

---

---

## **Papel de la expresión del receptor c-Met en la progresión del cáncer gástrico.**

*Hideki Amemiya<sup>1</sup>, Francisco Menolascino<sup>2</sup> y Alix Peña<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Morfológicas, Sección de Anatomía Macroscópica,

<sup>2</sup>Departamento de Patología, Servicio de Anatomía Patológica, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Venezuela.

**Palabras clave:** cáncer gástrico, HGF, c-Met, PCNA, inmunohistoquímica, pronóstico, supervivencia.

**Resumen.** El producto del protooncogen *C-MET* (el receptor c-Met) y su ligando, el factor de crecimiento del hepatocito (HGF), han sido implicados en la progresión del cáncer gástrico. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión del receptor c-Met, HGF y el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), mediante el método inmunohistoquímico de la estreptavidina-biotina marcada, como también la sobrevida, y se correlacionó con los factores anatomopatológicos en los especímenes de estómago de 40 pacientes a quienes se les practicaron gastrectomías por cáncer gástrico en el Departamento de Cirugía General del Hospital Central Universitario "Antonio María Pineda" de Barquisimeto, Venezuela, durante el período 2001-2004. Se observó alta expresión del receptor c-Met y PCNA en pacientes con estadios avanzados (III y IV), comparados con estadios precoces (I y II) ( $p < 0,01$ ). Además, se encontró sobreexpresión del receptor c-Met en las variables histológicas con bajo grado de diferenciación, invasión tumoral más profunda a la submucosa, metástasis hepática y se reportó una sobrevida menor de los pacientes con mayor expresión del receptor (+++ y ++++) con respecto al grupo de menor expresión (+ y ++) ( $p < 0,01$ ). La expresión del HGF fue constante en ambos grupos de estadios (avanzados y precoces). El receptor c-Met está relacionado con la proliferación y migración celular en el cáncer gástrico en pacientes venezolanos y pudiera utilizarse como factor pronóstico en esta patología.

## **Role of the expression of c-Met receptor in the progression of gastric cancer.**

*Invest Clin 2010; 51(3): 369 - 380*

**Key words:** gastric cancer, HGF, c-Met, PCNA, immunohistochemistry, prognostic factor, survival.

**Abstract.** The product of the proto-oncogene *C-MET* (the c-Met receptor) and its ligand, hepatocyte growth factor (HGF), have been implicated in the progression of gastric cancer. The aim of this study was to analyze the expression of c-Met receptor, HGF and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) by the immunohistochemistry method of labeled streptavidin-biotin, as well as survival, and they were correlated with anatomopathological factors in stomach specimens of 40 patients, who underwent gastrectomy for gastric cancer in the Department of General Surgery, Hospital Central Universitario "Antonio María Pineda" in Barquisimeto, Venezuela, in 2001-2004. High expression of c-Met receptor and PCNA was observed in patients with advanced stages of gastric cancer (III and IV) compared with early stages (I and II) ( $p < 0.01$ ). There was also overexpression of the c-Met receptor in histologic variables with low degree of differentiation, deeper tumor invasion into the submucosa, liver metastases and it is reported a lower survival rate in patients with increased receptor expression (+++ and +++) when compared with patients with the lowest expression (+ and ++) ( $p < 0.01$ ). The expression of HGF was constant in both, advanced and early groups. The c-Met receptor is associated with proliferation and cell migration in Venezuelan patients with gastric cancer and could be used as a prognostic factor in this pathology.

*Recibido: 04-11-2009. Aceptado: 08-04-2010.*

### **INTRODUCCIÓN**

El carcinoma gástrico es una de las patologías malignas más comunes en el mundo. La incidencia del cáncer gástrico es significativamente más alta en países del este asiático, especialmente en Japón (1). En Venezuela, los estados andinos son los que presentan la mayor incidencia y mortalidad por esta patología (2).

Múltiples son los factores que se han involucrado en la génesis de las neoplasias malignas. En la última década se ha brindado especial atención a una serie de alteraciones genéticas que incluyen la activación de proto-oncogenes y/o la inactivación de genes supresores tumorales (3).

La regulación de las células neoplásicas por el sistema HGF/c-Met ha sido encontrada en líneas celulares de cáncer gástrico, melanomas, carcinoma hepatocelular, carcinoma epidermoide y en líneas celulares de carcinoma de pulmón (4-7). En investigaciones previas, Kono, Amemiya y colaboradores en el 2002 reportaron que los pacientes con cáncer gástrico productor de alfa-fetoproteínas (AFP) presentaron un mal pronóstico (8). Además se observó una alta frecuencia en la expresión del receptor c-Met en este tipo de cáncer gástrico (9). Los autores sugirieron que uno de los mecanismos que usan las células neoplásicas del estómago para establecer las metástasis hepáticas, tiene que ver con la ampliación

del ARNm y sobreexpresión de las proteínas de los receptores c-Met en el tumor primario, aumentando así su carácter proliferativo e invasor (10).

El sistema c-Met/HGF está relacionado con la proliferación celular y ha sido evaluado por el análisis del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) (9, 10). Funcionalmente, el PCNA es esencial para la replicación y reparación del ADN (11).

En vista de todo lo descrito anteriormente, el sistema HGF/c-Met está fuertemente asociado con la progresión de las células cancerosas. En la revisión realizada, no se ha encontrado ningún informe en la literatura en español, sobre la relación de la expresión del receptor c-Met en el cáncer gástrico primario a nivel molecular y genético. Basados en estos hechos, se propuso a través de esta investigación, evaluar desde el punto de vista inmunohistoquímico la expresión del receptor c-Met y del HGF en pacientes con cáncer gástrico, relacionando a éstos con la capacidad de invasión, metástasis y pronóstico de cada uno de los casos estudiados.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Pacientes

Se realizó un estudio correlacional, longitudinal y prospectivo, cuyos criterios de inclusión fueron todos los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, a quienes se les practicó gastrectomía total o subtotal en el Departamento de Cirugía General del Hospital Central Universitario "Antonio María Pineda" (HCUAMP) de Barquisimeto, Venezuela, en el período comprendido entre Enero del 2001 hasta Diciembre del 2004 y que los especímenes fueron procesados por el Servicio de Anatomía Patológica "Dr. Hans Döehner" del HCUAMP, constituyendo finalmente la muestra para este estudio de 40 pacientes.

A todos los pacientes se les practicó preoperatoriamente estudios de extensión mediante radiología, ultrasonografía y tomografía axial computarizada para el diagnóstico de las metástasis, siendo corroborado durante la intervención quirúrgica.

La metodología utilizada para recoger prospectivamente los datos de los pacientes fueron: historia clínica, valoraciones postoperatorias en la consulta, interrogatorio al paciente o al familiar. Se les realizó visita domiciliaria a aquellos pacientes quienes no tenían servicio telefónico y no acudieron al control postoperatorio.

El aspecto bioético del trabajo fue discutido y aprobado por la comisión de estudios de postgrado de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA) de Barquisimeto. A cada paciente de la muestra definitiva, se le explicó sobre el procedimiento de inmunohistoquímica a realizar en los especímenes tomados de las gastrectomías por cáncer gástrico, y se les solicitó sus firmas para la hoja del consentimiento informado.

### Inmunohistoquímica

Los especímenes de cáncer gástrico se fijaron en formalina al 10% y luego fueron incluidos en bloques de parafina. Los cortes de 3 micras a ser empleados para el estudio de inmunohistoquímica fueron colocados en láminas previamente xilinizadas. Una vez desparafinados y rehidratados, los cortes fueron sometidos siguiendo el protocolo utilizado previamente para el método de la estreptavidina biotina marcada (DAKO LSAB+) (9), para finalmente proceder al revelado con diaminobencidina y el contraste con hematoxilina de Meyer.

Los anticuerpos primarios utilizados, fueron: un anticuerpo policlonal anti-Met (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), un anticuerpo anti-HGF (Immuno-Biological Laboratories, Gumma, Japón) y un anticuerpo monoclonal anti-PCNA (DAKO Cor-

poration, CA, USA). La dilución de los tres anticuerpos utilizados fue de 1 en 50, y en todos los casos se emplearon controles positivos y negativos.

Para la evaluación del método inmunohistoquímico fueron examinados de dos a seis muestras de áreas diferentes del tejido tumoral. Se consideró expresión positiva para el c-Met cuando se observó inmunorreacción en la membrana celular y/o el citoplasma de las células neoplásicas. La expresión para el HGF fue considerada positiva al observarse inmunorreacción a nivel del citoplasma de las células neoplásicas y estromales. Se consideraron positivos para PCNA los casos con inmunorreactividad en el núcleo de las células neoplásicas.

#### Clasificación

Todas las láminas preparadas para el c-Met, HGF y PCNA fueron clasificadas de acuerdo con el grado de inmunorreactividad de las células establecidos en reporte previo (10) como sigue: negativo (-): ninguna célula neoplásica marcada con la inmunorreacción; una cruz (+): de 1 a 24% de las células neoplásicas exhibieron inmunorreacción; dos cruces (++) : de 25 a 49%; tres cruces (+++) : de 50 a 74%; cuatro cruces (++++): de 75% o más de las células neoplásicas presentaron inmunorreacción. Se consideró sobreexpresión a la clasificación de ++++.

Se utilizó para la clasificación del cáncer gástrico por estadios, profundidad e invasión a los ganglios linfáticos, los parámetros de la 6ta. edición de la American Joint Committee of Cancer (AJCC) (12) y para la clasificación histológica según la 1era. edición en Inglés de la Japanese Research Society for Gastric Cancer (JRS GC) (13).

#### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS 10 y los resultados de la inmunohistoquímica se compararon median-

te las pruebas de Fisher y Chi Cuadrado. Se utilizó el método de Kaplan Meyer para la curva de sobrevivencia, comenzando desde el día de la intervención quirúrgica hasta un período máximo de 4 años, y la prueba de Log Rank para el análisis de supervivencia de los pacientes. Para determinar el grado de asociación entre las expresiones del receptor c-Met y el PCNA, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

#### Características clinicopatológicas

Del total de 91 pacientes operados por el Servicio de Cirugía General del HCUAMP en el periodo 2001 al 2004, solamente se le practicó gastrectomía total o subtotal debido a cáncer gástrico a 48 pacientes, y de ellos, en 8 casos los especímenes fueron enviados a instituciones privadas de la región, por lo que estas muestras no pudieron ser empleadas para el presente estudio. Por consiguiente, se analizaron todas las muestras que fueron procesadas y evaluadas por el Servicio de Anatomía Patológica del HCUAMP, que incluyeron a 40 pacientes.

Treinta de los 40 casos fueron del género masculino (75%), con una relación de 3:1 de hombres:mujeres.

La edad de los pacientes gastrectomizados varió desde los 34 hasta los 80 años ( $X \pm DE$ :  $58,13 \pm 13,14$  años).

El 67,5% ( $n=27$ ) de los pacientes estudiados no presentaron evidencia de infiltración a órganos vecinos o metástasis, mientras que el resto de los pacientes presentó infiltración o metástasis en 1 órgano (8 casos), 2 órganos simultáneamente (3 casos), y en 3 órganos simultáneamente (2 casos). Se cuantificó la infiltración o metástasis de los órganos como patologías individuales y se observó: en 6 pacientes, invasión al páncreas (15%); en 5 casos, metástasis hepáti-

ca (12,5%); invasión al duodeno y peritoneo en 3 pacientes cada uno (7,5%); mesocolon transversal en 2 casos (5%); e invasión tumoral a epiplón mayor en 1 caso.

### Inmunorreacción del receptor c-Met

En los cortes para el estudio inmunohistoquímico para el receptor c-Met, se apreció fuerte expresión con patrón granular a nivel del citoplasma de las células neoplásicas observándose que la inmunorreacción fue variable, desde + a ++++ en el estadio I del cáncer gástrico, mientras que todos los pacientes en estadio IV del cáncer gástrico mostraron fuerte inmunorreacción de ++++ (Tabla I). Para realizar el análisis estadístico con la prueba de Fisher, se agruparon los estadios I y II en estadios precoces y los estadios III y IV en estadios avanzados. Además, se agruparon los grados de expresión del receptor c-Met en las células cancerosas en + y ++ (= 50%) y, en el otro grupo, los grados +++ y ++++ (>50%). En el grupo precoz, 8 pacientes presentaron inmunoreactividad = 50%, mientras que solamente 3 pacientes mostraron expresión > 50%. Por otra parte, en los estadios avanzados (III y IV) se observó que todos los casos (n=29) fueron expresiones del receptor c-Met > 50%, obtenien-

do una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ( $p < 0,000001$ ).

Se analizó la relación entre el tipo histológico del cáncer gástrico según la JRSGC y la expresión del receptor c-Met, y se observó que, a medida que va disminuyendo el grado de diferenciación del tejido tumoral, hay mayor expresión del receptor c-Met (++++), como sigue: moderadamente diferenciado (75%), poco diferenciado (77,8%), células en anillo de sello (100%), mucinosos (100%) e indiferenciados (100%) (Tabla II).

Al evaluar si existe correlación entre la expresión del receptor c-Met y la profundidad de la invasión de las células tumorales clasificadas mediante los parámetros de la AJCC (12), se observó que en el cáncer gástrico precoz (T1), la expresión del receptor c-Met fue variable (de + a +++), mientras que en el cáncer gástrico avanzado (invasión a partir de la muscular propia), se observó que la mayor frecuencia de la expresión del receptor c-Met se ubicó en ++++, como sigue: T2 (62,5%), T3 (78,9%) y T4 (100%) (Tabla III).

En cuanto al análisis de la relación entre la expresión del receptor c-Met y la invasión tumoral a los ganglios linfáticos según la clasificación de la AJCC (12), se observó

**TABLA I**  
EXPRESIÓN DEL RECEPTOR c-Met vs ESTADIO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN PACIENTES GASTRECTOMIZADOS

Estadio del cáncer gástrico*	No. de pacientes según el grado de expresión del c-Met				Total n=40
	+	++	+++	++++	
	n=2	n=6	n=5	n=27	
Ia	1	3	1	0	5
Ib	1	2	0	1	4
II	0	1	1	0	2
IIIa	0	0	0	5	5
IIIb	0	0	3	8	11
IV	0	0	0	13	13

\* Según los parámetros de la 6ta. edición de la American Joint Committee of Cancer (AJCC) (12).

**TABLA II**  
EXPRESIÓN DEL RECEPTOR c-Met vs CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DEL CÁNCER GÁSTRICO EN PACIENTES GASTRECTOMIZADOS

Clasificación Histológica*	No. de pacientes según el grado de expresión del c-Met								Total n=40
	+		++		+++		++++		
	n=2	(%)	n=6	(%)	n=5	(%)	n=27	(%)	
Bien diferenciado	1	(20%)	2	(40%)	1	(20%)	1	(20%)	5
Moderadamente diferenciado	0		1	(8,3%)	2	(16,7%)	9	(75%)	12
Poco diferenciado	1	(11,1%)	0		1	(11,1%)	7	(77,8%)	9
Combinado	0		2	(22,2%)	1	(11,1%)	6	(66,7%)	9
Papilar	0		1	(100%)	0		0		1
Anillo de sello	0		0		0		1	(100%)	1
Indiferenciado	0		0		0		1	(100%)	1
Mucinoso	0		0		0		2	(100%)	2

\* Según los parámetros de la Japanese Research Society for Gastric Cancer (JRS GC) (13).

**TABLA III**  
EXPRESIÓN DEL RECEPTOR c-Met vs PROFUNDIDAD DE LA INVASIÓN DEL CÁNCER GÁSTRICO EN PACIENTES GASTRECTOMIZADOS

Profundidad*	No. de pacientes según el grado de expresión del c-Met								Total n=40
	+		++		+++		++++		
	n=2	(%)	n=6	(%)	n=5	(%)	n=27	(%)	
T1	1	(16,7%)	4	(66,6%)	1	(16,7%)	0		6
T2	1	(12,5%)	1	(12,5%)	1	(12,5%)	5	(62,5%)	8
T3	0		1	(5,3%)	3	(15,8%)	15	(78,9%)	19
T4	0		0		0		7	(100%)	7

\* Según los parámetros de la 6ta. edición de la American Joint Committee of Cancer (AJCC) (12).

que dicha expresión fue variable cuando no había ganglios linfáticos afectados mientras que, a medida que aumentó la invasión de células neoplásicas a los grupos ganglionares, aumentó la expresión del receptor c-Met, encontrando en el 100% de los casos expresión del receptor c-Met de ++++ en pacientes con invasión a grupo ganglionar N3 (Tabla IV).

La probabilidad de que fallezca un paciente según la expresión del receptor c-Met con inmunorreactividad de +++ y ++++ fue de 0,4 y 0,63 respectivamente.

#### Inmunorreacción del HGF

En vista de que el HGF es el ligando del receptor c-Met, se analizó dicho factor, en donde se apreció una expresión débil en

**TABLA IV**  
EXPRESIÓN DEL RECEPTOR c-Met vs INVASIÓN A LOS GANGLIOS LINFÁTICOS POR CÁNCER GÁSTRICO EN PACIENTES GASTRECTOMIZADOS

Invasión a ganglios linfáticos*	No. de pacientes según el grado de expresión del c-Met								Total n=40
	+		++		+++		++++		
	n=2	(%)	n=6	(%)	n=5	(%)	n=27	(%)	
N0	2	(18,2%)	5	(45,5%)	2	(18,2%)	2	(18,2%)	11
N1	0		1	(25%)	0		3	(75%)	4
N2	0		0		3	(17,6%)	14	(82,4%)	17
N3	0		0		0		8	(100%)	8

\* Según los parámetros de la 6ta. edición de la American Joint Committee of Cancer (AJCC) (12).

el citoplasma de las células neoplásicas, mientras que se observó fuerte expresión del HGF en el citoplasma de las células estromales (fibroblastos), lo cual se interpreta como un control interno positivo.

En la inmunorreacción de las células cancerosas gástricas, se observó que la mitad de las muestras tumorales no expresan el HGF, seguido por 15 pacientes con expresión de +. Solamente 5 muestras tumorales presentaron inmunorreacción de +++ y ++++.

Para el análisis estadístico, se agruparon los pacientes según la inmunoexpresión del HGF en 3 grupos: Grupo -, grupo + y ++ (1 a 50%) y grupo +++ y ++++ (mayor de 50%), y se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa en la expresión del HGF en células neoplásicas en los pacientes con cáncer gástrico en estadios precoces, comparados con los pacientes con cáncer gástrico en estadios avanzados (Chi cuadrado: 3,22,  $p > 0,05$ ).

En virtud de que el HGF es producido fundamentalmente por las células estromales (14), se analizó además la expresión del HGF en este tipo de células, observándose expresión de +++ y ++++, básicamente en fibroblastos y células musculares lisas en todos los casos estudiados. En las células estromales tampoco hubo diferencias signi-

ficativas en la expresión del HGF en las muestras tumorales de pacientes con cáncer gástrico en estadios precoces, con respecto a los pacientes con cáncer gástrico en estadio avanzado.

#### Inmunorreacción del PCNA

Debido a que el complejo c-Met/HGF es un sistema de factor de crecimiento, se evaluó el estado proliferativo de las células neoplásicas a través del PCNA, demostrándose inmunoexpresión en el núcleo de las células neoplásicas.

Se observó en los casos estudiados que, mientras avanzaba el estadio del cáncer gástrico, iba aumentando la expresión del PCNA (Tabla V).

La expresión del PCNA fue mayor del 50% en todos los pacientes con estadios III y IV, y hubo diferencia estadísticamente significativa mediante la prueba de Fisher, ( $p < 0,00001$ ) entre éstos y los pacientes en estadios I y II (Tabla V). Esto sugiere que en los pacientes con estadios avanzados, hay mayor proliferación de las células neoplásicas.

El análisis de la correlación de Pearson mostró una relación positiva significativa entre las expresiones del PCNA y el receptor c-Met ( $r = 0,83$ ;  $p = 0,01$ ).

**TABLA V**  
EXPRESIÓN DEL PCNA vs ESTADIO DEL CÁNCER GÁSTRICO EN PACIENTES  
GASTRECTOMIZADOS

Estadio del cáncer gástrico*	No. de pacientes según el grado de expresión del PCNA				Total n=40
	+	++	+++	++++	
	n=4	n=3	n=10	n=23	
Ia	3	1	0	1	5
Ib	1	1	0	2	4
II	0	1	1	0	2
IIIa	0	0	0	5	5
IIIb	0	0	9	2	11
IV	0	0	0	13	13

\* Según los parámetros de la 6ta. edición de la American Joint Committee of Cancer (AJCC) (12).

### Sobrevida de los pacientes

Se analizó la sobrevida de los pacientes con cáncer gástrico, de acuerdo al estadio del cáncer y a la expresión del receptor c-Met en las células neoplásicas.

Los pacientes con estadios avanzados del cáncer gástrico (estadios III y IV) tuvieron menor sobrevida que los pacientes con estadios precoces (estadios I y II) ( $p < 0,05$ ). Además, hubo diferencias significativas entre el grupo de pacientes en estadios precoces (I y II) al ser comparados por separados con los pacientes en estadio III ( $p < 0,05$ ) y con los pacientes en estadio IV ( $p < 0,01$ ).

Se correlacionó el grado de expresión del receptor c-Met en el cáncer gástrico con la sobrevida de los pacientes, encontrando menor sobrevida en aquellos con mayor expresión del c-Met (+++ y +++) al ser comparados con el grupo de menor expresión (+ y ++) ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1).

### DISCUSIÓN

En el presente estudio, se demostró en pacientes venezolanos, una alta expresión del receptor c-Met en las células neoplásicas gástricas de los estadios avanzados (estadio III y IV), comparados con los estadios precoces (estadios I y II).

Según trabajos previos, el receptor c-Met se encuentra sobreexpresado en un 18 al 68,8% de los tejidos tumorales gástricos (6, 15, 16). De manera similar, en este estudio se encontró un 65% de sobreexpresión del c-Met en las células cancerosas del estómago en estadios avanzados (estadio III y IV) (Tabla I). Además, se corroboró que los pacientes con altas expresiones del receptor c-Met (+++ y +++) tuvieron una sobrevida menor que los pacientes con expresiones del receptor c-Met de + y ++, y está relacionado con la disminución del grado de diferenciación tumoral hacia los estados poco diferenciados, con células en anillo de sello, en los mucinosos y en los indiferenciados (Tabla II). En cuanto a la profundidad de la invasión tumoral, en la presente investigación se observó que un 85% de pacientes con cáncer gástrico avanzado (las células tumorales sobrepasan a la submucosa), presentó más elevada expresión del receptor c-Met (++++) (Tabla III). Además, se observó que los pacientes con invasiones tumorales a ganglios linfáticos regionales (N1, N2 y N3) presentaron expresiones del receptor c-Met de ++++ en un 75%, 82,4% y 100%, respectivamente (Tabla IV).

El ligando del receptor c-Met, el HGF, es conocido por ser secretado predominantemente



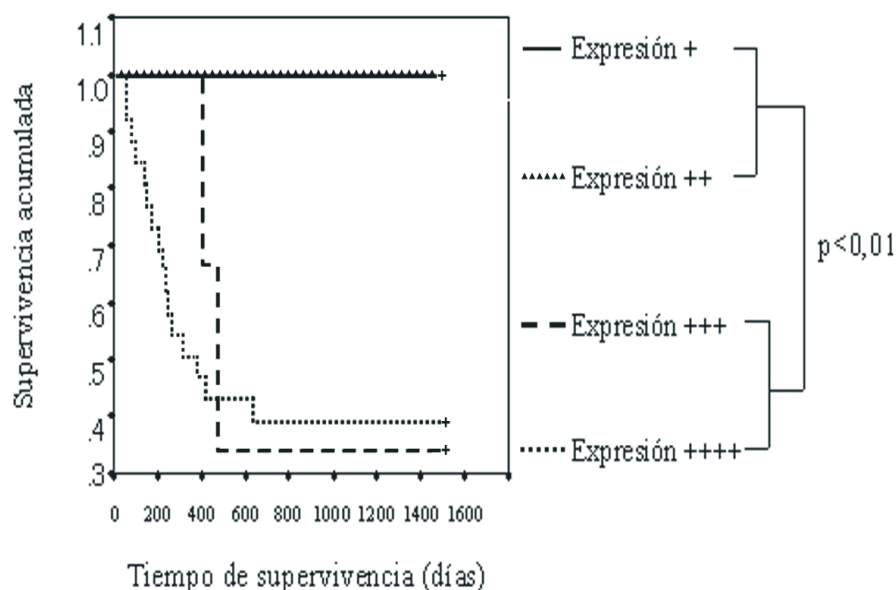


Fig. 1. Curva de supervivencia de pacientes gastrectomizados por cáncer gástrico vs expresión del receptor c-Met (Método de Kaplan Meyer). Los pacientes con expresiones + (línea continua) y expresión ++ (triángulos negros) del receptor c-Met, tuvieron la misma trayectoria y presentaron mayor supervivencia que el grupo de pacientes con expresiones del receptor c-Met de +++ (línea discontinua) y ++++ (puntos negros). La prueba de Log Rank mostró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ( $p < 0,01$ ).

temente por células de origen mesodérmico, tales como fibroblastos y células musculares lisas (14). En la presente investigación, se detectó la expresión del HGF en las células estromales del estómago de todos los pacientes analizados. Estas observaciones sugieren que en el cáncer gástrico, la producción del HGF por las células estromales van a estimular la proliferación y migración de las células cancerosas por vía paracrina, tal como ha sido sugerido previamente por otros autores (17). Además de las células estromales, se encontró poca expresión del HGF en células cancerosas en 15 casos (37,5%) con inmunorreactividad de +, en 3 pacientes con inmunorreactividad de +++ (7,5%) y en 2 pacientes con inmunorreactividad de ++++ (5%). Lo cual significa que en el 50% de los casos analizados se observó la producción del HGF por las células cancerosas, sugiriendo que el HGF producido por las células cancerosas probablemente induce también su

propia actividad proliferativa por vía autocrina, en concordancia con reportes previos (10, 16). No hubo diferencia significativa en la expresión del HGF ni en las células cancerosas ni en las células estromales de los pacientes al comparar los estadios avanzados con los precoces, es decir, que la producción del HGF se mantiene igual en ambos grupos.

En trabajos previos, se ha demostrado que la alta frecuencia de la expresión del receptor c-Met está relacionada con los tipos de cáncer gástrico productores de AFP y que a ello se debe el mal pronóstico de estos pacientes (8, 9). Además se ha demostrado *in vitro* en las células cancerosas gástricas con alta producción de AFP "AME-1", que la alta expresión y amplificación tanto a nivel proteico como del ARN mensajero del receptor c-Met, está implicada en su proliferación y migración celular (4). Desafortunadamente en ningún paciente se realizaron estudios preoperatorios de los nive-

les séricos de AFP debido a que dichos análisis debían ser costeados por el paciente o sus familiares en laboratorios privados.

Se ha descrito que la presencia de metástasis hepática es observada en aproximadamente un 4% de los pacientes con cáncer gástrico (18), pero en el presente estudio se observó que un 12,5% de los pacientes presentaron metástasis hepática, probablemente debido a que la mayoría de estos se encontraban en estadio IV (32,5%). Estudios previos han demostrado que el sistema c-Met/HGF está implicado en el mecanismo de producción de la metástasis hepática a partir del cáncer gástrico primario (10). En el presente estudio, se observó en todos los pacientes que presentaron metástasis hepática, una alta inmunorreacción al c-Met (++++).

Para complementar las posibles implicaciones de la sobreexpresión del receptor c-Met, en este trabajo se analizó el estado proliferativo de las células neoplásicas mediante la expresión del PCNA. Un informe previo ha demostrado la importancia del análisis del PCNA en el pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico (19). Como resultado del presente estudio, los pacientes con estadios avanzados (III y IV) mostraron una elevada expresión del PCNA en comparación con los de estadios precoces (I y II), semejante a la expresión del c-Met (Tabla V). Esto sugiere que, a mayor expresión del c-Met, hay mayor proliferación de las células cancerosas gástricas.

La infección por *Helicobacter pylori* ha sido involucrada en la etiopatogenia del cáncer gástrico al activar el receptor c-Met por intermedio de la proteína CagA de la bacteria, produciendo una respuesta migratoria de las células cancerosas (20, 21). Otro autor en un estudio reciente demostró que la migración de las células cancerosas gástricas producto por la infección del *H. pylori* es por una vía independiente del c-Met, ya que no indujo la fosforilación del

receptor (22). Todavía falta por dilucidar mejor acerca de los acontecimientos intracelulares que ocurren en el receptor c-Met, por la presencia del *H. pylori* en el mecanismo de la carcinogénesis gástrica.

Tomando en consideración todo lo anteriormente descrito, los resultados aquí presentados sugieren que el receptor c-Met juega un importante papel en la progresión del cáncer gástrico, ya que se demostró una alta expresión de esta proteína en pacientes con cáncer gástrico en estadios avanzados (III y IV), en bajos grados de diferenciación histológica, en pacientes con alto grado de profundidad de la invasión (que sobrepasa la submucosa), y en la invasión a ganglios linfáticos, lo cual pudiera deberse a un efecto estimulante de el c-Met sobre la proliferación y migración de las células cancerosas al unirse este receptor con su ligando, el HGF, el cual es secretado por las células estromales de manera constante, produciendo posteriormente la invasión de las células tumorales a estructuras vecinas del estómago y metástasis a distancia, como las hepáticas. Adicionalmente, los pacientes con altas expresiones del receptor c-Met presentaron sobrevida más baja que los pacientes con bajas expresiones de éste.

La muestra en este estudio fue étnica, geográfica y socioculturalmente diferentes a la de las poblaciones estudiadas en reportes previos, y a su vez, se desconoció sobre estudios en el sistema c-Met/HGF relacionado con el cáncer gástrico en Venezuela y en Latinoamérica, sin embargo, aún falta mucho por investigar en el conocimiento del cáncer gástrico a nivel molecular y celular, con el fin de mejorar la conducta terapéutica para los pacientes con cáncer gástrico.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Douglas García y a la Dra. Patricia Zeman adscritos al Departamento de Medicina Preventiva y Social, Sección de

Epidemiología y Bioestadística de la UCLA, por sus consejos sobre los métodos estadísticos pertinentes en cada caso. Al Dr. Miguel Ángel Cordero, adscrito al Departamento de Educación en Ciencias de la Salud, Unidad de Idiomas Extranjeros de la UCLA, por la revisión del resumen en inglés.

### REFERENCIAS

1. **Kuroishi T.** Cancer mortality in Japan (1950-1990). Cancer mortality and morbidity statistics: Japan and the world-1994. Gann Monograph on Cancer Research. No. 41. Tokyo: Japan Scientific Societies Press 1994; 41:1-105.
2. **Anuario de Epidemiología y Estadística Vital.** Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), 2006, Venezuela.
3. **Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, Hui YZ, Miller MA, Fenoglio-Preiser CM.** The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: Oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors. *Hum Pathol* 1994; 25: 968-981.
4. **Amemiya H, Kono K, Takahashi A, Kamei S, Sugai H, Ichihara F, Fujii H, Matsumoto Y.** c-Met expression in gastric cancer cell line producing alpha-fetoprotein. *Surg Today* 2004; 34:115-122.
5. **Halaban R, Rubin JS, Funasaka Y, Cobb M, Boulton T, Faletto D, Rosen E, Chan A, Yoko K, White W, Cook C, Moellmann G.** Met and hepatocyte growth factor/scatter factor signal transduction in normal melanocytes and melanoma cells. *Oncogene* 1992; 7:2195-2206.
6. **Kaji M, Yonemura Y, Harada S, Liu X, Terada I, Yamamoto H.** Participation of c-met in the progresión of human gastric cancers: anti c-met oligonucleotides inhibit proliferation or invasiveness of gastric cancer cells. *Cancer Gene Ther* 1996; 3:393-404.
7. **Tsao MS, Zhu H, Giaid A, Viallet J, Nakamura T, Park M.** Hepatocyte growth factor/scatter factor is an autocrine factor for human normal bronchial epithelial and lung carcinoma cells. *Cell Growth Differ* 1993; 4:571-579.
8. **Kono K, Amemiya H, Sekikawa T, Iizuka H, Takahashi A, Fujii H, Matsumoto Y.** Clinicopathologic features of gastric cancers producing alpha-fetoprotein. *Dig Surg* 2002; 19: 359-365.
9. **Amemiya H, Kono K, Mori Y, Takahashi A, Ichihara F, Iizuka H, Sekikawa T, Matsumoto Y.** High frequency of c-Met expression in gastric cancers producing alpha-fetoprotein. *Oncology* 2000; 59:145-151.
10. **Amemiya H, Kono K, Itakura J, Tang RF, Takahashi A, An FQ, Kamei S, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y.** c-Met expression in gastric cancer with liver metastasis. *Oncology* 2002; 63:286-296.
11. **Waga S, Stillman B.** The DNA replication fork in eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem* 1998; 67:721-751.
12. **American Joint Committee of Cancer (AJCC).** AJCC Cancer Staging Manual. 6<sup>th</sup> Ed. New York: Springer-Verlag; 2002, p 99-106.
13. **Japanese Research Society for Gastric Cancer (JRS GC).** Japanese Classification of Gastric Carcinoma. 1<sup>st</sup> English Ed. Tokyo: Kanehara & CO., LTD.; 1995, p 37-43.
14. **Rosen EM, Goldberg ID, Kacinski BM, Buckholz T, Vinter DW.** Smooth muscle releases an epithelial scatter factor which bind to heparin. *In Vitro Cell Dev Biol* 1989; 25: 163-173.
15. **Kuniyasu H, Yasui W, Kitadai Y, Yokozaki H, Ito H, Tahara E.** Frequent amplification of the c-met gene in scirrhus type stomach cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189:227-232.
16. **Wu CW, Li AF, Chi CW, Chung WW, Liu TY, Lui WY, P'eng FK.** Hepatocyte growth factor and Met/HGF receptors in patients with gastric adenocarcinoma. *Oncol Rep* 1998; 5:817-822.
17. **Tannapfel A, Wittekind C, Tahara E.** Effect of hepatocyte growth factor (HGF)/scatter factor (SF) on cell adhesion in gastric cancer. *Z Gastroenterol* 1994; 32:91-93.
18. **Ochiai T, Sasako M, Mizuno S, Kinoshita T, Takayama T, Kosuge T, Yamazaki S,**

- Maruyama K.** Hepatic resection for metastatic tumours from gastric cancer: Analysis of prognostic factors. *Br J Surg* 1994; 81:1175-1178.
19. **Mori M, Kakeji Y, Adachi Y, Moriguchi S, Maehara Y, Sugimachi K, Jessup JM, Chen LB, Steele GD Jr.** The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in clinical gastric cancer. *Surgery* 1993; 113:683-690.
20. **Churin Y, Al-Ghoul L, Keep O, Meyer TF, Birschmeier W, Naumann M.** *Helicobacter pylori* CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response. *J Cell Biol* 2003; 28: 249-255.
21. **Suzuki M, Mimuro H, Suzuki T, Park M, Yamamoto T, Sasakawa C.** Interaction of CagA with Crk plays an important role in *Helicobacter pylori*-induced loss of gastric epithelial cell adhesion. *J Exp Med* 2005; 202:1235-1247.
22. **Snider JL, Cardelli JA.** *Helicobacter pylori* induces cancer cell motility independent of the c-Met receptor. *J Carcinog* 2009; 8: 7.