

# Adenocarcinoma gástrico difuso positivo por HER-2 en inmunohistoquímica e hibridación fluorescente *in situ*

Andrés Quesada Z.<sup>1</sup>, Luis Alonso Álvarez Z.<sup>1</sup> y Fernando Mena U.<sup>2</sup>

## HER-2-positive diffuse gastric adenocarcinoma through immunohistochemistry and fluorescent *in situ* hybridization

HER-2 is a biomarker participating in tumor cell's biology that has been thoroughly studied in breast cancer, but it can also be overexpressed in other neoplasms like gastric cancer. In this setting there are more reported cases about HER-2 positive immunohistochemistry in intestinal subtype than in diffuse subtype; in those cases, staining is limited to basolateral membrane. Positivity may be verified through fluorescent *in situ* hybridization. This case is about a 30-year-old man diagnosed with diffuse gastric carcinoma from a total gastrectomy surgical specimen, in which 3+ HER-2 immunohistochemistry is confirmed in the totality of the plasma membrane of mucosa cells and is sustained using fluorescent *in situ* hybridization for HER-2.

**Key words:** Fluorescent *in situ* hybridization, proto-oncogene protein HER-2, immunohistochemistry, gastric cancer.

<sup>1</sup>Universidad de Costa Rica.  
<sup>2</sup>Servicio de patología del Hospital Maximiliano Peralta de Cartago, Costa Rica.

Conflicto de intereses: Los autores niegan algún conflicto de intereses.

Recibido: 08 de agosto de 2014  
Aceptado: 14 de octubre de 2014

**Correspondencia a:**  
Dr. Andrés Quesada Zumbado.  
Servicio de Patología, Hospital Maximiliano Peralta.  
200 m sur del Parque Central, Cartago, Costa Rica.  
Teléfono: [+506] 25501969  
quesadaandrespatoologia@gmail.com

## Introducción

El cáncer gástrico se define como cualquier cáncer que inicie en cualquier lugar entre la unión gastroesofágica y el píloro<sup>1</sup>. Para el 2012, a nivel mundial, las neoplasias malignas gástricas eran el quinto cáncer más común y representaba 9% del total de muertes por cáncer<sup>2</sup>. En Costa Rica, las estadísticas del mismo año lo posicionan en quinto lugar de incidencia y en el primer lugar para mortalidad en números absolutos<sup>3</sup>.

El 95% de las malignidades gástricas sólidas son adenocarcinomas, y éstos se subdividen de acuerdo con la Clasificación de Lauren en los subtipos intestinal, difuso o mixto<sup>1</sup>. La piedra angular de su tratamiento es la cirugía; la quimioterapia es otra opción cuando el tumor es irresecable. A pesar de todo, la supervivencia permanece baja<sup>4</sup>.

Un mejor entendimiento de las bases moleculares del cáncer ha contribuido al desarrollo de terapias con un blanco molecular. Hay evidencia en aumento de que HER-2 es un biomarcador importante en tumores gástricos y de la unión gastroesofágica: los análisis del estado de HER-2 por inmunohistoquímica (IHQ) y técnicas de hibridación *in situ* sugieren una sobreexpresión de éste en un porcentaje de tumores gástricos<sup>5</sup>, traduciendo en sensibilidad para el tratamiento con trastuzumab<sup>4</sup>.

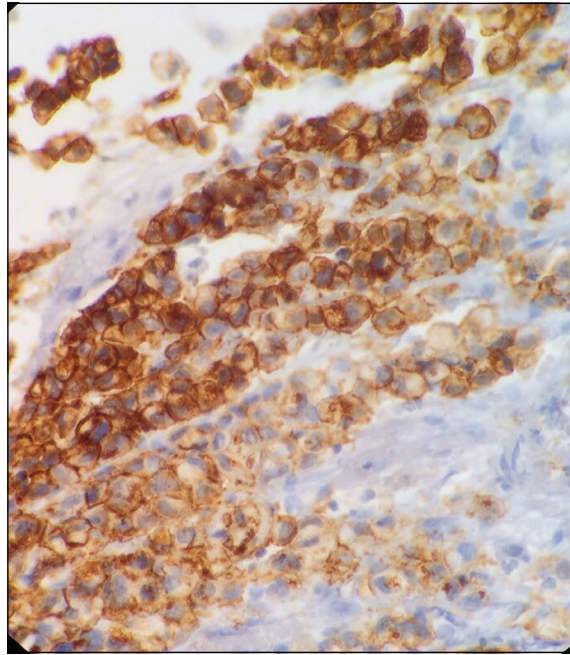
## Caso clínico

El caso corresponde a un paciente masculino de 30 años al que se le realizó el diagnóstico de carcinoma gástrico difuso de tipo células en anillo de sello (grupo V: SIG, de la clasificación japonesa) a través de una biopsia a cinco muestras de tejido tomadas por endoscopia, a la cual no se le realizan pruebas por HER-2.

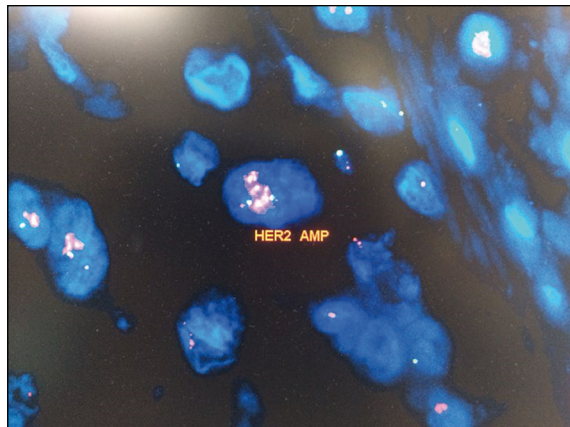
El espécimen quirúrgico correspondió a una gastrectomía total en la que se observó un carcinoma avanzado de tipo 3 de Borrmann. Histológicamente la neoplasia estaba conformada por un carcinoma difuso con predominio de células en anillo de sello, el cual se catalogó como un pT4a (invasión a la serosa), N2, con nueve de quince ganglios linfáticos positivos por metástasis (6 de 6 en el nivel ganglionar 3; 1 de 2 en el nivel ganglionar 4d; 1 de 3 en el nivel ganglionar 7; 1 de 1 en el nivel ganglionar 11p). Los márgenes de resección estaban libres de carcinoma.

Se realizó inmunohistoquímica para HER-2 a dos de los niveles del tumor (Figura 1), en los que se observó positividad 3+ en las células neoplásicas con morfología en anillo de sello. Al contrario de lo reportado para la tinción de HER-2 en mucosa gástrica (la cual es basal y basolateral) estas células presentaban inmunotinción en toda su membrana celular. El

## Caso Clínico



**Figura 1.** Inmuno-histoquímica para HER-2 en corte histológico de adenocarcinoma gástrico difuso. Nótese la positividad en toda la membrana celular de la tinción en las células en anillo de sello.



**Figura 2.** Hibridación fluorescente *in situ* para HER-2 en corte histológico de adenocarcinoma gástrico difuso. Abreviaturas: HER2 AMP, HER2 amplificado.

porcentaje del tumor positivo para HER-2 fue de 40% de la masa tumoral.

Se confirmó mediante FISH para HER-2 (Figura 2) el hallazgo observado por inmunohistoquímica, utilizando una sonda para cromosoma 17; gen HER-2 (17q11,2) y centrómero (D17Z1) detectando una amplificación de HER-2 en 50 núcleos analizados (razón centrómero-gen HER-2 de 8,3).

### Discusión

HER-2/neu es un proto-oncogen codificado por *ERBB2* en el cromosoma 17. Es miembro de la familia

de receptores del factor de crecimiento epidérmico, que consiste de cuatro receptores plasmáticos tipo tirosinkinasa unidos a la membrana celular<sup>6,7</sup>. Estos receptores existen como monómeros, pero para unión a ligandos requieren dimerizarse, ya sea formando homodímeros (mismo tipo de receptor) o heterodímeros (diferentes clases de receptores); esto brinda mayor estabilidad para la interacción ligando-receptor. Hasta el momento no se conoce ligando que induzca la homodimerización de HER-2, pero puede dimerizar con los demás receptores HER<sup>8</sup>.

La vía de señalización de la familia HER tiene múltiples canales e incluye a la vía Ras/Raf/MAPK/ciclina-D1, la vía PI3K/AKT y transductores de señales y activadores de transcripción, que están involucrados en proliferación celular y diferenciación<sup>9</sup>. Está involucrada en varios aspectos de la biología celular tumoral: proliferación celular, apoptosis, adhesión, migración y diferenciación<sup>7</sup>.

Las combinaciones sin HER-2 presentan señales relativamente débiles, esenciales para el crecimiento celular normal que no conducen al crecimiento de tumores. Además, cuando HER-2 se expresa normalmente, los ligandos que se unen a los receptores HER forman sólo unos cuantos heterodímeros de HER-2, y las respuestas a estos factores de crecimiento son relativamente débiles, lo que se traduce en un crecimiento normal de las células. La combinación HER-2/HER3 es la más mitogénica, y HER-3 es el compañero de HER-2 predominante en células cancerígenas. Cuando se sobreexpresa HER-2 en estas células, varios ligandos originados principalmente en el estroma o en las propias células tumorales reclutan a HER-2 para formar heterodímeros. Los heterodímeros permanecen más tiempo en la superficie celular y su señal aumenta. Esto se traduce en una potente señalización de estroma a epitelio, respuesta aumentada a factores de crecimiento y finalmente, crecimiento maligno<sup>8</sup>.

La sobreexpresión o amplificación de HER-2/neu ha sido estudiada en carcinoma de mama, pero también se ha reportado en otros tumores sólidos como en cánceres de ovario, endometrio, glándulas salivales, pulmones, esófago y estómago<sup>7</sup>.

En cuanto a la obtención de la muestra, se aceptan especímenes quirúrgicos y muestras de biopsia. En el caso de las biopsias, se recomienda tomar un número suficiente de muestras viables (idealmente entre seis y ocho) destinadas a pruebas por HER-2 para demostrar una probable heterogeneidad tumoral. En caso de tomar menos muestras, a todas se les debe hacer prueba por HER-2<sup>5</sup>.

La sobreexpresión de HER-2 puede ser determinado por inmunohistoquímica (IHQ) utilizando un anticuerpo monoclonal o a través de la detección del gen HER-2 a través de hibridación fluorescente *in situ* (FISH)<sup>10</sup>, aunque algunos estudios utilizan la

hibridación cromogénica *in situ* (CISH) como equiparable respecto al FISH<sup>7,11</sup>. La IHQ parece mostrar más tumores HER-2 positivos verdaderos que el FISH, por lo que este último se reserva para reclasificación<sup>10</sup>.

En cuanto a la asociación de la sobreexpresión y amplificación de HER-2 con los hallazgos clínico-patológicos, la mayor parte de los estudios previos reportan una mayor sobreexpresión y amplificación en el cáncer intestinal que en el difuso<sup>12</sup>. Otros estudios respaldan esta afirmación<sup>11-17</sup>. A causa de diferencias en los métodos de examinación y los criterios objetivos, la frecuencia de cáncer gástrico positivo por HER-2 varía considerablemente entre estudios<sup>6</sup>.

Los carcinomas HER-2 positivos en mama y en estómago presentan características distintas entre sí. Una de ellas es la heterogeneidad tumoral, que es mayor en el cáncer gástrico. Además, es más común que la IHQ tiña de manera incompleta la membrana basolateral en este tipo de cáncer, por una mayor frecuencia de formaciones glandulares en el tejido gástrico<sup>1</sup>.

Por causa de estas diferencias biológicas, se desarrolló un conjunto distinto de criterios de puntaje para IHQ para el cáncer gástrico<sup>13</sup>. Este sistema puntúa entre 0 y +3 de acuerdo con la presencia de más de 10% de tinción de células tumorales y la intensidad de la tinción<sup>14</sup>.

Un estudio en México con 269 casos de adenocarcinoma gástrico, a los cuales se les realizó FISH y CISH si su IHQ era positiva sin importar su valor, no encontró amplificación de HER-2 en ningún caso con cáncer difuso puro, y recomienda que el tamizaje por HER-2 sólo se debe realizar en los fenotipos de cáncer gástrico intestinal y mixto<sup>15</sup>. No hay otros reportes disponibles sobre prevalencia de HER-2 en pacientes con cáncer gástrico en México o Latinoamérica<sup>15</sup>.

Un estudio realizado en China con 227 pacientes cuyas biopsias fueron sometidas a IHQ y FISH, no halla sobreexpresión o amplificación de HER-2 en ningún cáncer gástrico difuso<sup>12</sup>.

Otro estudio chino con 60 biopsias gástricas encuentra un caso de carcinoma difuso positivo por HER-2, al cual no se le realizó FISH<sup>16</sup>. Un estudio del mismo país con 1.036 pacientes reporta ocho casos de positividad por HER-2 en carcinoma gástrico difuso, sin embargo, no se establece cuántos corresponden a positividad por FISH<sup>17</sup>. Otro estudio realizado en China con 197 casos, en que se realiza FISH sin importar el valor de la IHQ, fusiona los subtipos mixto y difuso y no señala cuántos casos de cada subtipo presentaron positividad ante FISH<sup>14</sup>.

A la fecha no está claro por qué está tan cercanamente asociado con el cáncer intestinal, pero se

han reportado un gran número de diferencias moleculares en la histología del cáncer. La mutación o el silenciamiento epigenético de gen de la E-cadherina parece ser un evento carcinogénico clave en el cáncer gástrico difuso, pero es raro en el tipo intestinal<sup>10</sup>. Asimismo, el cáncer intestinal generalmente está bien diferenciado, pero el cáncer difuso está pobremente diferenciado<sup>12</sup>.

Finalmente, a diferencia del mal pronóstico que asocia un resultado positivo por HER-2 en cáncer de mama, el valor pronóstico en cáncer gástrico es un tema controversial. El papel de la sobreexpresión en la supervivencia del cáncer gástrico permanece sin claridad; se puede decir que tiene poco impacto en el pronóstico<sup>6,10</sup>.

La importancia de la investigación respecto a la presencia de HER-2 en el cáncer gástrico reside en los tratamientos. Actualmente, el estudio más importante es el uso concomitante de trastuzumab (un anticuerpo monoclonal cuyo blanco es HER-2), con quimioterapia, planteado en el estudio *Trastuzumab for Gastric Cancer* (ToGA)<sup>13</sup>. El tratamiento ya fue aprobado por la *Food and Drugs Administration* (FDA) y la *European Medicine Agency* (EMA) para pacientes con adenocarcinoma de estómago o de la unión gastroesofágica positivos para HER-2 que no hayan recibido terapia previa contra enfermedad metastásica. Se están estudiando otras alternativas para los casos con cáncer gástrico positivos por HER-2<sup>10</sup>.

## Resumen

HER-2 es un biomarcador que colabora con la biología de la célula tumoral y ha sido ampliamente estudiado en cáncer de mama, pero también puede sobreexpresarse en otras neoplasias como el cáncer gástrico. En este escenario se reportan más casos de inmunohistoquímica positiva por HER-2 en el subtipo intestinal con respecto al subtipo difuso; en dichos casos, la tinción se limita a la membrana basolateral. Los casos positivos pueden ser verificados a través de hibridación fluorescente *in situ*. Se presenta el caso de un sujeto masculino de 30 años con diagnóstico de carcinoma gástrico difuso a través de un espécimen quirúrgico de gastrectomía total, a la cual se le confirma mediante inmunohistoquímica 3+ para HER-2 en la totalidad de la membrana celular de las células de la mucosa y corroborado utilizando la técnica hibridación fluorescente *in situ* para HER-2.

**Palabras clave:** Hibridación fluorescente *in situ*, proteína de protooncogen HER-2, inmunohistoquímica, cáncer gástrico.

## Caso Clínico

### Referencias

- 1.- Gunturu KS, Woo Y, Beaubier N, Remotti HE, Saif MW. Gastric cancer and trastuzumab: first biologic therapy in gastric cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2013; 5: 143-51.
- 2.- Steward BW, Wild CP, editors. *World Cancer Report 2014*. Lyon, France: WHO Press; 2014.
- 3.- Ministerio de Salud de Costa Rica. *Memoria Institucional 2012*. San José, Costa Rica: El Ministerio; 2013.
- 4.- Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008; 19: 1523-9.
- 5.- Rüschoff J, Hanna W, Bilous M, Hofmann M, Osamura RY, Penault-Llorca F, et al. HER2 testing in gastric cancer: a practical approach. *Modern Pathology* 2012; 25: 637-50.
- 6.- Boku N. HER2-positive gastric cancer. *Gastric Cancer* 2014; 17: 1-12.
- 7.- Mrklic I, Bendic A, Kunac N, Bezic J, Forempoher G, Durdov MG, et al. HER-2/neu Assessment for gastric carcinoma: validation of scoring system. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 300-3.
- 8.- Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol* 2001; 12: S3-8.
- 9.- Ayyappan S, Prabhakar D, Sharma N. Epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted therapies in esophagogastric cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 4139-56.
- 10.- Pazo RA, Antón A. Advanced HER2-positive gastric cancer: Current and future targeted Therapies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2013; 85: 350-62.
- 11.- Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase II $\alpha$  gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273-8.
- 12.- Zhou F, Li N, Jiang W, Hua Z, Xia L, Wei Q. Prognosis significance of HER-2/neu overexpression/amplification in Chinese patients with curatively resected gastric cancer after the ToGA clinical trial. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 274.
- 13.- Bang Y, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy *versus* chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-97.
- 14.- He C, Bian X, Ni X, Shen D, Shen Y, Liu H, et al. Correlation of human epidermal growth factor receptor 2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2171-8.
- 15.- Cruz-Reyes C, Gamboa-Domínguez A. HER2 amplification in gastric cancer is a rare event restricted to the intestinal phenotype. *Int J Surg Pathol* 2013; 21: 240-6.
- 16.- Movagharnjad K, Sharbatdaran M, Sheffae S, Kashifard M, Sedaghat S. HER-2/neu marker examination using immunohistochemical method in patients suffering from gastric adenocarcinoma. *Int J Mol Cell Med* 2013; 2: 199-203.
- 17.- Hsu J, Chen T, Tseng J, Chiu C, Liu K, Yeh C, et al. Impact of HER-2 overexpression/amplification on the prognosis of gastric cancer patients undergoing resection: a single-center study of 1,036 patients. *Oncologist* 2011; 16: 1706-13.