

Médica Sur

Volumen 11
Volume

Número 4
Number

Octubre-Diciembre 2004
October-December

Artículo:

Expresión de factores de proliferación celular y del gen supresor de tumores en esófago de Barrett y metaplasia gástrica

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Médica Sur Sociedad de Médicos, AC.

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



www.medigraphic.com

Expresión de factores de proliferación celular y del gen supresor de tumores en esófago de Barrett y metaplasia gástrica

Raúl Pichardo-Bahena,* Francisco José Paz-Gómez,* David Ávalos Reyes,* Blanca Alicia Barredo Prieto,* Natllely Itzel Ruiz Gómez,* Nahum Méndez-Sánchez***

Resumen

Antecedentes: En el adenocarcinoma esofágico originado en esófago de Barrett se ha identificado la sobre-expresión de Ki-67 y p53, misma que no se ha evaluado extensamente en los sujetos con EB sin displasia. **Objetivos:** Comparar y cuantificar la expresión de Ki-67 y de p53 en sujetos con EB y MG en una serie de casos. **Métodos:** Se seleccionaron sujetos con enfermedad por reflujo esofagogástrico (ERGE) a los que se les realizó biopsia de esófago, que fueron diagnosticados como EB o MG y que se contara con laminillas y bloque de parafina. Se realizó inmunohistoquímica con anticuerpos anti Ki-67 y p53. Se contaron 100 núcleos por caso en el epitelio plano estratificado no queratinizado (EPNQ) y en el epitelio glandular y se obtuvo el porcentaje de núcleos positivos por caso. **Resultados:** Se seleccionaron seis casos con diagnóstico de EB y 4 con MG. En tres casos de EB la expresión antigénica no fue evaluada en el EPNQ. En uno de los casos de EB se identificó displasia de bajo grado. No hay diferencia entre los promedios de expresión encontrados tanto en el epitelio glandular como plano estratificado y los rangos de expresión son muy variables. **Conclusiones:** Hay sobre-expresión de Ki-67 y p53 en ambos epitelios. Muy probablemente el estímulo persistente sobre este epitelio y la expresión del gen supresor de tumores y proliferación celular sean el mecanismo por el que se desencadena la presencia de tejido metaplásico.

Palabras clave: Esófago de Barrett, metaplasia gástrica, gen supresor, reflujo gastroesofágico.

Antecedentes

La enfermedad por reflujo gastro-esofágico es la principal condición asociada con la metaplasia intestinal especializada y de metaplasia gástrica.¹ La metaplasia intestinal especializada de la unión esófago-gástrica cuando se encuentra ≥ 3 cm y a por ≤ 1 cm de la

Abstract

Background: In esophageal adenocarcinoma originated in Barrett's esophagus (BE), has been identified the overexpression of Ki-67 and p53, the overexpression haven't been evaluated extensively in subjects with BE without dysplasia. **Objective:** To compare and quantify the expression of Ki-67 and p53 in subjects with BE and gastric metaplasia (GM) a case series. **Methods:** Were selected subjects with gastroesophageal reflux disease and biopsy of the esophagus, with diagnosis of BE or GM and with the slide and paraffin-embedded tissue. It was made immunohistochemistry in each one of them with antibodies anti Ki-67 and p53. We counted 100 nucleuses for each case of plane squamous epithelium and in the glandular epithelium obtain the average of positive nucleus per each case. **Results:** Six cases with the diagnosis of BE and four with GM. A case of BE was identified low grade dysplasia. We not found differences between the average of expression in both type of epithelium, and the ranges of expression were variables. **Conclusion:** There is a overexpression of Ki-67 and p53 in both epithelium. Probably the persistent stimuli in these epithelium and the expression of a tumors gene suppressor and cellular proliferation factor may be the mechanism of trigger the stimuli for the development of metaplastic tissue.

Key words: Barrett's esophagus, gastric metaplasia, gene suppressor, gastroesophageal, reflux disease.

unión esófago-gástrica se le ha denominado esófago de Barrett (EB).²

El EB es la entidad que más frecuentemente está asociada con el desarrollo del adenocarcinoma,³ llega a aumentar su frecuencia 30 a 120 veces comparado con la población general.⁴ Dentro del desarrollo del adenocarcinoma se ha propuesto un modelo de desarrollo semejante al del adenocarcinoma de colon, en el que se proponen varios pasos para la aparición de adenocarcinoma, displasia de bajo grado, alto grado y finalmente el adenocarcinoma.⁵

En la displasia de bajo grado los cambios estructurales son leves, puede existir algún grado de ramificación glandular pero con poca distorsión glandular. La

* Departamento de Anatomía Patológica.

** Departamento de Cirugía.

*** Departamento de Investigación Biomédica.
Fundación Clínica Médica Sur.

displasia de alto grado está caracterizada por una ramificación marcada de las glándulas con un patrón complejo y anormalidades citológicas, que incluyen pseudoestratificación y pérdida de la polaridad basal con aumento del volumen nuclear.⁵

La incidencia del adenocarcinoma esofágico ha aumentado rápidamente en la última década.^{6,7} En el 2002 se identificaron 13,100 nuevos casos, casi el 60% correspondieron a adenocarcinoma.⁸

En este modelo de desarrollo del adenocarcinoma así como neoplasias de otros órganos se han relacionado con la sobre-expresión de factores de proliferación celular como el Ki-67 y de gen supresor de tumores como p53. En el desarrollo de adenocarcinoma de esófago originado en un EB han sido controvertidos.^{9,10}

Se ha propuesto que estos dos marcadores inmunohistoquímicos Ki-67 y p53 pueden ser útiles para identificar los casos de EB que pueden transformarse en adenocarcinoma, antes de presentar alteraciones morfológicas de displasia de bajo o alto grado. Los resultados obtenidos en la literatura han sido controvertidos.^{11,12}

El objetivo de este estudio es cuantificar y comparar la expresión de Ki-67 y p53 en EB y metaplasia gástrica.

Material y métodos

Se seleccionaron las biopsias de los sujetos con ERGE en las que se identificó EB y MG, además que

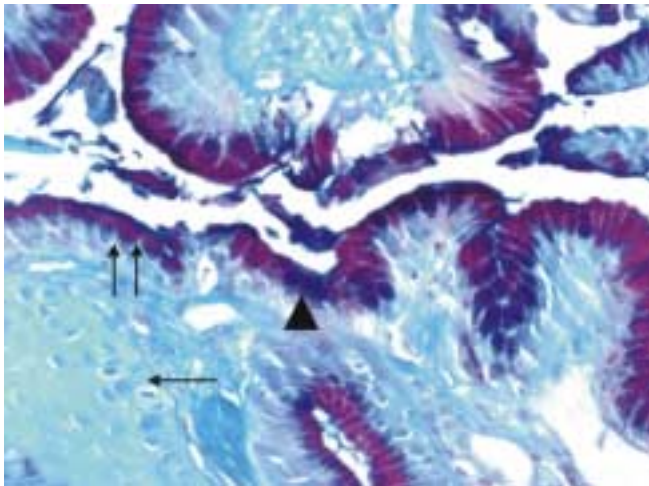


Figura 1. Transición entre epitelio plano estratificado no queratinizado (flecha) y epitelio glandular (doble flecha), con mucoproducción ácida (cabeza de flecha). (tinción de PAS/azul alciano, 40x).

se contara con las laminillas de H&E, PAS/azul alciano, Giemsa y bloque de parafina.

Las biopsias obtenidas por endoscopia se incluyeron en formol amortiguado al 10%. Se incluyeron en parafina y se realizaron cortes a 3 μ m, se tiñeron con H&E además de PAS/azul alciano a pH de 2.7.

Se realizó estudio de inmunohistoquímica con los anticuerpos p53 clona (DO7) de Cell Marque (Bio SB, Santa Barbara California) y Ki 67 clona (MIB 1) de Cell Marque (Bio SB, Santa Barbara California), utilizados en dilución 1:50 cada uno. Se utiliza el sistema de detección Mouse/Rabbit Polydetector HRP/DAB de Cell Marque (Kit de detección, Bio SB, Santa Barbara California).

Se utilizaron las siguientes definiciones operacionales para la separación de los casos como EB y MB. Esófago de Barrett se consideró cuando el endoscopista tomara la biopsia ≥ 3 cm y a por ≤ 1 cm de la unión esófago-gástrica y morfológicamente se identificara la transición entre el epitelio plano estratificado no queratinizado y epitelio glandular con la presencia de células caliciformes con secreción de mucinas ácidas azul alciano positivas (*Figura 1*). Cuando el endoscopista tomara biopsias ≥ 3 cm y a por ≤ 1 cm de la unión esófago-gástrica y morfológicamente se identificara la transición de epitelio plano estratificado no queratinizado con epitelio glandular semejante al cardias o al cuerpo gástrico con ausencia de células caliciformes y con ausencia de secreción de mucinas ácidas con la tinción de azul alciano negativa, se consideró como metaplasia gástrica.

La identificación así como la graduación de displasia se utilizaron los métodos descritos para colitis ulcerosa crónica idiopática, como son displasia de bajo grado, displasia de alto grado y adenocarcinoma.

Una vez realizada la técnica de inmunohistoquímica se observó en microscopio óptico (Olympus BX51 Tokyo Japan) con objetivo 40x y se cuantificaron 100 núcleos, se obtuvo el porcentaje células positivas por caso. La cuantificación se llevó a cabo en el epitelio plano estratificado no queratinizado así como en el epitelio glandular metaplásico.

Resultados

Se seleccionaron seis casos con diagnóstico de EB y cuatro con MG. En tres de los casos de EB no se cuantificó Ki-67 o p53 en el epitelio plano estratificado ya que el tejido se perdió durante la realización de los cortes para inmunohistoquímica.

En EB cinco de los casos no tuvieron displasia y uno se clasificó como displasia de bajo grado. En los cuatro casos de MG no se identificó displasia.

En los casos de EB el Ki-67 fue cuantificado en 32.5% de los núcleos en el epitelio glandular con un rango de 14 a 47%, (Figura 2) y en 33% de los núcleos del epitelio plano estratificado no queratinizado con un rango de 7 a 69%. El mayor número de núcleos positivos se identificó en el caso de displasia de bajo grado (47%). En la MG en el epitelio glandular el porcentaje es de 8.5 con un rango de 0 a 24% y el en epitelio plano estratificado el porcentaje es de 66.7% con un rango de 55 a 83% (Cuadro I).

La positividad observada con p53 en EB en el epitelio glandular es de 45% con un rango de 18 a 75%. En el epitelio plano estratificado de 56% con rango de 28 a 92%. En MG en el epitelio glandular la positividad se cuantificó en 26.3% con un rango de 0 a 80%, en el

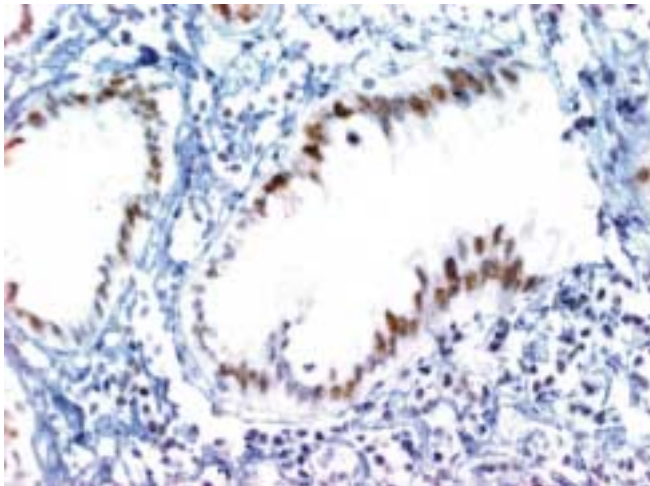


Figura 2. Epitelio glandular con expresión positiva para p53, la positividad se observa de color café ocre en los núcleos de las células de estas glándulas (40x).

epitelio glandular de 48.3% con un rango de 28 a 85% (Cuadro I).

Discusión

Los resultados obtenidos en esta serie los rangos de positividad para ambos marcadores de inmunohistoquímica son muy amplios y en ocasiones van desde valores tan bajos como 0 y tan altos como 92% como en p53 en el epitelio plano estratificado no queratinizado.

La expresión de Ki-67 en el epitelio glandular tanto en EB como MG tienen rangos de positividad semejantes aunque el promedio de positividad es más alto en EB, 32.5% y 8.5 respectivamente. El porcentaje de positividad encontrado en EB es mayor al reportado en la serie de Trudgill et al, donde en EB encontró una positividad de 25%, a diferencia de la serie actual que es de 32.5%.¹³ En el epitelio plano estratificado no queratinizado esta relación se invierte, donde el porcentaje de mayor positividad se encuentra en la MG más que en EB, 66.7% y 33% respectivamente con un rango de 55 a 83% para MB y de 7 a 69% para EB, estos datos son semejantes a los observados por Trudgill et al, donde encontró que existía una elevación en la expresión de Ki-57 en los casos de adenocarcinoma de esófago pero también en los casos de esófago de Barrett sin displasia.¹³ Estos datos son diferentes a los observados por Fuji et al, donde ellos encontraron que hasta un 4% de las células del epitelio escamoso expresan este marcador.¹⁴

La positividad de p53 en el epitelio glandular de EB y MG es semejante a la observada en Ki-67, 45% en EB y 26.3 en MG, con un rango de 18 a 75% y 0-80% respectivamente. Los resultados de p53 son semejantes a los observados en la serie de Sagal et al, donde encontró la expresión por inmunohistoquímica de p53 de 60.9% en los casos de esófago de Barrett y en los casos de metaplasia intestinal de la unión esófago-gástrica (MIUEG) de 56.1 a 39.1%, en el presente estudio excluimos los

Cuadro I. Porcentaje de positividad nuclear de Ki-67 y p53 en metaplasia gástrica y esófago de Barrett

Diagnósticos	n	Ki-67 (%)		p53 (%)	
		Epitelio glandular	Epitelio PENQ	Epitelio glandular	Epitelio PENQ
EB	6	32.5	33	45	56
Rango		14-47	7-69	18-75	28-92
MG	4	8.5	66.7	26.3	48.3
Rango		0-24	55-83	0-80	28-85

EB: esófago de Barrett; MG: metaplasia gástrica; PENQ: plano estratificado no queratinizado.

casos de MIUEG. Es importante observar que aún en la MIUEG hay una sobre expresión de p53.¹⁵ En el epitelio plano estratificado no queratinizado los porcentajes de EB y MG tienen poca diferencia, 56% y 48.3% con un rango de 28 a 92% y 28 a 85% respectivamente, semejante a lo observado en otras series.¹²

Con la utilización de este marcador de proliferación celular como el Ki-67 y de gen supresor de tumores como p53 en esta serie, en el epitelio plano estratificado tanto del EB como de MG, ambas condiciones asociadas a ERGE el porcentaje de núcleos positivos es mayor al compararlo con los observados en el tejido metaplásico, aunado a que los valores más altos se encuentran dentro de este epitelio plano estratificado no queratinizado.

Tanto en las series de Trudgill et al,¹³ como en la de Segal et al¹⁵ en la metodología descrita en cada uno de los trabajos en ninguno de los dos cuantifican la positividad encontrada en el epitelio plano estratificado, solamente en el epitelio glandular de la unión esófago-gástrica. Esto es importante ya que si bien encontraron que en el EB así como en la MIUEG está aumentada la expresión de p53 y Ki-67, donde proponen que ambas condiciones tienen potencial para el desarrollo una neoplasia maligna. Estos resultados encontrados en EB y MIUEG al compararlos con los de los controles en los que no hay inflamación de la unión esófago-gástrica en el epitelio glandular la expresión de p53 es baja (8%). Los sujetos con ERGE es el EPENQ el que sufre de este influjo continuo de jugo gástrico y es el que finalmente sufre la metaplasia intestinal especializada o metaplasia gástrica. Dentro de los estudios posteriores será un punto importante el de comparar la expresión de p53 o Ki-67 o de otras proteínas como p21, p16, entre otras, e identificar si ésta condiciona o dirige el desarrollo de EB, MIUEG o MG.

Conclusiones

La positividad observada en el epitelio plano estratificado no queratinizado tanto para el factor de proliferación celular Ki-67 como para el de gen supresor de tumores p53 muy probablemente sean dos consecuencias de la activación de diferentes genes encargados de la diferenciación de las células epiteliales que bajo el influjo continuo de irritantes tan importantes como el jugo gástrico con un pH muy ácido y que éstas condicionen la aparición de un tejido metaplásico como el observado en EB y MG. Además de identificar las proteínas que regulan que la metaplasia se acompañe de

células caliciformes mucoproducidas de mucinas ácidas o que la metaplasia sea semejante a la mucosa gástrica con ausencia de células caliciformes. La investigación también debe de extenderse a la identificación de la expresión o sobreexpresión de otros antígenos así como la presencia de antígenos mutados, para lo que será necesario la utilización de biología molecular.

En esta serie analizada no se identifican diferencias entre las dos poblaciones de tejido metaplásico, una fuertemente asociada a la aparición del adenocarcinoma el esófago de Barrett y la otra no asociada a esta neoplasia. Por lo que esta serie es más parecida a lo reportado en la literatura en las que no se ha encontrado asociación con la positividad de Ki-67 y p53 con la progresión de la enfermedad. Por otro lado, en las series que han reportado que la expresión de estos dos antígenos se relacionan con el potencial de malignidad será necesario la vigilancia de los sujetos con metaplasia gástrica con elevación en la expresión de estos dos antígenos, como se ha observado en esta serie y que pudiera estar relacionada con los casos de adenocarcinoma de esófago no asociado a EB.

Es necesario extender la muestra y tener seguimiento de estos casos y entonces conocer el valor predictivo de estos marcadores.

Referencias

- Sharma P Barrett esophagus: will effective treatment prevent the risk of progression to esophageal adenocarcinoma? *Am J Med* 2004 Sep 6;117 Suppl 5A: 79S-85S.
- Sharma P, McQuaid K, Dent J, Fennerty MB, Sampliner R, Spechler S, Cameron A, Corley D, Falk G, Goldblum J, Hunter J, Jankowski J, Lundell L, Reid B, Shaheen NJ, Sonnenberg A, Wang K, Weinstein W; AGA Chicago Workshop. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the AGA Chicago Workshop. *Gastroenterology* 2004; 127: 310-330.
- Csendes A. Surgical treatment of Barrett's esophagus: 1980-2003. *World J Surg* 2004; 28: 225-231.
- Miros M, Kerlin P, Walker N. Only patients with dysplasia progress to adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Gut* 1991; 32: 1441-1446.
- Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, Lewin K, Weinstein WM, Antonioli DA, Goldman H. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* 1988; 19: 166-178.
- Chang JT, Katzka DA. Gastroesophageal reflux disease, Barrett esophagus, and esophageal adenocarcinoma. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1482-1488.
- Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998; 15: 2049-2053.
- Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, Mariotto A, Feuer EJ, Edwards BK (eds). SEER Cancer Sta-

- tistics Review, 1975-2001, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2001/, 2004.
9. Beilstein M, Silberg D. Cellular and molecular mechanisms responsible for progression of Barrett's metaplasia to esophageal carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31: 461-479, ix.
 10. Coggi G, Bosari S, Roncalli M, Graziani D, Bossi P, Viale G, Buffa R, Ferrero S, Piazza M, Blandamura S, Segalin A, Bonavina L, Peracchia A. p53 Protein accumulation and p53 gene mutation in esophageal carcinoma. A molecular and immunohistochemical study with clinicopathologic correlations. *Cancer* 1997; 79: 425-432.
 11. Hamelin R, Flejou JF, Muzeau F, Potet F, Laurent-Puig P, Fekete F, Thomas G. TP53 gene mutations and p53 protein immunoreactivity in malignant and premalignant Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1994; 107: 1012-1018.
 12. Bani-Hani K, Martin IG, Hardie LF, Mapstone N, Briggs JA, Forman D, Wild CP. Prospective study of cyclin D1 overexpression in Barrett's esophagus: associating with increased risk of adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1316-1321.
 13. Trudgill NJ, Suvarna SK, Royds JA, Riley SA. Cell cycle regulation in patients with intestinal metaplasia at the gastro-oesophageal junction. *Mol Pathol* 2003; 56: 313-317.
 14. Fujii T, Nakagawa S, Hanzawa M, Sueyoshi S, Fujita H, Shirouzu K, Yamana H. Immunohistological study of cell cycle-related factors, oncogene expression, and cell proliferation in adenocarcinoma developed in Barrett's esophagus. *Oncol Rep* 2003; 10: 427-431.
 15. Segal F, Kaspary AP, Prolla JC, Leistner S. p53 protein overexpression and p53 mutation analysis in patients with intestinal metaplasia of the cardia and Barrett's esophagus. *Cancer Lett* 2004; 210: 213-218.

Correspondencia:
Dr. Raúl Pichardo-Bahena.
Departamento de Anatomía Patológica.
Fundación Clínica Médica Sur.
Puente de Piedra #150. Col. Toriello Guerra,
Tlalpan, México D. F. C.P. 14620.
E-mail: rpichardo@medicasur.org.mx

