

Expresión de Her-2/neu en adenocarcinoma gástrico. Experiencia de 10 años (2001-2011) en la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 25, Centro Médico Nacional Noreste

Olga Esquivel Hernández,* Edmundo Erbey Castelan Maldonado,* María De La Paz Espinoza Benítez**

RESUMEN

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

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

Material y métodos: estudio observacional, analítico y retrospectivo en que se observó la expresión de Her-2/neu. Se estudiaron 65 gastrectomías totales con diagnóstico de adenocarcinoma; se seleccionaron bloques de parafina para tinciones con hematoxilina y eosina además de técnicas de inmunohistoquímica.

Resultados: la reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu resultó positiva solo en seis casos (9.23%) y negativa en 59 (90.76%). Cuatro (66.66%) se encontraron en cuerpo y antro. Se observó que la expresión de Her2/neu se relaciona con el grado de infiltración; en cuatro casos (66.66%) se observó infiltración a la serosa y en los dos restantes (33.33%) a muscular.

Conclusión: se encontró una baja prevalencia (9.23%) de la expresión de Her2/neu, las cifras se encuentran dentro de los parámetros internacionales.

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

ABSTRACT

Gastric cancer is the most common malignancy of the digestive tract worldwide. Adenocarcinoma accounts for 90% -95% of all malignancies of the stomach. There have been studies on the expression of Her-2/neu in cancer of the stomach. Several studies showed that overall survival and time of occurrence of relapses in patients with these neoplasms was lower in those who had higher levels of this oncogene, suggesting that Her-2/neu could be used as a prognostic factor. Increased expression of Her-2/neu and its accessibility make this receptor a suitable target for direct anti-tumor therapy.

Objectives: To assess the expression of Her2/neu in gastric adenocarcinomas.

Material and methods: observational, analytical and retrospective study in which we observe the expression of Her-2/neu, were studied in 65 total gastrectomy with a diagnosis of adenocarcinoma, were selected paraffin blocks, to which they were performed with hematoxylin staining and eosin and immunohistochemistry.

Results: The immunohistochemical reaction produced by the Her2/neu antibody was positive in only six cases (9.23%), and negative in 59 cases (90.76%). Four (66.66%) were found in body and antrum. It was observed that the expression of Her2/neu is related to the degree of infiltration in four cases (66.66%) was observed in the serous infiltration, and in the remaining two (33.33%) a muscle.

Conclusion: We found a low prevalence (9.23%) of the expression of Her2/neu, the figures are within international standards.

Key words: HER2/neu, gastric adenocarcinoma, immunohistochemistry.

* Anatomopatólogo del Departamento de Anatomía Patológica.

** Residente de tercer año de la especialidad de Anatomía Patológica.

Instituto Mexicano del Seguro Social. Unidad Médica de Alta Especialidad No. 25, Centro Médico Nacional Noreste. Avenida Linconl y Fidel Velázquez. Colonia Jardines de Mitras. Monterrey, Nuevo León, México.

Correspondencia: Dra. Olga Esquivel Hernández. Avenida Linconl y Fidel Velázquez. Colonia Jardines de Mitras. Monterrey, Nuevo León. México. Código postal 64320. Teléfono: 17718616. Correo electrónico: oesh10@gmail.com

Recibido: noviembre 2011. Aceptado: febrero 2012.

Este artículo debe citarse como: Esquivel Hernández O, Edmundo Erbey Castelan Maldonado E, Espinoza Benítez M. Expresión de Her-2/neu en adenocarcinoma gástrico. Experiencia de 10 años (2001-2011) en la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 25, Centro Médico Nacional Noreste. Patología Rev Latinoam 2012;50(2):80-86.

El adenocarcinoma gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo en todo el mundo.¹ Representa 90%-95% de todas las neoplasias del estómago; es la segunda en cuanto a frecuencia y la primera en lo que respecta a mortalidad. En México representa la cuarta causa de muerte por cáncer entre varones y la quinta entre mujeres.³ Salvo en Japón, el carcinoma del estómago en general se encuentra en una fase evolutiva avanzada en el momento del diagnóstico, con infiltración más allá de la submucosa e invasión de la pared gástrica.⁴ Podemos distinguir dos tipos clínicos^{5, 6, 7, 8} (clasificación de Lauren), con base en comportamiento, epidemiología y patogénesis distintos: tipo intestinal (Figura 1) y tipo difuso (Figuras 2 y 3).

Las bases moleculares del cáncer gástrico han comenzado a identificarse; datos publicados sugieren que el cromosoma 7 polisomía puede ser responsable de un mayor número de copias del gen EGFR en carcinomas gástricos y que la amplificación del gen HER2 puede ser la razón principal para la sobreexpresión de la proteína Her2/neu.⁹ Recientemente se han realizado estudios sobre la expresión de Her-2/neu en cáncer de estómago. Este gen, conocido también como neu o HER/2, fue aislado inicialmente de neuroblastomas inducidos en ratas por un agente químico; codifica una proteína con actividad de tirosina- cinasa.¹⁰ El oncogén c-erbB-2 es uno de los genes que codifican a estos receptores. Varios trabajos mostraron que la sobrevida total y el tiempo de aparición de las recidivas en pacientes portadores de estas neoplasias era menor en aquellos que tenían mayores niveles de este oncogén, sugiriendo que el c-erbB-2 podría ser utilizado

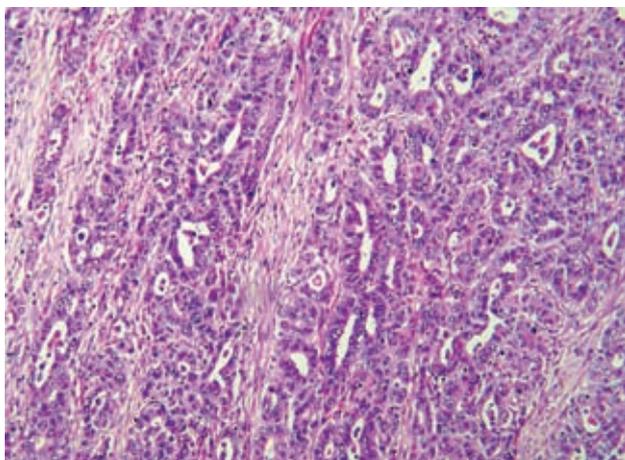


Figura 1. Adenocarcinoma de tipo intestinal.

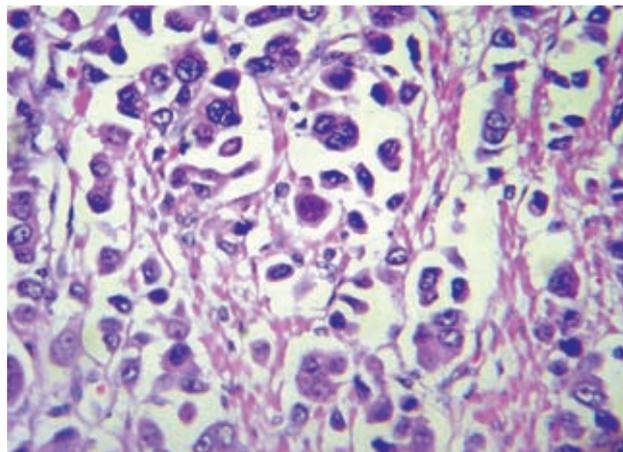


Figura 2. Adenocarcinoma de tipo difuso.

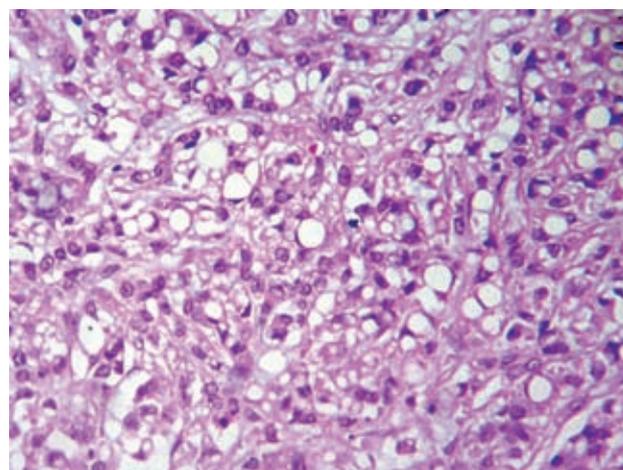


Figura 3. Adenocarcinoma de tipo difuso.

como factor pronóstico. La mayoría de los investigadores coincide en que la sobreexpresión está relacionada con una menor sobrevida y con una mayor diseminación del tumor.¹⁰ Se ha demostrado que la sobreexpresión de Her2/neu se correlaciona con la invasión tumoral y metástasis en los ganglios linfáticos, por lo que indica un mal pronóstico.^{11, 12, 13, 14} Además de los datos clínicos existentes se demostró que el gen c-erbB-2 produce un incremento del potencial metastásico de células *in vitro* y que estimula varios pasos en la cascada metastásica, incluyendo la adhesión a las células endoteliales, movilidad celular, actividad gelatinolítica y actividad invasiva.^{15, 16} Recientemente se ha demostrado que los pacientes más jóvenes muestran muy bajos niveles de amplificación de Her2/neu (<5%) y frecuencia de sobreexpresión. Es común que los tumores gástricos clasificados como de tipo intestinal sean

más probablemente positivos para Her2/neu (16-34%) que las variantes difusa (2-7%) o mixta (20.5%).¹⁷⁻¹⁹ La razón de la sobreexpresión de Her2/neu selectiva en cáncer gástrico de tipo intestinal es compleja y requiere de mayor investigación. La asociación de Her2/neu con un tipo específico sugiere que el cáncer gástrico intestinal y tipo difuso se desarrollan a lo largo de diferentes vías moleculares y apoya estudios anteriores que muestran distintos patrones de alteraciones genéticas en cánceres gástricos de diferentes características histopatológicas.²⁰

El objetivo del presente estudio es determinar la frecuencia de expresión de Her2/neu en adenocarcinoma gástrico según su localización anatómica, tipo histológico, grado de diferenciación e infiltración de la pared. La investigación se llevó a cabo en la UMAE No. 25, Centro Médico Nacional Noreste, en un periodo de 10 años (2001-2011).

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio. Estudio observacional, analítico y retrospectivo.

Lugar o sitio del estudio. Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad Médica de Alta especialidad No. 25, Centro Médico Nacional Noreste. Monterrey, Nuevo León, México.

Criterios de inclusión

- Muestras de neoplasia maligna epitelial (adenocarcinoma) incluidas en parafina.
- Producto de procedimiento quirúrgico de gastrectomía total, en el periodo de enero de 2001 a enero de 2011.
- Bloques de parafina con material representativo adecuadamente procesado.

Criterio de exclusión

- Toda neoplasia maligna que no sea referida como de estirpe epitelial (neoplasias de tipo linfoma, leiomiomasarcoma, tumores carcinoideos, GIST, liposarcoma, fibrosarcoma, mixosarcoma o sarcoma neurogénico).
- Neoplasias malignas epiteliales (adenocarcinoma) originadas en la unión esófago-gástrica.
- Gastrectomías parciales.
- Biopsias endoscópicas.
- Material enviado para revisión.
- Material con extensa necrosis o mal procesado.

Criterios de eliminación

- Casos diagnosticados que no contaran con bloques de parafina para su estudio.

- Diagnóstico de carcinoma gástrico incidental en protocolos de autopsias.

- Casos diagnosticados cuyo tejido embebido en parafina no fuera apto para su corte debido a la técnica histológica.

Tamaño de la muestra. Para los propósitos de este estudio no se realizó cálculo del tamaño de la muestra, ya que serán incluidos todos los casos reportados entre el periodo comprendido de enero de 2001 a enero de 2011.

Técnica de muestreo. No probabilístico de casos consecutivos dentro del periodo de estudio y que hayan cumplido con los criterios de inclusión.

Definición de variables. Véase el cuadro 1.

Análisis estadístico. Se utilizaron medidas descriptivas apropiadas, medias y proporciones, y sus intervalos de confianza con una confiabilidad de 95%.

Aspectos éticos. Dado que el material de estudio fue tomado del archivo del departamento de anatomía patológica, no se considero que el presente estudio tenga implicaciones éticas, sin embargo, los datos de los pacientes se mantendrán en confidencialidad.

Descripción general del estudio

Se incluyeron en el estudio todos los diagnósticos de carcinoma de estómago que se hayan realizado en gastrectomías totales en el periodo comprendido entre enero de 2001 a enero de 2011. Se recolectaron laminillas y bloques de cada uno de los casos, se revisaron laminillas de cada caso, para la selección adecuada del bloque de parafina más representativo, y se realizaron recortes a aquellos bloques de parafina cuyas laminillas no se encontraron en archivo. Así mismo, se verificó el diagnóstico previo realizando las correcciones pertinentes. Posteriormente se llevó a cabo el proceso de tinción de inmunohistoquímica con marcador Her2/neu en los bloques seleccionados. Se revisó cada uno de los casos por separado analizando la tinción y graduando la misma. Una vez obtenidos los datos finales se tabuló y evaluó para determinar la utilidad del marcador de acuerdo con las variables establecidas.

Selección del material

Las muestras fueron seleccionadas de bloques de parafina del archivo de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Noreste No. 25 (UMAE No. 25): 65 pacientes con adenocarcinoma gástrico sometidos a cirugía, por los departamentos de oncología quirúrgica y cirugía digestiva, durante el periodo de enero de 2001 a enero de 2011.

Cuadro 1. Definición de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medida	Escala de medición	Fuente
Edad	Tiempo de una persona transcurrido a partir del nacimiento	Años que presenta la persona al momento del estudio	<45 años >45 años	Cuantitativa	Reporte de patología
Sexo	División del género humano en dos grupos, masculino o femenino	Género del paciente en estudio	Hombre Mujer	Cuantitativa	Reporte de patología
Subtipo histológico	División del adenocarcinoma de acuerdo a la clasificación de Lauren en dos grupos, intestinal y difuso	Subtipo histológico del adenocarcinoma	Intestinal Difuso	Cuantitativa	Observación directa
Grado de diferenciación	División de la diferenciación celular a partir del tejido que le dio origen	Diferenciación celular	Bien diferenciado Moderadamente diferenciado Poco diferenciado	Cuantitativa	Observación directa
Infiltración de la pared	División de la extensión del adenocarcinoma por capas histológicas del estómago	Extensión de la pared del adenocarcinoma	Mucosa Submucosa Muscular Serosa	Cuantitativa	Observación directa
Localización	División del estómago por regiones anatómicas	Localización de la neoplasia	Cardias Fondo Cuerpo Antro Píloro	Cuantitativa	Reporte de patología
Expresión HER2/NEU por la técnica de inmunohistoquímica	División de la expresión de Her2/Neu en la membrana celular de las células neoplásicas en dos grupos, negativo y positivo	Expresión de membrana basolateral	Negativo Positivo	0, 1+ 2+, 3+	Nominal Observación directa

Técnica de inmunohistoquímica

Todas las muestras de tumor gástrico fueron fijadas en formol a 10% e incluidos en parafina de acuerdo con los procedimientos estándar, secciones de serie (4 micras de espesor) colocados en laminillas cargadas positivamente fueron utilizadas para la tinción de hematoxilina y eosina e inmunohistoquímica para la detección de Her2/neu.

Las muestras incluidas en parafina se desparafinaron y rehidrataron por inmersiones secuenciales en xilol (xilol I: 10 minutos y xilol II: 10 minutos), etanol (alcohol

100%: 5 minutos; alcohol 96%: 5 minutos; alcohol 80%: 5 minutos y alcohol 70%: 5 minutos) y agua destilada durante 5 minutos. La peroxidasa del tejido se inactiva tras la inmersión del tejido en alcohol 100%, con una solución de 0.5% de peróxido de hidrógeno en metanol absoluto por 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente los cortes se lavaron 3 veces en PBS por 5 minutos. Posteriormente se realizó desmascaramiento antigénico tras el cual los cortes se incubaron durante 20 minutos en suero. El paso siguiente consistió en la

colocación del anticuerpo primario para Her2/neu, con incubación durante una noche. Luego se incubó con una solución de anticuerpo secundario biotinilado por 30 minutos y posteriormente con una solución de avidina-peroxidasa también durante 30 minutos. Finalmente, para el revelado, se utilizó una solución con diaminobencidina (forma un precipitado oscuro por reacción con el agua oxigenada mediado por la peroxidasa) por 5 minutos y se contrastó con hematoxilina.

La interpretación de la determinación inmunohistoquímica de Her2/neu se evaluó exclusivamente en el componente infiltrante y en la tinción de membrana (Cuadro 2 y Figura 4).

RESULTADOS

Cuarenta y un pacientes (63.07%) eran mujeres y 24 (36.92%) eran hombres. La edad varió de 14 a 81 años con una media de 47.5 años.

La reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu resultó positiva sólo en seis casos (9.23%) y negativo en 59 casos (90.76%). Tres casos se consideraron 3+ (4.61%), otros tres 2+ (4.61%), 24 casos se consideraron 1+ (36.92%) y en 35 casos (53.84%) sólo hubo tinción citoplasmática (puntaje 0).

El subtipo histológico intestinal se encontró en 41 casos (63.07%) y el subtipo difuso en 40 casos (36.92%).

En cuanto al grado de diferenciación 44 casos (67.69%) fueron poco diferenciados, 18 (27.69%) moderadamente diferenciados y sólo 3 (4.61%) bien diferenciados.

En 51 casos (78.46%) la invasión tumoral se extendió hasta la serosa; en doce (18.46%) hasta muscular y en dos casos (3.07%) se encontró invasión a submucosa. No se reportaron casos sólo con invasión a mucosa.

Referente a la localización anatómica 28 casos (43.07%) se encontraron en cuerpo, 21 (32.30%) en antro,

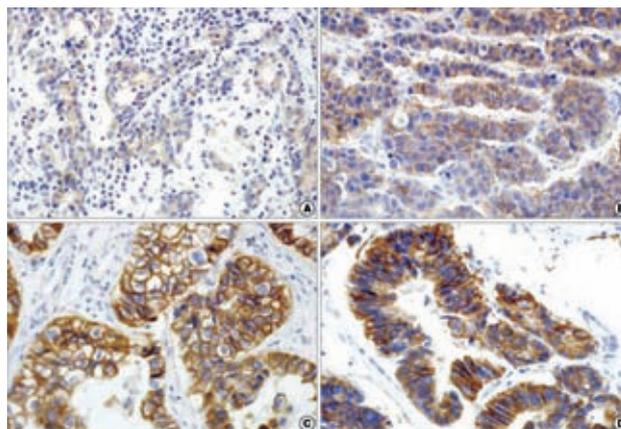


Figura 4. Her2/neu, el análisis inmunohistoquímico. (A) 1 +, débil (x100), 4 (B) 2 +, entre débiles y moderadas membranosa completa (x200), (C) 3 +, membranosa fuerte y completa (x400) y (D) 3 +, fuerte reactividad basalateral membranosa (x400).

nueve (13.84%) en fondo, cuatro (6.15%) en píloro y tres (4.61%) en cardias.

Las características clínicas y patológicas se muestran en el Cuadro 3.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se investigó la expresión inmunohistoquímica de Her2/neu en 65 pacientes con adenocarcinoma gástrico. Dichos pacientes formaron parte de la población de la Unidad Médica de Alta Especialidad No. 25, Centro Médico del Noreste, del Instituto Mexicano del Seguro Social (en Monterrey, Nuevo León). La sobreexpresión de este oncogén ha sido el tema de varios estudios en la última década. Hay una gran variabilidad de su expresión en todo el mundo, desde 8 hasta 26%. En el estudio ToGA se hizo mención de que alrededor del 15 al 18% de los carcinomas gástricos sobreexpresan la proteína Her2/neu.

Cuadro 2. Clasificación de los Her2/neu expresión determinada por la HercepTest (Dako) método inmunohistoquímico

Expresión	Valor de tinción	Patrón
0	Negativa	No se observa o la tinción de membrana es menos del 10% de las células tumorales.
1+	Negativa	Una tinción débil de membrana apenas perceptiva se detecta en más del 10% de las células tumorales. Las células se tiñen solamente en la membrana.
2+	Positiva	Positivo débil a moderada, la tinción completa de la membrana se observa en el 10% de las células tumorales.
3+	positiva	Una fuerte tinción completa de la membrana se observa en más del 10% de las células tumorales.

Adaptado de Dutra AP, et al. C-erbB-2 expresión y pleomorfismo nuclear en tumores mamarios.

Cuadro 3. Características clínicas y patológicas

Características	n	Porcentaje
Género femenino/masculino	41:24	63.07: 36.92
Localización anatómica del tumor		
Cardias	3	4.61
Fondo	9	13.84
Cuerpo	28	43.07
Antro	21	32.30
Píloro	4	6.15
Subtipo histológico		
Intestinal	25	38.46
Difuso	40	61.53
Grado de diferenciación		
Bien diferenciado	3	4.61
Moderadamente diferenciado	18	27.69
Poco diferenciado	44	67.69
Infiltración de la pared		
Mucosa	0	0
Submucosa	2	3.07
Muscular	12	18.46
Serosa	51	78.46
Expresión de Her2/neu por técnica de inmunohistoquímica		
Puntaje 0	35	53.84
Puntaje 1+	24	38.92
Puntaje 2+	3	4.61
Puntaje 3+	3	4.61

Los resultados más fiables son los derivados de métodos de detección de la proteína (RT-PCR, FISH, PCR cuantitativa) pero su costo no permite una disponibilidad amplia. En países en desarrollo, como el nuestro, el método más utilizado para la detección de la expresión del Her2/neu sigue siendo la inmunohistoquímica. En comparación con FISH o PCR cuantitativa la técnica de inmunohistoquímica es más fácil, menos costosa y puede llevarse a cabo en los laboratorios de patología de los centros médicos de tercer nivel de nuestro país (como es el caso de nuestro hospital).

La reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu resultó positiva en seis casos (9.23%) y negativa en 59 casos (90.76%).

De los seis casos con positividad para la reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu cuatro (66.66%) se encontraron en cuerpo y antro, uno (33.33%) en cardias y uno (33.33%) más en fondo gástrico.

No se encontró diferencia para la reacción de Her2/neu de acuerdo con el subtipo intestinal ya que de los seis casos positivos tres (50%) fueron intestinales y los tres restantes (50%) de tipo difuso.

Se observó que la expresión de Her2/neu se relaciona con el grado de infiltración; en cuatro casos (66.66%) se observó infiltración a la serosa y en los dos restantes (33.33%) a muscular.

Se encontró una baja prevalencia (9.23%) de la expresión de Her2/neu en estos 65 pacientes con cáncer gástrico de la UMAE No. 25; sin embargo, este porcentaje se encuentra dentro de los parámetros internacionales.

La relación de casos que mostraron expresión de Her2/neu se muestra en el Cuadro 4.

CONCLUSIONES

La reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu resultó positiva en seis casos (9.23%).

De los seis casos con positividad para la reacción inmunohistoquímica producida por el anticuerpo Her2/neu cuatro (66.66%) se encontraron en cuerpo y antro, uno (33.33%) en cardias y uno (33.33%) más en fondo gástrico.

No se encontró diferencia para la reacción de Her2/neu de acuerdo con el subtipo intestinal; de los seis casos

Cuadro 4. Relación de casos con expresión de Her2/neu

Características	Her2/neu + 6 casos N (%)	Her2/neu – 59 casos N (%)
Género		
Mujer	2 (33.33)	22 (37.28)
Hombre	4 (66.66)	37 (62.71)
Localización anatómica del tumor		
Cardias	1 (16.66)	2 (3.38)
Fondo	1 (16.66)	8 (13.55)
Cuerpo	3 (50.00)	25 (42.37)
Antro	1 (16.66)	20 (33.89)
Píloro	0 (0.00)	4 (6.77)
Subtipo histológico		
Intestinal	3 (50.00)	22 (37.28)
Difuso	3 (50.00)	37 (62.71)
Grado de diferenciación		
Bien diferenciado	0 (0.00)	3 (5.08)
Moderadamente diferenciado	3 (50.00)	15 (25.50)
Poco diferenciado	3 (50.00)	41 (69.49)
Infiltración de la pared		
Mucosa	0 (0.00)	0 (0.00)
Submucosa	0 (0.00)	2 (3.38)
Muscular	2 (33.33)	10 (16.94)
Serosa	4 (66.66)	47 (79.66)

positivos tres (50%) fueron intestinales y los tres restantes (50%) de tipo difuso.

Se observó que la expresión de Her2/neu se relaciona con el grado de infiltración: en cuatro casos (66.66%) se observó infiltración a la serosa y en los dos restantes (33.33%) a capa muscular externa.

Aunque se encontró una baja prevalencia (9.23%) de la expresión de Her2/neu en estos 65 pacientes las cifras se encuentran dentro de los parámetros internacionales. El mal pronóstico del cáncer gástrico con los tratamientos actuales disponibles, y la prometedora buena respuesta de ciertos tumores que expresan Her2/neu, deben fomentar la búsqueda de este oncogén en otras poblaciones con cáncer gástrico, así como la utilización de nuevas terapias para prolongar y mejorar la vida de los pacientes.

El periodo comprendido para la recolección de muestra en el presente estudio abarcó diez años (2001-2011); eso permitió una cifra considerable de casos. Ese número se hubiese incrementado si se hubieran tomado en cuenta las biopsias endoscópicas, lo que quizá hubiera redundado en una expresión aún mayor de la encontrada. Resultaría útil la realización de más estudios sobre la expresión de Her2/neu en biopsias gástricas endoscópicas y, en un futuro, realizar la correlación con una respuesta a la terapia específica (“terapia blanco”) para este tipo de neoplasias que expresan la proteína.

La realización de la prueba por medio de inmunohistoquímica ya se encuentra estandarizada y es de realización relativamente sencilla, además, su costo no es elevado. En un futuro esto podría significar un cambio importante en la terapia y por ende en el pronóstico de la enfermedad.

También deja abierta la posibilidad para estudios que complementen esta prueba como la realización de FISH para amplificar la expresión de la proteína en aquellos casos de positividad dudosa.

REFERENCIAS

1. Tierney L, McPhee SJ, Papadakis MA y col. Tumores malignos del estómago. Diagnóstico clínico y tratamiento. 35ª ed. p. 585-586.
2. Corral VB. Cáncer gástrico, estado actual. Cirujano General. 1999; 21.
3. Serrano A, Hernández MC, De la Garza Salazar J, Herrera L. *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico. Revista INCAN 2009;193-204.
4. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H. Tumores gástricos. Operaciones abdominales 10ª ed. p. 927-954.
5. Morales R, Méndez MJ, Aranda E. Cáncer de estómago. *Medicine* 2005;9(25):1613-1620.
6. Pisters PW, Kelsen DP, Powell SM, Tepper JE. Cancer of stomach. DeVita V, Hellman S, Rosenberg S. (eds.) Principles and Practice of Oncology. 7ª th ed. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins; 2005. p.909-944.
7. Gunderson LL, Donohue JH, Alberts SR. Cáncer gástrico. En: Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG (eds.) Oncología clínica. 3ª ed. Madrid: Editorial Elsevier; 2005;1819-1863.
8. Michelin SC, Mayo J. El oncogén c-erbB-2 (neu/Her-2) y su expresión en el cáncer de mama humano. *Revista Latinoamericana de Mastología*, 1997;2(3):181-190.
9. Liang Z, Zeng X, Jie G, y col. El análisis de EGFR, HER2, y el estado de Top2A genes y polisomía cromosómica en el adenocarcinoma gástrico de los pacientes chinos. *BMC cáncer* 2008;8:363.
10. Weinstat-Saslow D, Merino MJ, Manrow RE. et al. Overexpression of cyclin D mRNA distinguishes invasive and in situ breast carcinomas from non-malignant lesions. *Nature Medicine* 1995;1(12):1257-1260.
11. Polkowski W, Van Sandick JW, Offerhaus GA, et al. Prognostic value of Lauren classification and c-erbB-2 oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Annals of Surgical Oncology*, 1999;6(3):290-297.
12. Flejou JF, Paraf F, Muzeau F, et al. Expression of c-erbB-2 oncogene product in Barrett's adenocarcinoma: pathological and prognostic correlations. *Journal of Clinical Pathology* 1994;47(1):23-26.
13. Nakamura T, Nekarda H, Hoelscher AH, et al., Prognostic value of DNA ploidy and c-erbB-2 oncoprotein overexpression in adenocarcinoma of Barrett's esophagus. *Cancer* 1994;73(7):1785-1794.
14. Brien TP, Odze RD, Sheehan CE, McKenna BJ, and Ross JS, Her-2/neu gene amplification by FISH predicts poor survival in Barrett's esophagus-associated adenocarcinoma. *Human Pathology* 2000;31(1):35-39.
15. Hung MC, Martin A, Zhang Y, et al. HER-2/neu-targeting gene therapy- a review. *Gene* 1995;159:65-71.
16. Tan M, Yao J, Yu D. Overexpression of the c-erbB-2 gene enhanced intrinsic metastasis potential in human breast cancer cells without increasing their transformation abilities. *Cancer Research* 1997;57:1199-1205.
17. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase II α gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Annals of Oncology* 2005;16(2):273-278.
18. Hede K. Gastric cancer: trastuzumab trial results spur search for other targets. *Journal of the National Cancer Institute* 2009;101(19):1306-1307.
19. Gravalos C and Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Annals of Oncology* 2008;19(9):1523-1529.
20. Wu CW, Chen GD, Fann CS et al. Clinical implications of chromosomal abnormalities in gastric adenocarcinomas. *Genes Chromosomes and Cancer* 2002;35(3):219-231.
21. Cirne FK, De Souza A, Kulczynski JM, Mattana DS, Corezolla K, Moreira LF. Immunohistochemical expression of HER-2/NEU-CERBB-2 in patients with adenocarcinoma of the stomach. *Rev Col Bras Cir* 2009;36(2):131-134.