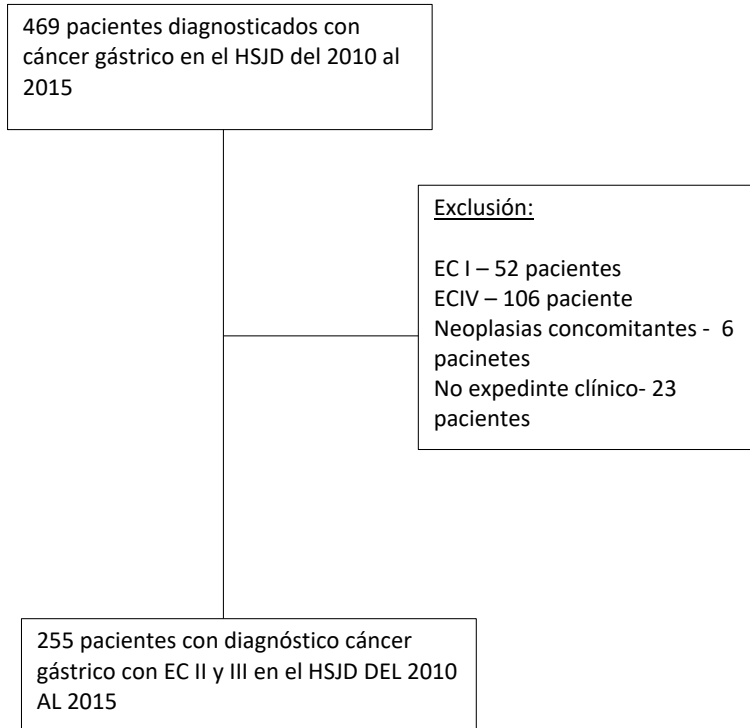


Figura 5. Flujograma de selección de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en el HSJD del año 2010 al 2015.

Se seleccionó un total de 469 casos de GC, diagnosticados en el Hospital San Juan de Dios, de los cuales 255 casos (54.4%) cumplieron con los criterios de inclusión para el estudio. La distribución de casos según sexo evidenció que el sexo masculino fue el más frecuente en el 60.4% (154/255). La edad media al momento del diagnóstico evidenció ser de 67.5 (rango: 18.0-95.0) años, específicamente 68.3 (rango: 27.0-94.0) años para el sexo masculino y de 66.3 (rango: 18.0-95.0) años en el sexo femenino.

Cuadro 1: Determinación de características generales de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Característica	Casos	Media	Rango
----------------	-------	-------	-------

Sexo (%)	Masculino	154		(60.4)
	Femenino	101		(39.6)
Edad al diagnóstico - años- Media (Rango)	Masculino	151	68.3	(27.0-94.0)
	Femenino	100	66.3	(18.0-95.0)
	Total	251	67.5	(18.0-95.0)

La distribución de casos según el diagnóstico patológico evidenció que el adenocarcinoma fue el más frecuentemente documentado en el 94.9% (242/255) de los casos seguido del adenocarcinoma tubular en el 3.9% (10/255) y en menor porcentaje el adenocarcinoma mucinoso. Cuadro 2

Cuadro 2: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según diagnóstico patológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Diagnóstico patológico	N	%
Adenocarcinoma	242	94.9
Adenocarcinoma tubular	10	3.9
Adenocarcinoma mucinoso	2	0.8
Carcinoma	1	0.4

Con respecto al grado de diferenciación de los casos estudiados se evidenció que la mayor frecuencia fue moderadamente diferenciada, la cual estuvo presente en el 37.6% (96/255) de los pacientes, en un 33.0% (84/255) presentó un grado de diferenciación como pobremente diferenciado y un 27.8% (71/255) fue clasificado como bien diferenciado, tal como se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según grado de diferenciación. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Grado de diferenciación	N	%
-------------------------	---	---

Moderadamente diferenciado	96	37.6
Pobrementemente diferenciado	84	33.0
Bien diferenciado	71	27.8
Indiferenciado	1	0.4
Desconocido	1	1.6

La distribución de los casos según el diagnóstico patológico con el grado de diferenciación evidenció que para el adenocarcinoma el 37.2% (90/242) fue moderadamente diferenciado y un 28.5% (69/242) se clasificó como bien diferenciado. Para el adenocarcinoma mucinoso de los dos casos estudiados, uno fue pobrementemente diferenciado y otro no contó con determinación documentada y para los casos de adenocarcinoma tubular el 60.0% (6/10) fueron clasificados como moderadamente diferenciados, tal como se observa en el Cuadro 4.

Cuadro 4: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III, según diagnóstico patológico y grado de diferenciación. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015.

Diagnóstico patológico	Adenocarcinoma (n=242)		Adenocarcinoma mucinoso (n=2)		Adenocarcinoma tubular (n=10)		Carcinoma (n=1)		Total (n=255)	
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Bien diferenciado	69	28.5	0	0.0	2	20.0	0	0.0	71	27.8
Indiferenciado	1	0.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.4
Moderadamente diferenciado	90	37.2	0	0.0	6	60.0	0	0.0	96	37.6
Moderadamente	1	0.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.4

pobrememente diferenciado										
Pobrememente diferenciado	79	32.6	1	50.0	2	20.0	0	0.0	82	32.2
Desconocido	2	0.8	1	50.0	0	0.0	1	100.0	1	1.6

Al evaluar la localización anatómica se evidenció que los dos sitios más frecuentes fueron el antro en el 45.9% (114/255), seguido del cuerpo gástrico en el 36.5% (93/255). El compromiso menos frecuente de otras localizaciones fueron el cardias en el 13.7% (35/255) y el píloro en el 1.6% (4/255) de los casos, tal como se aprecia en el Cuadro 5.

Cuadro 5: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según localización anatómica. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Localización Anatómica	N	%
Antro	117	45.9
Cuerpo	93	36.5
Cardias	35	13.7
Píloro	4	1.6
Desconocido	6	2.4

Con respecto a la distribución de pacientes según tipo histológico se evidenció que el 46.0% (125/255) presentó un adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal, un 28.6% (81/255) tipo difuso), tal como se aprecia en el Cuadro 6.

Cuadro 6: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según tipo histológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Tipo histológico	n	%
Intestinal	125	49.0
Difuso	81	31.7

Desconocido	49	19.2
-------------	----	------

En relación con los ganglios resecaados, se documentó resección en el 48.6% (124/255) de los casos con una media de 23.5 (rango: 0.0-100.0) ganglios resecaados, de los cuales evidenciaron una media de positividad por invasión de 4.2 (rango: 0.0-28.0) ganglios. La clasificación según el compromiso ganglionar evidenció ser N0 la condición más frecuente que se presentó en el 31.8% (81/255), el N1 en el 29.4% (75/255) y el N2 en el 19.6% (50/255), tal como se aprecia en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según compromiso ganglionar. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Compromiso ganglionar	n	%
N0	81	31.8
N1	75	29.4
N2	50	19.6
N3	49	19.2

La distribución de casos según estadio patológico evidenció que el T3 fue el más frecuente documentado en el 52.2% (133/255) de los casos, en menor porcentaje el T4 en el 26.3% (67/255) y seguido del estadio T2 en el 19.2% (49/255) de los pacientes, como se aprecia en el Cuadro 8.

Cuadro 8: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según estadio patológico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Estadio patológico	n	%
T1	6	2.4
T2	49	19.2
T3	133	52.2
T4	67	26.3

La evaluación de la distribución según estadio clínico evidenció que el estadio más frecuente fue el IIA que estuvo presente en el 37.7% (96/255), seguido del estadio IIB en el 24.3% (62/255) y los estadios III A y IIIB presentes en 14.9% (38/255) y 14.1% (36/255), respectivamente, como se observa en Cuadro 9.

Cuadro 9: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en estadio clínico II y III según estadio clínico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Estadio Clínico	N	%
IIA	96	37.7
IIB	62	24.3
IIIA	38	14.9
IIIB	36	14.1
IIIC	23	9.0

La determinación de la expresión de mutaciones evidenció que el 9.2% (23/255) de los pacientes presentaron expresión del MSI, de los cuales la totalidad presentó MLH1 y ninguno presentó las mutaciones específicas estudiadas de PMS2, MLH2, MSH6, según Cuadro 10.

Cuadro 10: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según expresión de mutaciones. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015

Expresión de mutaciones	N	%
MSI	23	9.2
<i>MLH1</i>	23	100.0
<i>PMS2</i>	0	0.0
<i>MLH2</i>	0	0.0
<i>MSH6</i>	0	0.0

### Caracterización de pacientes con MSI

La distribución de los 23 casos con presencia de MSI según sexo, evidenció que el sexo femenino fue el más frecuente en el 60.9%(14/23). La edad media al momento del diagnóstico evidenció ser de 70.2 (rango: 55.0-89.0) años y que fue de 69.0 (rango: 61.0-83.0) años para el sexo masculino y de 70.9(rango: 55.0-89.0) años en el sexo femenino.

Cuadro 11: Determinación de características generales de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III con MSI.

Característica		Casos	Media	Rango
Sexo (%)	Masculino	9		(39.1)
	Femenino	14		(60.9)
Edad al diagnóstico - años- Media (Rango)	Masculino	9	69.0	(61.0-83.0)
	Femenino	14	70.9	(55.0-89.0)
	Total	23	70.2	(55.0-89.0)

La distribución de casos según el diagnóstico patológico evidenció que el adenocarcinoma se presentó en la totalidad de los casos.

Con respecto al grado de diferenciación de los casos estudiados se evidenció que la mayor frecuencia fue moderadamente diferenciado que estuvo presente en el 52.2%(12/23) de los pacientes, seguido de bien diferenciado en el 52.5%(8/23) y en un 13.0%(3/23) con un grado de diferenciación de pobremente diferenciado. Cuadro 12

Cuadro 12: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según grado de diferenciación con MSI.

Grado de diferenciación	N	%
-------------------------	---	---



Moderadamente diferenciado	12	52.2
Pobrememente diferenciado	3	13.0
Bien diferenciado	8	52.2
Indiferenciado	0	0.0

Al evaluar la localización anatómica se evidenció que los dos sitios más frecuentes fueron el antro y el cuerpo que se documentaron en el 43.5%(10/23) y seguido del cardias en el 8.6%(2/23) de los casos. Cuadro 13

Cuadro 13: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según localización anatómica con MSI

Localización Anatómica	N	%
Antro	10	43.5
Cuerpo	10	43.5
Cardias	2	8.6
Píloro	0	0.0
Desconocido	1	4.4

Con respecto a la distribución de pacientes según tipo histológico se evidenció que el 87.0%(20/23) presentó un adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal y un 8.7%(2/23) de tipo difuso. Cuadro 14

Cuadro 14 Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según tipo histológico con MSI

Tipo histológico	n	%
Intestinal	20	87.0
Difuso	2	8.7
Desconocido	1	4.4

En relación con los ganglios resecaos se evidenció se documentó resección en el 52.2%(12/23) de los casos, y que presentaron una media de 27.5 (rango: 8.0-63.0) ganglios resecaos de los cuales la media de positividad por invasión fue de 1.1(rango:0.0-10.0) ganglios. La clasificación según el compromiso ganglionar evidenció ser N0 la condición más frecuente que se presentó en el 52.2%(12/23), el N1 en el 34.8%(8/23) y el N2 en el 8.7%(2/23). Cuadro 15

Cuadro 15: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según compromiso ganglionar con MSI

Compromiso ganglionar	n	%
N0	12	52.2
N1	8	34.8
N2	2	8.7
N3	1	4.3

La distribución de casos según estadio patológico evidenció que el T3 fue el más frecuente documentado en el 60.9%(14/23) de los casos, en menor porcentaje el T2 en el 26.1%(6/23) y seguido del estadio T4 en el 8.8%(2/23) de los pacientes. Cuadro 16

Cuadro 16: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según estadio patológico con MSI

Estadio patológico	n	%
T1	1	4.4
T2	6	26.1
T3	14	60.9
T4	2	8.8

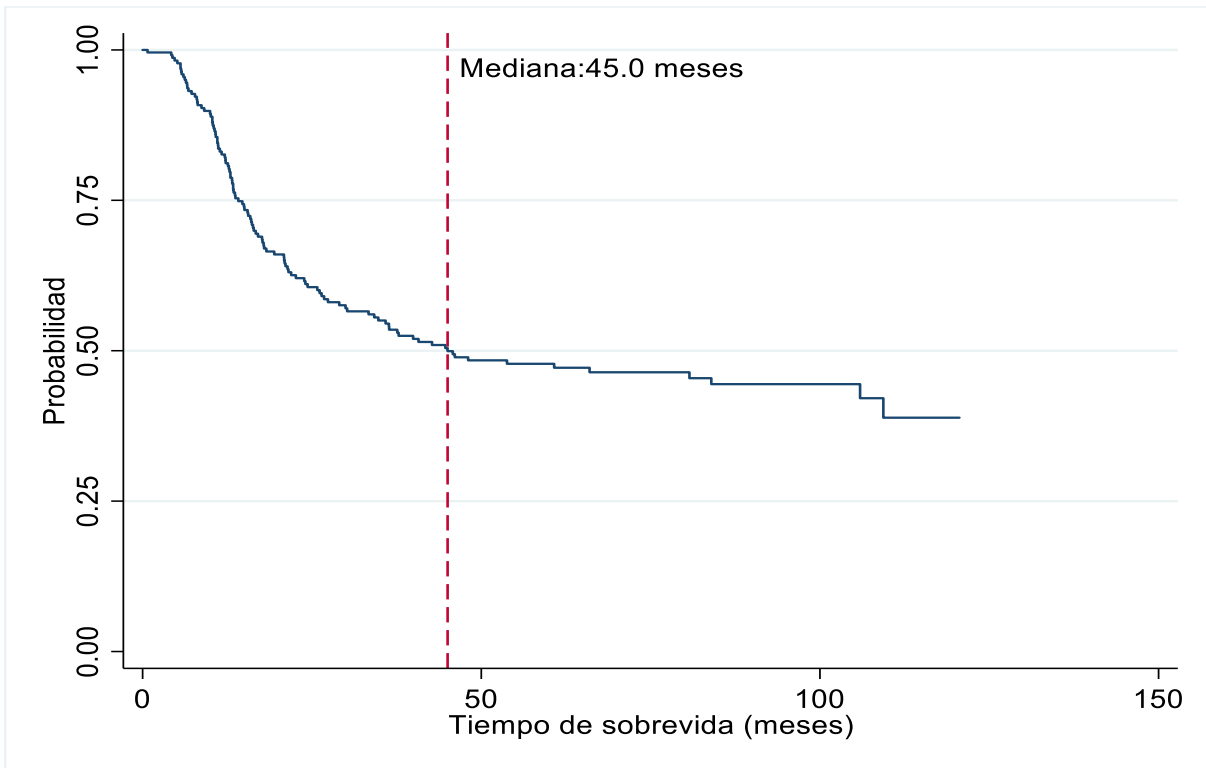
La evaluación de la distribución según estadio clínico evidenció que el estadio más frecuente fue el IIA que estuvo presente en el 69.6%(16/23), seguido del estadio IIB en el 21.7%(5/23) y los estadios III A y IIIB con un paciente cada uno. Cuadro 17

Cuadro 17: Distribución de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según estadio clínico con MSI

Estadio Clínico	N	%
IIA	16	69.6
IIB	5	21.7
IIIA	1	4.3
IIIB	1	4.3
IIIC	0	0.0

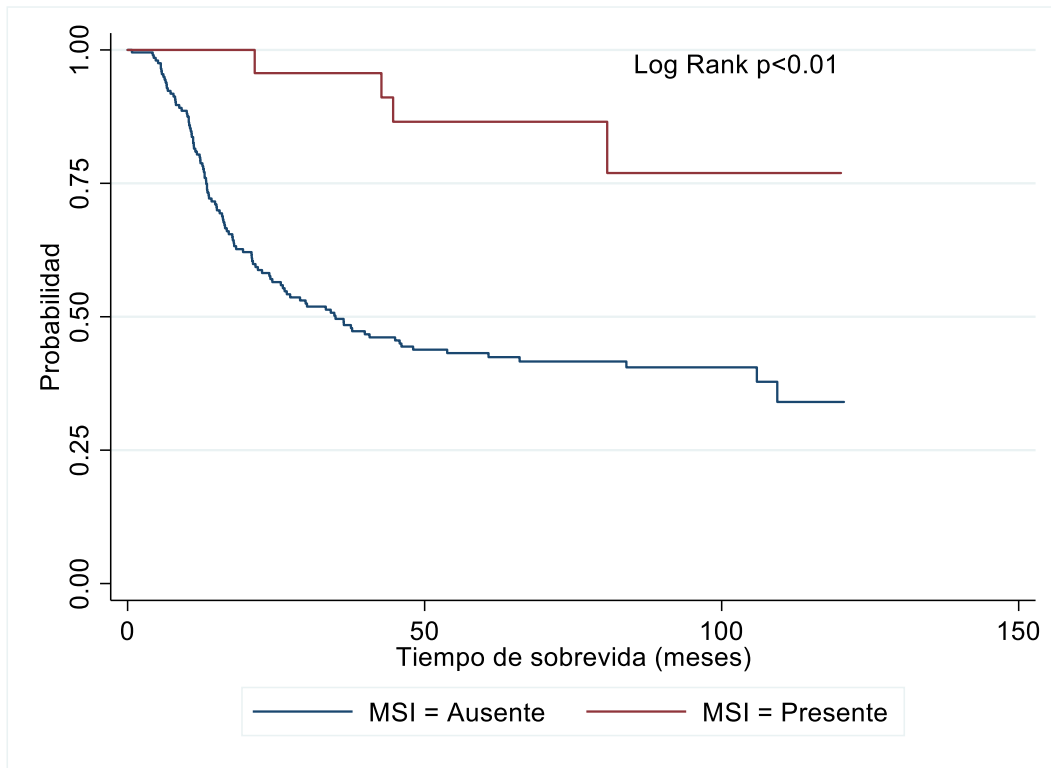
La determinación de la sobrevida libre de progresión para toda la población, evidenció una mediana de 45 meses con una SLP a los 25 meses de 60.0%(IC95%:53.0-66.3), a los 75 meses de seguimiento de 46.4%(IC95%:39.3-53.1) y de a los 100 meses de seguimiento de 44.4%(IC95%37.1-51.4) posterior al diagnóstico. Figura6

Figura 6: Determinación de Kaplan-Meier para sobrevida libre de progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015



La determinación de la sobrevida libre de progresión según la presencia de MSI se evidenció que la media de para el grupo con MSI ausente fue 36.7 (rango:0.07-137.6) meses y una mediana de 17.9 meses y para el grupo con MSI presente fue de 73.2 (rango:21.4-120.1) meses con una mediana de 65.8 meses. La comparación de las curvas de sobrevida evidenció contar con diferencias significativas entre la expresión o no del MSI. Figura 7

Figura 7: Determinación de Kaplan-Meier para sobrevida libre de progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico según presencia de MSI. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015



Al evaluar las variables asociadas a la sobrevida libre de progresión se evidenció que demostraron asociación significativa el compromiso ganglionar N1 (HR:2.4 IC95% 1.2-4.9), N2 (HR:3.6, IC95%1.8-7.2) y N3 (HR:5.0 IC95% 2.6-9.7) en relación a la categoría sin compromiso ganglionar (N0). Además evidenció asociación significativa influyendo sobre la progresión el estadio patológico T4 (HR:8.6 IC95%1.1-65.3) en relación al estadio patológico T1 como referencia. También demostró asociación significativa en la progresión la presencia de un cáncer de estómago de tipo histológico difuso (HR:6.1 IC95%1.8-20.1) en relación al tipo histológico intestinal. La presencia de mutación MLH1 ausente evidenció esta asociada significativamente influyendo en la prevención de la progresión (HR:0.3 IC95%0.1-0.9) en relación con la presencia de la misma. Cuadro 18

Cuadro 18: Determinación de factores asociados a la progresión en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III según expresión de mutaciones. Hospital San Juan de Dios, 2010-2015. Modelo univariado.

Variable	Categoría	Casos	HR	IC95%	Valor p
----------	-----------	-------	----	-------	---------

Genero	Femenino	101	1.0		
	Masculino	154	1.0	0.6-1.5	0.89
Grupo de	Menor a 50	35	1.0		
Edad (años)	De 50 a 59	34	1.1	0.5-2.5	0.74
	Mayor o igual a 60	186	1.3	0.7-2.6	0.40
N	N0	81	1.0		
	N1	75	2.4	1.2-4.9	0.01
	N2	50	3.6	1.8-7.2	<0.01
	N3	49	5.0	2.6-9.7	<0.01
Localización	Píloro	4	1.0		
	Cardias	35	0.3	0.0-2.5	0.26
	Cuerpo	93	0.2	0.0-1.5	0.11
	Antro	117	0.2	0.2-1.3	0.08
Estadio patológico	T1	6	1.0		
	T2	49	2.6	0.3-20.6	0.35
	T3	133	4.0	0.5-29.8	0.18
	T4	67	8.6	1.1-65.3	0.04
Tipo histológico	Intestinal	125	1.0		
	Difuso	81	7.4	0.9-2.3	0.15
Expresión	MLH1 (silenciamiento)	23	0.3	0.1-0.94	0.04

Cuadro 19. Comparación de características clínico-patológicas pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III con presencia y no de MSI.

Variable	Categoría	Sin MSI	Con MSI
Genero	Femenino	87	14
	Masculino	145	9
Edad media (años)	Masculino	68.3	69
	Femenino	66.3	70.9

Localización	Píloro	4	0
	Cardias	33	2
	Cuerpo	83	10
	Antro	107	10
Tipo histológico	Intestinal	105	20
	Difuso	71	2
T	T1	5	1
	T2	43	6
	T3	119	14
	T4	65	2
N	N0	69	12
	N1	67	8
	N2	48	2
	N3	48	1
Estadio clínico	IIA	77	16
	IIB	54	5
	IIIA	31	1
	IIIB	34	1
	IIIC	36	0

## Capítulo 5

### DISCUSIÓN

De la población analizada diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III encontramos de 255 pacientes, un 9.2% presento MSI, con características clínico-patológicas como el sexo femenino, edad avanzada, tipo histológico intestinal, localización predominante en antro, con menos infiltración nodal, alcanzando una mejor supervivencia libre de progresión.

Son muchos los estudios que han investigado la implicación de la inestabilidad en microsatélites en el desarrollo de los carcinomas gástricos. El porcentaje de tumores de estómago que presentan inestabilidad en microsatélites es de un 5 a un 30% (69-71).

En la población de pacientes según el estudio, afectados de cáncer de estómago se encontró que un 9.2% de ellos presentaban tumores desarrollados por esta vía carcinogénica y, por tanto, se mantenía la concordancia con los datos encontrados en la literatura respecto al porcentaje de tumores atribuibles a este tipo de alteraciones. En todos estos estudios, se observa además que los tumores gástricos con inestabilidad en microsatélites presentan una serie de características clínico-patológicas concretas, lo que contribuye a considerarlos como un grupo independiente de tumores de estómago.

Una vez clasificada la población analizada con cáncer gástrico con inestabilidad en microsatélites, se elaboró un estudio comparativo de los grupos en relación con las variables clínico-patológicas disponibles. En el estudio de TCGA (81) de las 295 muestras analizadas un 22% presentaron MSI, la mayoría con silenciamiento de MLH1, sexo femenino con una edad media de 72 años, localización en el cuerpo y píloro, subtipo intestinal.

Se encontraron diferencias próximas a la significación estadística en según el tipo histológico de los tumores, y su localización. De los 23 tumores con MSI de los que se disponía de esta información, 22 (96%) fueron histológicamente clasificados como tipo



intestinal, frente a 1 (4%) que presentó una histología de tipo difuso. Respecto a la localización anatómica del tumor, el 100% de los tumores gástricos desarrollados por la vida del fenotipo mutador mostraron tener una localización distal o media.

Respecto al estudio en donde se relacionó la inestabilidad en microsatélites con las distintas características de los tumores de estómago analizados, los resultados obtenidos en esta tesis concuerdan con los descritos en la literatura, puesto que los tumores gástricos con MSI mostraron un perfil clínico-patológico específico, caracterizado por variables representativas de tumores menos agresivos. Los pacientes con este tipo de tumores presentaron un menor grado de invasión ganglionar y ausencia de metástasis en el momento de la intervención quirúrgica. Además, los pacientes estaban afectados por cánceres clasificados en estadios tempranos de la enfermedad. Estos cánceres se desarrollaron mayoritariamente en una localización distal del estómago y con preferencia por el tipo histológico intestinal de la clasificación de Lauren.

Previamente, se había descrito, en una población de 159 pacientes afectados de cáncer gástrico, que los tumores con inestabilidad en microsatélites se correspondían mayoritariamente con un tipo histológico intestinal y mostraban localización distal. Además, los pacientes afectados con este tipo de tumores presentaban mayor tiempo de supervivencia media en el estudio pronóstico a 15 años (70). Otro estudio efectuado en Italia en 250 pacientes afectados de cáncer de estómago, mostró que los 63 pacientes con tumores MSI-H presentaban asociaciones significativas con un menor grado de infiltración local, menor grado de invasión ganglionar y ausencia de metástasis; así como con una localización distal del tumor y un fenotipo histológico intestinal. La tasa de supervivencia, en este caso, también fue favorable en un estudio pronóstico a cinco años (71).

Otros trabajos ponen de manifiesto una asociación entre la presencia de inestabilidad en microsatélites y el sexo o la edad de los pacientes, y esta es más frecuente en mujeres y personas con edades más avanzadas. En el caso en estudio, esta asociación sí fue significativa (72,73).

El estudio pronóstico reveló que la presencia de MSI era una característica favorable para los pacientes. Aquellos que presentaron este tipo de tumores mostraron una tasa mayor de tiempo libre de enfermedad.

El pronóstico clínico diferente que presentan los pacientes afectados de tumores desarrollados por la vía del fenotipo mutador ha sido ampliamente estudiado, habiendo sido descrito que la inestabilidad en microsatélites representa un factor protector en el cáncer gástrico (74,75). Un estudio de pronóstico realizado en 169 casos de pacientes con adenocarcinoma gástrico, reveló que los tumores MSI-H confieren un tiempo de supervivencia dos veces superior que los tumores MSI-L o MSS; estos últimos, además, presentaban mayor tendencia a desarrollar metástasis durante el periodo de seguimiento (76). Otro trabajo posterior en pacientes que fueron sometidos a cirugía de intención curativa, mostró que los pacientes con tumores MSI-H presentaban una mejor tasa de supervivencia tras cinco años de seguimiento y mayor intervalo libre de enfermedad, si se considera los tres años siguientes a la cirugía (75).

En el caso del cáncer colorrectal, los pacientes afectados de tumores con inestabilidad en microsatélites también presentan mayores tasas de supervivencia global, así como de intervalo libre de recidiva, por lo que muchos estudios consideran la presencia de este tipo de alteraciones como un factor pronóstico favorable en cáncer de colon (77,78). Sin embargo, para el cáncer de endometrio, la influencia de la inestabilidad en microsatélites en el pronóstico de los pacientes no está tan clara. Una revisión de los últimos estudios de pronóstico efectuados en este tipo tumoral, revela que los resultados obtenidos son contradictorios, pues, aunque algunos estudios asocian la presencia de inestabilidad en microsatélites con un mejor pronóstico de los pacientes, los resultados entre ellos son muy heterogéneos; mientras que otros asocian la presencia de este tipo de alteraciones con una tasa de supervivencia desfavorable, aunque no de forma significativa (79).

El hecho de que los resultados del presente estudio concuerden con estudios anteriores, ayuda a sustentar la utilidad de la detección de inestabilidad en microsatélites como herramienta para la clasificación de los carcinomas gástricos, con un claro significado

pronóstico. Además contribuye a considerar la población abordada como representativa, para validar los estudios moleculares posteriores. Por lo tanto, los carcinomas gástricos desarrollados por la vida del fenotipo mutador constituyen un subgrupo de tumores con un pronóstico clínico favorable para los pacientes.

## Conclusiones

1. Los tumores gástricos con inestabilidad de microsatélites tiene una mayor supervivencia libre de progresión que los que no la presentan.
2. La inestabilidad de microsatélites es un factor pronóstico de cáncer gástrico.
3. El cáncer gástrico con inestabilidad de microsatélites se asocia más al sexo femenino y con edad avanzada.
4. El cáncer gástrico con inestabilidad microsatélites se relacionan, de forma significativa, con un menor grado de invasión ganglionar.
5. El cáncer gástrico de tipo histológico intestinal están más frecuentemente expresados con inestabilidad de microsatélites.
6. La presencia de inestabilidad de microsatélites se relaciona significativamente con el estadio tumoral en cáncer gástrico, y son los tumores de estadios II los más representados.

## Recomendaciones

La inestabilidad de microsatélite puede considerarse como parámetro molecular con utilidad clínica en la evaluación del pronóstico de pacientes con cáncer gástrico por lo cual se recomienda utilizar en todos los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico ya que se relaciona con mejor supervivencia libre de progresión.

## Bibliografía

1. Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 doi: 10.3322/caac.21492
2. Jackson, A. et al. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR). Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Stomach Cancer 2016. Revised 2018. London: World Cancer Research Fund International; 2018 doi: 10.1002/ijc.30722
3. Corrales, D. et al. Plan Nacional para la Prevención y Control del Cáncer 2011-2017. Primera Edición. San José, Costa Rica. Ministerio de Salud de Costa Rica. 2012. Recuperado de: [https://www.ministeriodesalud.go.cr/gestores\\_en\\_salud/consejo\\_nacional\\_cancer/DM\\_plan\\_nacional\\_para\\_la\\_preencion\\_y\\_control\\_del\\_cancer.pdf](https://www.ministeriodesalud.go.cr/gestores_en_salud/consejo_nacional_cancer/DM_plan_nacional_para_la_preencion_y_control_del_cancer.pdf)
4. Mukaisho, K. et al. Two distinct etiologies of gastric cardia adenocarcinoma: interactions among pH, *Helicobacter pylori*, and bile acids. *Front Microbiol* 2015; 6: 412 doi: 10.3389/fmicb.2015.00412
5. Boffetta, P. et al. (1994). Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon, France: International Agency For Research On Cancer; 2013. 61, 1-241. Recuperado de : *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 61*
6. Correa, P. et Houghton, J. (2007). Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 133, 659-672 doi: 10.1053/j.gastro.2007.06.026
7. Shiota, S., Suzuki, R., y Yamaoka, Y. (2013). The significance of virulence factors in *Helicobacter pylori*. *Journal Of Digestive Diseases* 14, 341-9 doi: 10.1111/1751-2980.12054.
8. Parsonnet, J., Vandersteen, D., Goates, J., Sibley, R.K., Pritikin, J., y Chang, Y. (1991). *Helicobacter pylori* infection in intestinal and diffuse type gastric adenocarcinomas. *Journal Of The National Cancer Institute* 83, 640-3 doi: 10.1056/NEJM1991101173251603

9. Burke, A.P., Yen, T.S., Shekitka, K.M., et Sobin, L.H. (1990). Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. *Modern Patholog : An Official Journal Of The United States And Canadian Academy Of Pathology, Inc* 3, 377-80.
10. Iizasa, H. et al. (2012). Epstein-Barr Virus (EBV) associated gastric carcinoma. *Viruses* 4, 3420-39. Doi: 10.3390/v4123420
11. Blair, V. et al. (2006). Hereditary Diffuse Gastric Cancer: Diagnosis and Management. *Clinical Gastroenterology And Hepatology* 4, 262-275 doi: 10.1016/j.cgh.2005.12.003
12. Yaghoobi, M., Bijarchi, R., et Narod, S.A. (2010). Family history and the risk of gastric cancer. *British Journal Of Cancer* 102, 237-42.
13. Borrmann, R. (1927). *Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie* (Berlin: Springer - Verlag) doi: 10.1038/sj.bjc.6605380
14. Nakamura, K., Sugano, H., y Takagi, K. (1968). Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. *Gann = Gan* 59, 251-8. Recuperado de: [https://pdfs.semanticscholar.org/13f8/c281af3f1b9a50063823c425fc53f6d5b068.pdf?\\_ga=2.90803354.1809981234.1579393715-717576692.1579393715](https://pdfs.semanticscholar.org/13f8/c281af3f1b9a50063823c425fc53f6d5b068.pdf?_ga=2.90803354.1809981234.1579393715-717576692.1579393715)
15. Mulligan, R. (1972). Histogenesis and biologic behavior of gastric carcinoma. *Pathology Annual* 7, 349-415 doi: **10.1111/j.1365-2559.1983.tb02282.x**
16. Ming, S. (1977). Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer* 39, 2475-85 doi: 10.1002/1097-0142(197706)39:6<2475::aid-cncr2820390626>3.0.co;2-l
17. Japanese Gastric Cancer Association Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer*. 2011;14:101–112 doi: 10.1007/s10120-011-0041-5.
18. Lauren, P. (1965). The two histological main types of gastric carcinoma: difusse and so called intestinal type carcinoma. An attempt at a histoclinical

- classification. *Acta Pathologica Et Microbiologica Scan- dinavica* 64, 31-49 doi: 10.1111/apm.1965.64.1.31
19. Hamilton, SR. et al . WHO (1999). Pathology and genetics of tumours of the digestive system (Lyon:IARC Press). Recuperado de: **WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Fourth Edition**
  20. Grabsch, H.I., y Tan, P. (2013). Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms. *Digestive Surgery* 30, 150-8 doi: 10.1159/000350876.
  21. Vauhkonen, M., Vauhkonen, H., et Sipponen, P. (2006). Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 20, 651- 674 doi: 10.1016/j.bpg.2006.03.016
  22. McColl, K.E. (2006). Cancer of the gastric cardia. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology* 20, 687-96 doi: 10.1016/j.bpg.2006.03.005
  23. Tajima, Y. et al. (2007). Differences in the histological findings, phenotypic marker expressions and genetic alterations between adenocarcinoma of the gastric cardia and distal stomach. *British Journal Of Cancer* 96, 631-638 doi: 10.1038/sj.bjc.6603583
  24. El-Rifai, W. et al. (2001). Genetic differences between adenocarcinomas arising in Barrett's esophagus and gastric mucosa. *Gastroenterology* 121, 592-598 doi: 10.1053/gast.2001.27215
  25. Washington, K. (2010). 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Stomach. *Annals Of Surgical Oncology* 17, 3077- 3079 doi: 10.1245/s10434-010-1362-z
  26. Correa, P. et al. (1975). A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 2, 58-60 doi: 10.1016/s0140-6736(75)90498-5
  27. Hartgrink, H.H. et al. (2009). Gastric cancer. *The Lancet* 374, 477-490 doi:10.5772/54617
  28. Tahara, E. (2004). Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Scientific Publications* 327-49. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/8646529\\_Tahara\\_EGenetic\\_pathways\\_of\\_two\\_types\\_of\\_gastric\\_cancer\\_IARC\\_Sci\\_Publ\\_157\\_327-349](https://www.researchgate.net/publication/8646529_Tahara_EGenetic_pathways_of_two_types_of_gastric_cancer_IARC_Sci_Publ_157_327-349).



29. Stock M., y Otto, F. (2005). Gene deregulation in gastric cancer. *Gene* 360, 1-19  
doi: 10.1016/j.gene.2005.06.026
30. Grabsch, H. et Tan, P. (2013). Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms. *Digestive Surgery* 30, 150-8 doi: 10.1159/000350876.
31. Oda, T. et al. (1994). E-cadherin gene mutations in human gastric carcinoma cell lines. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 91, 1858-62. doi: 10.1073/pnas.91.5.1858
32. César, A. et al. (2006). Genetic alterations in benign lesions: chronic gastritis and gastric ulcer. *World Journal Of Gastroenterology : WJG* 12, 625-9. doi: 10.3748/wjg.v12.i4.625
33. Hiyama, T. et al. (2004). Chromosomal and microsatellite instability in sporadic gastric cancer. *Journal Of Gastroenterology And Hepatology* 19, 756- 760. doi: 10.1111/j.1440-1746.2004.03369.x
34. Choi, S.W. et al. (1998). Fractional allelic loss in gastric carcinoma correlates with growth patterns. *Oncogene* 17, 2655-9. doi: 10.1038/sj.onc.1202188
35. Tamura, G. (2006). Alterations of tumor suppressor and tumor related genes in the development and progression of gastric cancer. *World Journal Of Gastroenterology: WJG* 12, 192-8. doi: 10.3748/wjg.v12.i2.192
36. Zheng, L., Wang, L., Ajani, J., et Xie, K. (2004). Molecular basis of gastric cancer development and progression. *Gastric Cancer : Official Journal Of The International Gastric Cancer Association And The Japanese Gastric Cancer Association* 7, 61-77. doi: 10.1007/s10120-004-0277-4
37. Thibodeau, S.N., Bren, G., y Schaid, D. (1993). Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science (New York, N.Y.)* 260, 816-9 doi: 10.1126/science.8484122
38. Simpson, A.J., Caballero, O.L., y Pena, S.D. (2001). Microsatellite instability as a tool for the classification of gastric cancer. *Trends In Molecular Medicine* 7, 76-80  
doi: 10.3748/wjg.v22.i8.2460

39. Martin, A., y Scharff, M.D. (2002). AID and mismatch repair in antibody diversification. *Nature Reviews. Immunology* 2, 605-14 doi: 10.1038/nri858
40. Bacani, J. et al. (2005). Tumor microsatellite instability in early onset gastric cancer. *The Journal Of Molecular Diagnostics : JMD* 7, 465-77. doi: 10.1016/S1525-1578(10)60577-6
41. Yashiro, M., Hirakawa, K., y Boland, C.R. (2010). Mutations in TGFbeta-RII and BAX mediate tumor progression in the later stages of colorectal cancer with microsatellite instability. *BMC Cancer* 10, 303. doi:10.1186/1471-2407-10-303
42. D'Errico, M. et al. (2009). Genome wide expression profile of sporadic gastric cancers with microsatellite instability. *European Journal Of Cancer* 45, 461-469 doi 10.1016/j.ejca.2008.10.032
43. Duval, A., y Hamelin, R. (2002). Genetic instability in human mismatch repair deficient cancers. *Annales De Génétique* 45, 1- 5 doi: 10.1016/s0003-3995(02)01115-2
44. Baylin, S. (2005). DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nature Clinical Practice. Oncology* 2 *Suppl* 1, S4-11 doi: 10.1038/ncponc0354
45. Lee, J. et al. (2004). Frequent CpG island methylation in precursor lesions and early gastric adenocarcinomas. *Oncogene* 23, 4646-54 doi: 10.1038/sj.onc.1207588
46. An, C. et al. (2005). Prognostic significance of CpG island methylator phenotype and microsatellite instability in gastric carcinoma. *Clinical Cancer Research : An Official Journal Of The American Association For Cancer Research* 11, 656-63. Recuperado de: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/11/2/656.full-text.pdf>.
47. Ottini L, et al. Patterns of genomic instability in gastric cancer: clinical implications and perspectives. *Ann Oncol.* 2006;17(Suppl 7):97–102. doi: 10.1093/annonc/mdl960.
48. Murphy, K. et al. Comparison of the microsatellite instability analysis system and the Bethesda panel for the determination of microsatellite instability in colorectal cancers. *J Mol Diagn.* 2006;8:305–311. doi: 10.2353/jmoldx.2006.050092

49. Funkhouser, W. et al. Relevance, pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair-defective colorectal carcinomas: a report of the association for molecular pathology. *J Mol Diagn.* 2012;14:91–103. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.11.001.
50. Rigau, V. et al. Microsatellite instability in colorectal carcinoma. The comparison of immunohistochemistry and molecular biology suggests a role for hMSH6 [correction of hMLH6] immunostaining. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:694–700. doi 10.1043/1543-2165(2003)127<694:MIICC>2.0.CO;2
51. Lin, J. et al. Microsatellite instability in gastric carcinoma with special references to histopathology and cancer stages. *Eur J Cancer.* 1995;31A:1879–1882. doi: 10.1016/0959-8049(95)00349-N.
52. Pietrantonio, C. et al. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer. *J Clin Oncol* 37, 2019. doi.org/10.1200/JCO.19.01124
53. Kohlruss, M. et al. Prognostic implication of gastric carcinoma molecular subtypes. *J Pathol Clin Res* 2019. doi: 10.1002/cjp2.137.
54. Renault, B. et al. Microsatellite instability and mutations of p53 and TGF-B RII genes in gastric cancer. *Hum Genet* (1996);98:601-607. doi: 10.1007/s004390050267
55. Sugimoto, R. et al. Clinicopathological and molecular alterations in early gastric cancers with the microsatellite instability-high phenotype. *Int. J. Cancer*: 138, 1689–1697 (2016) doi: 10.1002/ijc.29916
56. Pereira, M. et al. Clinicopathological and prognostic features of Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. *J surg Oncol.* 2018; 1-11. doi: 10.1002/jso.25022
57. Beghelli, S. et al. Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers. *Surgery* 2006;139:347-56. doi: 10.1016/j.surg.2005.08.021
58. Young, S. et al. The benefit of microsatellite instability is attenuated by chemotherapy in stage II and stage III gastric cancer: Results from a large cohort

- with subgroup analyses. *Int. J. Cancer*: 137, 819–825 (2015) . doi:  
10.1002/ijc.29449
59. Mathiak, M. et al. Clinicopathologic Characteristics of Microsatellite Instable Gastric Carcinomas Revisited: Urgent Need for Standardization. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*; 2015. doi: 10.1097/PAI.0000000000000264
  60. Young, Y. et al. Clinical impact of microsatellite instability in patients with stage II and III gastric cancer: Results from the CLASSIC trial. *Journal of Clinical Oncology* 35, no. 15\_suppl (May 20 2017) 4022-4022. doi:  
10.1200/JCO.2017.35.15\_suppl.4022
  61. Yashiro, M. et al. Allelic imbalance at p53 and microsatellite instability are predictive markers for resistance to chemotherapy in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2009;16:2926–2935. doi: 10.1245/s10434-009-0590-6
  62. Smyth, E. et al. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival in the MAGIC Trial. *JAMA Oncol*. 2017, E1-E7. doi:10.1001/jamaoncol.2016.6762
  63. Polom, K. et al. Microsatellite instability in gastric cancer. *BJS Society Ltd*, 2017. doi:  
10.1002/bjs.10663
  64. Choi, E. et al. Microsatellite Instability and PD-1. *Ann Surg*. 2019 Aug;270(2):309-316. doi: 10.1097/SLA.0000000000002803.
  65. Hashimoto, T. et al. MLH1 and PD-L1 expression in resectable gastric cancer. *The International Gastric Cancer Association and The Japanese Gastric Cancer Association 2019*. doi.org/10.1007/s10120-018-00918-4.
  66. Zhao, Z. et al. Efficacy of 5-FU–Based Adjuvant Chemotherapy in Gastric Cancer Using MSI. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 38(1):21–28 (2019). doi: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2018026876.
  67. Kohlruss, M. et al. Prognostic implication of gastric carcinoma molecular subtypes. *J Pathol Clin Res* 2019. Doi: 10.1002/cjp2.137.
  68. Pietrantonio, C. et al. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer. *J Clin Oncol* 37, 2019. Doi.org/10.1200/JCO.19.01124

69. Halling, K. et al. (1999). Origin of microsatellite instability in gastric cancer. *The American Journal Of Pathology* 155, 205- 11. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65114-0
70. Falchetti, M. et al. (2008). Gastric cancer with high-level microsatellite instability: target gene mutations, clinicopathologic features, and long- term survival. *Human Pathology* 39, 925- 932. doi: 10.1016/j.humpath.2007.10.024
71. Corso, G. et al. (2009). Correlation of microsatellite instability at multiple loci with long-term survival in advanced gastric carcinoma. *Archives Of Surgery* 144, 722-7. doi: 10.1001/archsurg.2009.42.
72. Lee, H.et al. (2002). Distinct clinical features and outcomes of gastric cancers with microsatellite instability. *Modern Pathology: An Official Journal Of The United States And Canadian Academy Of Pathology* 15, 632-40. doi: 10.1038/modpathol.3880578
73. Park, H. et al. (2013). Is microsatellite instability (MSI) associated with multiplicity in early stage gastric neoplasias?. *Clinics And Research In Hepatology And Gastroenterology* 37, 4005. doi: 10.1016/j.clinre.2012.10.010
74. Kim, S. et al. (2010). Microsatellite instability is associated with the clinicopathologic features of gastric cancer in sporadic gastric cancer patients. *Journal Of Gastric Cancer* 10, 149. doi: 10.5230/jgc.2010.10.4.149
75. Fang, W. et al. (2012). Microsatellite instability is associated with a better prognosis for gastric cancer patients after curative surgery. *World Journal Of Surgery* 36, 2131-2138. doi: 10.1007/s00268-012-1652-7.
76. Schneider, B. et al. (2000). Microsatellite instability, prognosis and metastasis in gastric cancers from a low-risk population. *International Journal Of Cancer* 89, 444-452. doi: 10.1002/1097-0215(20000920)89:5<444::aid-ijc8>3.0.co;2-f
77. Hong, S. et al. (2012). The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *European Journal Of Cancer* 48, 1235-1243. doi: 10.1016/j.ejca.2011.10.005
78. Lin, C. et al. (2012). Clinicopathologic features and prognostic analysis of MSI-high colon cancer. *International Journal Of Colorectal Disease* 27, 277-286. doi: 10.1007/s00384-011-1341-2

79. Diaz-Padilla, I. et al. (2013). Mismatch repair status and clinical outcome in endometrial cancer: A systematic review and meta- analysis. *Critical Reviews In Oncology/Hematology* 88, 154-167 doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.03.002
80. Bass, A. et al. The Cancer Genome Atlas Research Network (2014) Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 513:202–209 doi:10.1038/nature13480

Anexo

Instrumento de recolección de datos sobre la Correlación Clínico – patológica de la presencia de inestabilidad de microsátélites en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico estadio clínico II y III en el Hospital San Juan de Dios desde el año 2010 hasta el 2015

Código\_\_\_\_\_

Edad diagnóstico\_\_\_\_\_

Fecha diagnóstico\_ \_\_\_\_\_

Sexo 1. Femenino. 2. Masculino

T\_\_\_\_ N\_\_\_\_ M\_\_\_\_\_

Estadio Clínico II ( ) III ( )

Grado diferenciación I Bien ( ) II Moderado ( ) III Pobre ( )

Zona anatómica más frecuente 1. Antro ( ) 2.cuerpo ( ) 3.cardias ( ) 4. ( ) píloro

Tipo histológico 1. ( ) Intestinal 2. ( ) Difuso

Fecha de recaída ( )

MSI 1. No ( ) 2. Sí ( )

Subtipo MSI positivo 1.MLH1 ( ) 2.MSH2 ( ) 3. MSH6 ( ) 4.PMS2 ( )