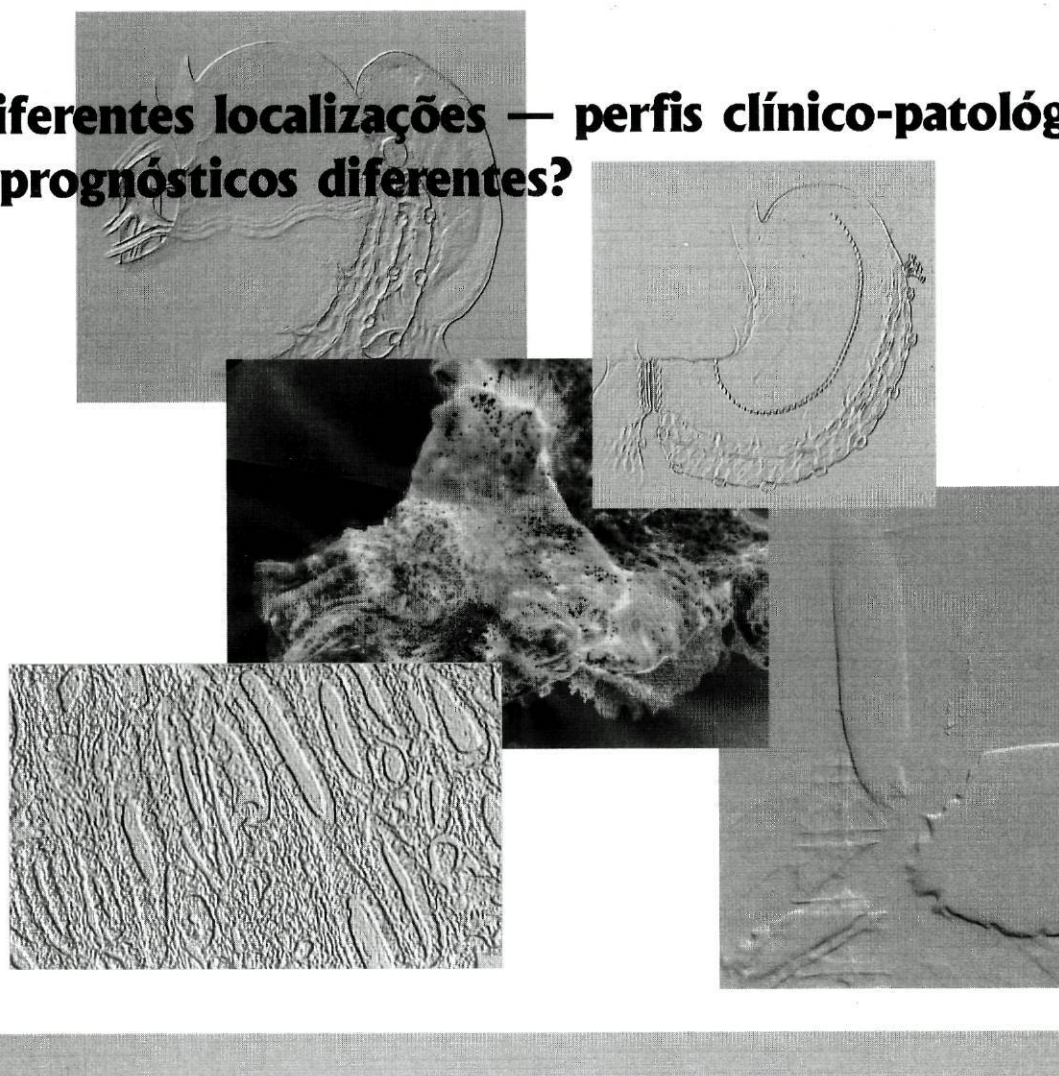


Carcinoma do estômago:

Diferentes localizações — perfis clínico-patológicos e prognósticos diferentes?



João António Pinto de Sousa

2001

**Carcinoma do Estômago:
Diferentes localizações - perfis clínico-patológicos
e prognósticos diferentes?**

**Dissertação de candidatura ao Grau de Doutor
apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade do Porto**

João António Pinto de Sousa

Porto, 2001

**Artº 48, § 3º - A Faculdade não responde pelas doutrinas
expendidas na dissertação. (Regulamento da Faculdade de
Medicina do Porto, 29 de Janeiro de 1931 – Decreto nº
19337)**

À Cristina

Ao João

A meus Pais

A todos os meus

ÍNDICE

Preâmbulo e agradecimentos	9
Introdução	15
Objectivos	27
Material e métodos	31
Resultados	39
Discussão	75
Conclusões	85
Resumo	89
Summary	97
Résumé	103
Bibliografia	109

Preâmbulo e agradecimentos

A “rose is a rose is a rose is a rose”, but exactly what is a gastric adenocarcinoma?

(Appelman HR, McKenna BJ. Guest editorial. J Surg Oncol 1998;68:141-143)

Desde muito cedo que fomos estimulados a agitar as águas calmas do conformismo científico, a duvidar dos dogmas de pés de barro e a não aceitar o simples transplantar da literatura internacional para a nossa realidade. Por isso, ao longo do percurso académico e clínico fomos colocando questões, fomos perguntando e, a dada altura, fomos ajudando, modestamente é certo, a conhecer melhor. E fomos empurrados, em boa hora, para um caminho longo e interessante, o de tentar avançar um pouquinho mais no conhecimento de algumas doenças que nos preocupam, porque matam muitos dos doentes que procuram a ajuda que tantas vezes não podemos dar. Infelizmente muitos deles procuram-nos porque estão a braços com um cancro do estômago.

Em determinado momento tínhamos encontrado o ponto de partida deste trabalho. Vivemos num país com uma incidência elevada de carcinoma do estômago. Sabíamos que essa incidência teima em não cair tão abruptamente como noutros países ocidentais e sabíamos também que o carcinoma do estômago ainda tem muitos aspectos desconhecidos. Desde há alguns anos que temos vivido no dia-a-dia o dia-a-dia dos muitos doentes internados com carcinoma do estômago. Uns com um carcinoma mais distal, outros com um carcinoma mais proximal e outros ainda com um carcinoma numa região denominada genericamente cárdia. E tínhamos indícios, mais ou menos seguros, de que o carcinoma do estômago não é uma doença única, não é uma entidade homogénea e que poderia eventualmente ter um comportamento biológico diferente consoante a sua localização.

Incutiram-nos curiosidade e incentivaram-nos a investigar.

Reunimos o material clínico, relativo aos doentes internados e tratados com a dedicação dos médicos do Serviço de Cirurgia 4, e o material patológico, centrado no estudo das peças de ressecção cirúrgica, re-analisadas sem sacrificar a “rotina” laboral diária. Tínhamos o conhecimento da sobrevida dos doentes seguidos na consulta externa de “follow-up” e era possível estudarmos marcadores de diferenciação tumoral e de agressividade biológica. Esboçamos uma tentativa de abordagem do problema. Por último, conseguimos ser aceites numa equipa multidisciplinar com créditos firmados, que nos favoreceu com uma

Preâmbulo e agradecimentos

generosidade que não esperávamos. Uma equipa de cirurgiões que na Unidade de Cirurgia Esófago-Gástrica do Serviço de Cirurgia 4 se tem dedicado afincadamente ao estudo do carcinoma do estômago e que tem sabido defender e seguir a tradição de uma Escola Cirúrgica conceituada. Uma equipa de anátomo-patologistas que no Serviço de Anatomia Patológica do H. S. João e no IPATIMUP (Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto) tem alcançado um lugar de destaque a estudar o carcinoma do estômago.

Neste contexto, iniciamos a tal caminhada que vale sempre a pena, porque o contributo para melhorar o conhecimento de uma doença tão nefasta é, por si só, um esforço digno. Mesmo que a nossa capacidade de trabalho fosse limitada, mesmo que a meta parecesse fora do nosso alcance ou até mesmo que tivéssemos de desistir a qualquer momento, procurar ajudar os doentes seria sempre um prémio sem preço e reconfortante.

Desde o pequeno ponto de partida até à linha da meta fomos muito ajudados. Reconhecidamente agradecemos as pequenas e as grandes ajudas, porque todas foram muito importantes e algumas foram imprescindíveis.

Em primeiro lugar não queríamos deixar de evocar a memória do **Senhor Professor Doutor Joaquim Bastos**, com quem ainda tivemos a oportunidade de privar durante uns escassos anos e que um dia nos disse o seguinte, quando apareceu publicado o primeiro artigo do qual eramos primeiro autor: "*Para começar não está mal, rapaz, vamos ver daqui para a frente...*". Estas palavras foram um estímulo para as tarefas que nos propunhamos.

Ao **Senhor Professor Doutor Valdemar Cardoso**, o Orientador do trabalho que culminou nesta Dissertação, devemos os alicerces da nossa actividade académica e de investigação científica. O rigor científico, o espírito amplo e o incentivo à emancipação consciente dos seus colabores mais jovens, a palavra certa e o conselho adequado, tão importantes nalgumas horas de descrença, são dívidas que não poderemos, de modo algum, saldar.

Ao **Senhor Professor Doutor Amadeu Pimenta**, o Co-orientador deste trabalho, devemos a motivação ensinada todos os dias, a persistência, a teimosia científica, as conversas diárias, tão úteis e tão difíceis de contabilizar, e devemos, enfim, o modelo, o exemplo de dedicação ao ensino, à clínica e aos doentes.

À **Senhora Professora Doutora Leonor David** agradecemos a disponibilidade permanente, ainda que arrancada a um tempo sobrecarregado de atitudes e de responsabilidades. Devemos-lhe a ajuda na interligação entre a clínica e a patologia e devemos, também e principalmente, a criação de um espírito de continuidade na investigação do carcinoma do estômago. O seu modelo de trabalho, um reflexo rigoroso do conceito de investigação desenvolvida no IPATIMUP, foi uma inspiração constante ao longo dos tempos em que com ela pudemos privar.

Preâmbulo e agradecimentos

Ao **Senhor Professor Doutor Manuel Sobrinho-Simões** agradecemos o acolhimento concedido no IPATIMUP e os conselhos, quase despercebidos, mas de importância fulcral, que descomprometidamente nos concedeu.

Ao **Senhor Professor Doutor Mário Seixas** devemos a ajuda essencial prestada na análise estatística dos resultados e a colaboração na concepção de algumas fases do estudo.

Ao **Senhor Professor Doutor Celso Reis** e à **Senhora Doutora Raquel Almeida** agradecemos a preciosa colaboração nalgumas fases do estudo, as relacionadas com a análise das mucinas e do *c-erb B-2*, respectivamente.

Ao **Senhor Dr. Sousa Rodrigues** reconhecemos o empenho colocado no tratamento de muitos dos doentes estudados neste trabalho e agradecemos os infundáveis ensinamentos que nos emprestou ao longo de muitos anos de actividade clínica em comum.

Ao **Senhor Dr. John Preto** e à **Senhora Dr^a. Irene Leitão** agradecemos a colaboração prestada nas fases finais do estudo, as opiniões simultaneamente amigas e libertas da cegueira emotiva que tantas vezes os amigos fazem questão de emitir.

A todos os elementos do IPATIMUP que colaboraram na execução de algumas partes deste trabalho, muito obrigado.

Ao **Senhor Dr. Rui Maciel** e à **Senhora Dr^a. Helena Queirós** agradecemos a colaboração prestada na recolha de material patológico para análise.

Às alunas do Curso de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, **Raquel Gomes** e **Liliana Silva**, agradecemos a colaboração na análise imunohistoquímica das mucinas.

A todos os elementos do Serviço de Cirurgia 4 com quem tivemos o prazer de trabalhar agradecemos a amizade e, ainda, a ajuda desinteressada e inextinguível. Relembramos o **Senhor Professor Doutor Casimiro de Azevedo**, sob cuja direcção trabalhamos, ainda que apenas durante um escasso número de meses, no início do Internato Complementar de Cirurgia Geral.

Preâmbulo e agradecimentos

Ao abrigo do Art. 8º do Decreto-Lei nº 388/70 fazem parte integrante desta dissertação os seguintes trabalhos já publicados ou em vias de publicação:

Sousa JP, Pimenta A. Alguns aspectos epidemiológicos e clínicos do carcinoma do estômago. *Arq Port Cirurgia* 1997;6:233-230.

Pinto de Sousa J, Maciel R, Queirós H, David L, Pimenta A. 232 carcinomas gástricos ressecados em 12 anos: a estabilização dos resultados ou a impotência da cirurgia? *Arq Port Cirurgia* 2000;9:153-159.

Pinto de Sousa J, David L, Seixas M, Pimenta A. Clinico-pathologic profiles and prognosis of gastric carcinomas from the cardia, fundus/body and antrum. *Dig Surg* 2001;18:102-10.

Pinto de Sousa J, David L, Seixas M, Pimenta A. Should cardia carcinomas be distinguished from more distal lesions? *Recent Advances in Diseases of the Esophagus*. Pinotti HW, Ceconello I, Felix VN, Oliveira MA (Editors), Bologna, Monduzzi Editore, 297-301, 2001.

Pinto de Sousa J, David L, Reis CA, Gomes R, Silva L, Pimenta A. Mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 expression in the evaluation of differentiation and clinico-biological behaviour of gastric carcinoma. *Virchows Arch* 2002;440:304-310. DOI 10.1007/s00428-001-0548-y.

Pinto de Sousa J, David L, Almeida R, Leitão D, Preto JR, Seixas M, Pimenta A. *c-erb B-2* expression is associated with tumour location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Enviado para publicação*.

Em cumprimento do disposto no referido Decreto-Lei declara que participou activamente na recolha e estudo do material incluído em todos os trabalhos, tendo redigido os textos com a activa colaboração dos outros autores.

A dissertação inclui também resultados ainda não enviados para publicação.

Preâmbulo e agradecimentos

Introdução

O cancro do estômago ainda é um alvo privilegiado de investigação epidemiológica, clínica, patobiológica e molecular. O carcinoma representa cerca de 95% de todos os cancros do estômago. Uma análise à escala mundial evidencia facilmente que o carcinoma do estômago constitui um gravíssimo problema de saúde pública, porque a sua incidência é elevada e acarreta uma mortalidade considerável ^{Ajani 1995, Boring 1992, Boring 1994, Fink 1991, Karpeh 2001, Kitamura 1999, Landis 1998, Mslka 1997, Muir 1977, Roder 1995, Whelen 1993}.

A importância do carcinoma gástrico no mundo

A importância do carcinoma do estômago avaliada em base populacional pode ser estimada a partir de três fontes principais de informação: incidência, mortalidade e frequência. A medida mais correcta para avaliar o “peso” de uma determinada doença na sociedade é a incidência, mas obriga ao registo permanente e actualizado da população. A mortalidade é de menor utilidade que a incidência porque pode ser, pelo menos em grande parte, influenciada pelo grau de sucesso do tratamento instituído. A frequência é uma medida claramente inferior em relação à incidência ou à mortalidade, mas nalguns países, onde não existem ou não são credíveis os dados populacionais, os dados da frequência são a única forma de estudar a importância do carcinoma do estômago. Frequentemente é necessário recorrer a estes três tipos de fontes, correndo riscos antecipadamente identificados, para se conseguir uma visão do carcinoma do estômago a nível mundial ^{Parkin 1993}.

De acordo com os dados referidos nalguns estudos, calcula-se que 755 000 novos casos são diagnosticados anualmente no mundo inteiro ^{Muir 1997}. Globalmente, o carcinoma do estômago representa a segunda causa mais frequente de cancro mas, nos países em vias de desenvolvimento, o carcinoma do estômago é o cancro mais frequente nos homens e o terceiro mais frequente nas mulheres imediatamente após o do colo do útero e o da mama ^{Muir 1997}. Na China e no Japão o carcinoma do estômago ocupa o primeiro lugar nos dois sexos. As incidências mais elevadas do cancro do estômago são observadas no Japão, na América do Sul, na Europa de Leste, particularmente nos países que constituíram a antiga União Soviética, e em algumas regiões do Médio Oriente ^{Muir 1997}.

Introdução

Apesar de ser conhecida desde longa data a associação do carcinoma do estômago com áreas sócio-económicas desfavorecidas, o padrão de distribuição da doença em função deste parâmetro não é linear. Com efeito, nalguns países subdesenvolvidos ou em vias de desenvolvimento (Índia, Paquistão e Irão) registam-se taxas de incidência baixas, deixando antever uma causalidade multifactorial na génese do carcinoma do estômago. Os países ocidentais, nomeadamente os Estados Unidos da América e a generalidade dos países ricos da Europa Ocidental, apresentam valores de incidência do carcinoma do estômago baixos. Também valores baixos de incidência, inferiores a 10 por 100 000, têm sido apontados na Nova Zelândia e na Austrália ^{Mettlin 1988}. Porém, no Japão, apesar do nível de desenvolvimento sócio-económico atingido, as taxas de incidência são mais elevadas do que em qualquer outra parte do mundo ^{Muir 1997}. Nos países muito populosos, as taxas de incidência elevadas originam um impressionante número absoluto de carcinomas do estômago. Na China há mais casos de carcinomas do estômago do que em qualquer outro país do mundo e no Japão há tantos casos de carcinoma do estômago como no território da antiga União Soviética ^{Muir 1997}.

Os vários estudos que analisam a importância clínica do carcinoma do estômago pelo prisma da mortalidade identificam-no como uma causa importante de morte por cancro ^{Boring 1992, Boring 1994, Karpel 2001, Landis 1999, Whelen 1993}. O carcinoma do estômago é o cancro mais frequente na Coreia, onde é também a primeira causa de morte ^{Kim 1999}. Nalguns países, como por exemplo no Chile, a taxa de mortalidade é superior a 40 por 100 000 pessoas e aproxima-se da taxa de incidência ^{Karpel 2001}. No Japão, apesar da incidência muito elevada, a mortalidade, analisada em base populacional, é mais baixa, comparativamente à verificada noutros países com elevada incidência, em parte devido às campanhas de rastreio que foram levadas a cabo nos anos 70 ^{Murakami 1990}. Nos Estados Unidos da América, o carcinoma do estômago é somente o 14º cancro mais frequente, mas ocupa o 9º lugar como causa de morte global (por neoplasia ou não) ^{Landis 1998}. Valores baixos de incidência e também de mortalidade, inferiores a 10 por 100 000, têm sido descritos na Nova Zelândia e na Austrália ^{Mettlin 1988}.

Como já foi referido anteriormente, a mortalidade está associada ao grau de eficácia dos vários tratamentos disponíveis para o carcinoma do estômago. A cirurgia continua a ser o único meio terapêutico com capacidade para curar alguns doentes com carcinoma do estômago. Contudo, apenas uma percentagem reduzida de doentes apresenta a doença localizada, permitindo a cirurgia de ressecção com intenção curativa, em contraste com os dados sugeridos na avaliação clínica e imagiológica pré-operatória ^{Adashek 1979, Landis 1998, Macdonald 1995, Wanebo 1993, Wilke 1995}. Deste modo, o prognóstico global do carcinoma do estômago continua muito sombrio ^{Akoh 1992, Jatzko 1995, Wanebo 1993, Roder 1995}.

No Ocidente, apesar dos avanços nos meios auxiliares de diagnóstico pré-operatório, na técnica cirúrgica e nos cuidados de suporte per e pós-operatório, a sobrevivência dos doentes submetidos a cirurgia de ressecção não tem aumentado, ou tem aumentado muito pouco nos últimos anos mantendo-se distante dos valores que têm sido publicados em trabalhos oriundos de alguns centros japoneses ^{Akoh 1992, Hansson 1999, Noguchi 1996, Otsuji 1998}. As explicações sugeridas por diversos autores para estes factos são controversas e podem ser

revistas em vários trabalhos ^{Maruyama 1989, Noguchi 1991, Noguchi 1996, Noguchi 2000, Ohta 1987, Schlemper 1997}. Resumidamente, continua por esclarecer se o carcinoma do estômago é ou não uma doença diferente no Oriente e no Ocidente. Independentemente da resposta para esta controvérsia, parece ser verdade que globalmente a sobrevida dos doentes japoneses com carcinoma do estômago é superior à dos doentes ocidentais. Desde logo, a maior percentagem relativa de carcinomas gástricos operados no Japão em fases iniciais da sua evolução clínica parece explicar estas diferenças de sobrevida ^{Hallisey 1990, Everett 1997}. Porém, segundo alguns estudos, a sobrevida dos doentes no Oriente permanece significativamente superior, mesmo quando a comparação é feita entre tumores com o mesmo estadió. A maior agressividade cirúrgica verificada nalguns centros japoneses ou coreanos tem sido implicada nestas diferenças de sobrevida. Ainda não está encerrado o debate sobre se essas diferenças são devidas a uma maior radicalidade cirúrgica ou se são causadas por migrações de estadió que a maior radicalidade cirúrgica provoca ^{Bunt 1995, Kodama 1981, Lee HK 2001, Noda 1998, Roder 1995}.

A importância do carcinoma gástrico em Portugal

Não é com facilidade que se encontram dados credíveis na literatura que documentem a realidade portuguesa relativos à incidência e prevalência do carcinoma do estômago. Frequentemente, face à ausência de dados de base populacional relativos ao carcinoma do estômago, as características epidemiológicas são apresentadas a partir de taxas de mortalidade em detrimento de taxas de incidência e de prevalência. Não raramente é necessário recorrer a métodos estatísticos e matemáticos de extrapolação, relativamente complexos, para se ter um ideia aproximada da realidade portuguesa ^{Black 1997}. Esta extrapolação tem sido tentada a partir de registos regionais como o são, de entre outros, os casos de Coimbra ^{Black 1997} e de Vila Nova de Gaia ^{Muir 1997}. A falta de sistematização e de organização adequada do registo de casos de carcinoma gástrico é tanto mais penalizadora para a nossa comunidade clínica e científica quanto é sabido, ainda que de forma não muito precisa, que Portugal é um país-modelo para o estudo do carcinoma do estômago. Nesta perspectiva, seria de toda a conveniência e vantagem o esforço combinado dos vários centros que possuem informações relativas à epidemiologia do cancro do estômago, como por exemplo os Registos Oncológico Hospitalares, o Instituto Nacional de Estatística e os Registos de Cancro Regionais, para a avaliação global, a nível nacional, do cancro do estômago.

Apesar das limitações que se depreendem das circunstâncias anteriormente descritas, não parecem restar dúvidas de que Portugal ocupa um lugar de destaque no que diz respeito à elevada frequência de casos de carcinoma do estômago. No sexo masculino, a taxa de incidência global de cancro do estômago estimada para Portugal tem sido de 31,9/100 000 em relação à população mundial e de 46,4/100 000 em relação aos países europeus ^{Black 1997}. No referente ao sexo feminino, os valores relativos à incidência do cancro do estômago têm sido de 14,6/100 000 em relação à população mundial e de 21,5/100 000 em

Introdução

relação aos países da Europa ^{Black 1997}. Segundo o estudo de Black e colaboradores ^{Black 1997}, a incidência do carcinoma do estômago em Portugal é cerca de duas vezes superior à média da incidência na União Europeia nos dois sexos. De acordo com o trabalho de Muir ^{Muir 1997}, a mortalidade por carcinoma do estômago em Portugal é sensivelmente o dobro da documentada nos outros países da União Europeia e aproxima-se da mortalidade verificada na Polónia, na Hungria, na antiga Checoslováquia e na Roménia. Nos dois sexos, a taxa de mortalidade por carcinoma do estômago ajustada à idade tem-se mantido estabilizada ou tem descido muito ligeiramente desde 1953 até 1992 ^{Tominaga 1998}. Segundo os dados do estudo elaborado sob a égide da UICC ^{Tominaga 1998}, Portugal ocupa o terceiro lugar no "ranking" dos 28 países analisados relativamente à taxa de mortalidade por cancro do estômago.

No contexto da enorme importância epidemiológica, clínica, patológica e social do carcinoma do estômago em Portugal, e na impossibilidade imediata de reunir dados de todos os representantes dos centros que recebem e tratam doentes com carcinoma do estômago, um dos caminhos com interesse é o estudo das populações tratadas nas várias instituições hospitalares. A análise crítica dos resultados conseguidos nos vários hospitais afigura-se-nos um passo fundamental para o avanço na melhoria dos cuidados assistenciais dos doentes com carcinoma do estômago. Esta melhoria do tratamento dos doentes é a motivação maior da nossa actividade enquanto cirurgiões, quer isoladamente, quer integrado em equipas oncológicas multidisciplinares. O conhecimento da realidade, a reflexão histórica e a consciência crítica são etapas essenciais no avanço da informação. Estes estudos poderão não ter o alcance dos estudos de base populacional, mas permitirão, ainda assim, avançar um pouquinho no melhor conhecimento da história natural do carcinoma do estômago, e, com muita modéstia, deixar pistas para alterar de forma mais eficaz os cuidados de saúde.

Num estudo realizado pelo nosso grupo ^{Sousa 1997} relativo à população internada no Serviço de Cirurgia 4 entre Janeiro de 1986 e Dezembro de 1995 (n=425), dividido em dois períodos consecutivos de cinco anos, não se observaram alterações significativas do número de casos internados ao longo dos anos do estudo. Neste trabalho registou-se um aumento significativo da idade média dos doentes no segundo período (1991-95). A percentagem global de doentes do sexo masculino foi de 64,7% e não diferiu significativamente nos dois períodos do estudo. A duração média e a mediana das queixas atribuídas ao carcinoma do estômago foram elevadas (14,7 meses e 4,0 meses, respectivamente), mas esboçou-se uma tendência para a diminuição destes dois parâmetros no segundo período. A percentagem de doentes com queixas superiores a seis meses no período de 1991 a 1995 (27,9%) foi significativamente inferior à registada no período de 1986-90 (41,1%). Este encurtamento da demora em procurar ajuda médica poderá traduzir não só um maior esclarecimento da população como também uma maior disponibilidade dos serviços de saúde. Ainda de acordo com esse estudo ^{Sousa 1997} os doentes com queixas de duração inferior a seis meses eram mais idosos. Assim devemos ter uma maior preocupação na investigação etiológica das queixas nestes doentes, os quais têm como já vimos uma maior probabilidade de apresentarem patologia orgânica maligna subjacente. De acordo com os critérios definidos na metodologia deste estudo ^{Sousa 1997}, os carcinomas do cárdia foram englobados no grupo dos carcinomas do terço

superior do estômago. A variação não foi significativa nos dois períodos, isto é, mesmo tomando em consideração as limitações inerentes à natureza retrospectiva do estudo e ao reduzido número de anos analisados, não se observou um aumento relativo de carcinomas de localização mais proximal na população estudada. Estes dados poderão sugerir que em Portugal ainda são muito frequentes as deficientes condições sócio-económicas que favorecem o desenvolvimento do carcinoma do antro. Estas observações estão de acordo com as que indicam uma maior frequência de carcinomas gástricos distais nos países com elevada incidência de carcinomas do estômago ^{Brenes 1993}.

O recurso a exames complementares de diagnóstico com elevada acuidade no estadiamento do carcinoma gástrico tem possibilitado o conhecimento antecipado da irrecesecabilidade ou da disseminação sistémica da doença neoplásica e, deste modo, muitos doentes poderão ser poupados à desnecessária laparotomia exploradora ^{Anderson 1996, Maerz 1996, Possik 1986, Sandler 1995, Stell 1996}. O diagnóstico do carcinoma do estômago em fases tardias da sua história natural, a idade avançada dos doentes e a coexistência de patologia grave são factores que conduzem, entre nós, a taxas de inoperabilidade elevadas (20,2%) ^{Sousa 1997}. Estes valores de inoperabilidade estão em concordância com os resultados de outros estudos nacionais ^{Belo-Soares 1994, Mendes-de-Almeida 1993, Pereira 1995}. Em relação aos doentes internados no Serviço de Cirurgia 4, na série por nós analisada, 21,6% dos doentes com carcinoma do estômago foram submetidos a cirurgia de não ressecção e 58,2% foram submetidos a gastrectomia ^{Sousa 1997}. A taxa de ressecabilidade registada neste estudo foi superior no segundo período do estudo, isto é, entre 1991 e 1995 (66,1%) em comparação com a registada no primeiro período (49,0%). Para este aumento da taxa de ressecabilidade verificado no segundo período do estudo muito terá contribuído o acumular de experiência dos cirurgiões entre 1991 e 1995, período coincidente com a sectorização por áreas de patologia cirúrgica levada a cabo no Serviço de Cirurgia 4. A experiência adquirida, aliada a outros factores seguramente não menos importantes, terá permitido que o cirurgião adoptasse uma atitude mais intervencionista e conseguisse ressecar mais frequentemente os carcinomas do estômago ^{Sousa 1997}.

No Ocidente, e particularmente entre nós, a sobrevivência dos doentes submetidos a cirurgia de ressecção por carcinoma do estômago não tem aumentado nos últimos anos e mantém-se distante dos valores que têm sido publicados em trabalhos oriundos de alguns centros japoneses de referência ^{Akoh 1992, Allgayer 1998, Noguchi 1996, Otsuji 1998}. No sentido de conhecer com maior profundidade a evolução das eventuais variações das características clínico-patológicas e dos resultados da cirurgia de ressecção do carcinoma do estômago, o nosso grupo conduziu um estudo em que se procurou analisar os doentes com carcinoma do estômago ressecável entre 1984 e 1995 ^{Pinto de Sousa 2000}. Os 232 doentes seleccionados com carcinoma gástrico ressecável foram divididos em dois grupos correspondentes a dois períodos consecutivos de seis anos: 1º grupo, 1984-89 (n=116) e 2º grupo, 1990-95 (n=116). Neste estudo foram excluídos os casos de carcinoma do cárdia. O trabalho confirmou dados já sugeridos numa investigação anterior ^{Sousa 1997} relativos ao aumento da idade média dos doentes e identificou uma opção crescente da gastrectomia total para tratamento dos doentes internados no Serviço de Cirurgia 4. A percentagem de gastrectomias totais realizadas foi significativamente superior no segundo período (1990-95) (44,8%) em relação à do primeiro

Introdução

período (27,4%). A mortalidade global do estudo foi de 3,5%, situando-se em valores aceitáveis para um país ocidental, e não sofreu alterações significativas nos dois períodos. A sobrevida cumulativa global também não foi significativamente diferente nos dois grupos do estudo. As diferenças da sobrevida cumulativa nos dois grupos limitaram-se às verificadas na comparação dos tumores com invasão de órgãos adjacentes ao estômago. Porém a melhoria da sobrevida dos tumores T4 no segundo grupo, para além de poder traduzir, eventualmente, uma atitude mais ousada do cirurgião, apoiada numa maior experiência adquirida, perde algum impacto pelo facto de o número de carcinomas T4 ressecados ter sido diminuto e também pela ausência de sobrevida cumulativa aos 5 anos nesses casos. O estudo não mostrou melhoria da sobrevida cumulativa comparativamente nos dois períodos para cada um dos estádios. Assim, do referido estudo ^{Pinto-de-Sousa 2000}, parece emergir a noção de que o tratamento cirúrgico, ou ainda não evolui ao ponto de ser suficiente para tratar de forma exclusiva os carcinomas do estômago, ou nunca será suficiente para isoladamente atingir este objectivo. Enquanto não forem aperfeiçoadas novas formas terapêuticas tais como o tratamento neoadjuvante ^{Ajani 1999, Becker 1999, Crookes 1997, Fink 1995, Jessup 1993, Kim 1992, Lowy 1999, Ota 1993, Schumacher 2001, Wilke 1995, Wright 1994}, a quimioterapia intraperitoneal ^{Averbach 1996, Fujimoto 1997, Fujimoto 1999, Hamazoe 1994, Rosen 1998, Sautner 1994, Schiessel 1989, Yu 1998, Yu 2001}, ou a imunoquimioterapia ^{Kim 1992, Nakazato 1994, Ochiai 1983, Toge 1999}, ou enquanto não surgirem novas drogas anti-tumorais mais eficazes e menos tóxicas ^{Jeen 2001, Kim 1999, Lokich 1999, Macdonald 2001, Nakajima 1995, Shimada 1999, Sugimachi 1997}, a melhoria dos resultados no carcinoma do estômago, entre nós, deverá passar pela aposta no diagnóstico mais precoce destas lesões malignas ^{Kim 1999, Msika 1997, Pinto-de-Sousa 2000, Ulrich 1997}.

Como em Portugal não parecem estar reunidas as condições sociais, económicas e até culturais necessárias à implementação de campanhas de rastreio, não é, por isso, previsível que aumente de forma significativa o número de casos diagnosticados e tratados em fases iniciais da sua história natural. Neste contexto, pede-se aos médicos um elevado grau de suspeição clínica e exige-se aos cirurgiões que procurem adquirir experiência suficiente para tratar correctamente o carcinoma do estômago. Parece não restar dúvidas de que o cirurgião intervém de forma decisiva e independente no prognóstico do carcinoma do estômago ^{Siewert 1995}.

As diferentes entidades epidemiológicas, clínicas e patológicas de carcinoma do estômago.

Algumas alterações no padrão epidemiológico do carcinoma do estômago verificadas recentemente vieram relançar a controvérsia relativa à heterogeneidade do carcinoma gástrico. O carcinoma do estômago não deve ser encarado como uma doença única, tanto na investigação, quanto na prática clínica, sob pena de esta atitude conduzir a erros graves.

Os estudos iniciais de Laurén ^{Laurén 1965} introduziram, de forma definitiva, na comunidade médica a noção de que existem dois tipos histológicos de carcinoma do estômago substancialmente distintos – o tipo intestinal e o tipo difuso. Desde as descrições iniciais que os dois tipos histológicos de carcinoma do estômago têm estado associados a aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos distintos e a diferenças significativas da sobrevida dos doentes. Os carcinomas do tipo intestinal surgiriam no contexto de uma sequência de acontecimentos/lesões, de causa multifactorial, hoje em dia perfeitamente definida, graças aos estudos de Correa ^{Correa 1990, Correa 1991}. Resumidamente, a carcinogénese dos carcinomas do tipo intestinal interessaria a passagem sequencial por fases de gastrite crónica atrofica, de metaplasia intestinal incompleta, de displasia e finalmente de carcinoma. O carcinoma gástrico do tipo intestinal ocorreria mais comumente nos doentes do sexo masculino, nos doentes mais idosos e em áreas onde o carcinoma do estômago seria epidémico ^{Laurén 1993}. Por estas razões pensa-se que o carcinoma gástrico do tipo intestinal será, em larga medida, o resultado das agressões de natureza ambiental sobre a mucosa gástrica. A mudança de hábitos dietéticos poderá ter conduzido à redução drástica deste tipo histológico de carcinoma do estômago em vários países. Por seu turno, o carcinoma do tipo difuso não estaria associado à presença de factores ambientais conhecidos, ocorreria mais frequentemente em áreas endémicas de carcinoma gástrico, seria mais comum em doentes do sexo feminino e também em doentes mais jovens, comparativamente ao que sucederia no carcinoma do tipo intestinal. As vias envolvidas na carcinogénese do carcinoma do tipo difuso ainda não são suficientemente conhecidas.

O valor absoluto da classificação de Laurén do carcinoma do estômago não tem sido confirmado de forma universal. Dados de algumas publicações ^{Carneiro 1995, Koseki 2000, Songun 1999} e também da nossa experiência institucional têm motivado uma reavaliação do valor da classificação de Laurén. Por um lado, de acordo com os nossos dados relativos aos doentes tratados no Serviço de Cirurgia 4, não foi possível atribuir valor prognóstico à classificação de Laurén (comunicação pessoal). Por outro lado, a coexistência dos dois componentes, intestinal e difuso, em proporções variáveis no mesmo carcinoma incentivou o aparecimento de classificações alternativas ^{Carneiro 1995, Carneiro 1997}. De acordo com os seus proponentes, a nova classificação seria mais funcional e estaria associada a valor prognóstico independente ^{Carneiro 1995}.

Independentemente da discussão relativa às distintas entidades de carcinoma do estômago com base na classificação de Laurén, a incidência do carcinoma do estômago, considerado na globalidade, tem vindo a diminuir nas últimas décadas, por vezes de forma muito marcada nalguns países ocidentais ^{Blot 1991, Blot 1993, Devesa 1998, Hundahl 1997, Hundahl 2000, Karpeh 2001}. Os resultados disponíveis parecem permitir concluir que a diminuição da incidência do carcinoma do estômago se deve à diminuição do número de casos de carcinoma do antro. Porém, em contraste com a diminuição da prevalência e da incidência do carcinoma do estômago distal no ocidente, tem sido observado um aumento alarmante da incidência e da prevalência do carcinoma da junção esófago-gástrica e até do esófago distal nos últimos anos ^{Blot 1991, Borch 2000, Devesa 1998, Golematis 1990, Hundahl 2000, Powell 1990, Powell 1992, Siewert 1999(a), Siewert 1999(b)}. Entre 1976 e 1987 registou-se “um desvio” proximal dos carcinomas do estômago nos Estados Unidos da América, sendo o aumento anual das lesões mais proximais de 3,6% a 5,6% ^{Blot 1991}. No mesmo período a incidência do adenocarcinoma do

Introdução

estômago distal manteve-se estacionária ou diminuiu ligeiramente ^{Devesa 1998, Siewert 1999(b)}. No período de 1984 a 1987, os carcinomas do cárdia já constituíam 47% dos carcinomas gástricos ^{Powell 1990}.

Na opinião de alguns autores, esta subida dramática da incidência dos carcinomas gástricos proximais, nomeadamente a do carcinoma do cárdia, estaria parcialmente relacionada com diferenças observadas na classificação dos carcinomas da transição esófago-gástrica ^{Percy 1990}. Não há unanimidade em relação à classificação dos carcinomas da transição esófago-gástrica ^{Hennessey 1987, Husemann 1989, Moutinho-Ribeiro 1987, Siewert 1996, Wijnhoven 1999}. Para alguns autores, todos os carcinomas que se originam na proximidade da junção esófago-gástrica deverão ser classificados como carcinomas do esófago e para outros eles são tratados como carcinomas gástricos. Um outro grupo de autores defende que os carcinomas da transição esófago-gástrica deverão ser entendidos como uma entidade separada, quer dos carcinomas do esófago, quer dos carcinomas do estômago. Esta confusão é devida em parte à localização deste grupo de carcinomas numa zona anatómica de transição entre o esófago e o estômago e ainda pelo uso ambíguo da expressão "carcinoma do cárdia" ^{Siewert 1999(b)}. É verdade que alguma ambiguidade ainda permanece, apesar da tendência para o consenso na definição dos carcinomas da transição esófago-gástrica ^{Siewert 1996}, mas os dados epidemiológicos apontam um aumento real da taxa de incidência do carcinoma desta região anatómica. Este aumento do número de casos de carcinomas da transição esófago-gástrica poderá ser a tradução de alterações na prevalência dos factores de risco para este carcinoma ^{Devesa 1998}. O aumento observado na incidência e na prevalência dos carcinomas de localização mais proximal poderá estar na dependência da melhor preservação dos alimentos, da diminuição da incidência da infecção pelo *Helicobacter pylori* ou de ambas ^{Siewert 1999(b)}. Segundo alguns autores ^{Chow 1998, Lagergren 1999}, o aumento da massa corporal das pessoas e o consumo exagerado de calorias, reflectidos na crescente prevalência da obesidade nos Estados Unidos da América, são factores que poderiam estar associados com o aumento do número de carcinomas do cárdia. A doença do refluxo gastro-esofágico e o consumo de tabaco e de álcool ^{Devesa 1998, Gray 1993, Kabat 1993, Lagergren 2000} são outros factores que poderão também estar implicados neste aumento da incidência do carcinoma do cárdia.

As mudanças no padrão epidemiológico referidas anteriormente relançaram a questão da influência da localização no prognóstico do carcinoma do estômago. A controvérsia acerca das diferenças nas características clínico-patológicas e no comportamento biológico do carcinoma gástrico originado nas diferentes localizações ainda se mantém. A sobrevida cumulativa tem variado de acordo com a localização tumoral e muitos autores concordam que os carcinomas gástricos distais têm melhor prognóstico ^{Ajani 1995, Craanen 1992, Golematis 1990, Maehara 1991}. Em relação aos carcinomas proximais não foi ainda possível obter um consenso e, assim, enquanto alguns autores afirmam, de forma indiscutível, que o carcinoma gástrico proximal é mais agressivo ^{Ajani 1995, Blot 1991, Craanen 1992, Golematis 1990, Graham 1998, Kim 1999, Maehara 1991, Yonemura 1994}, outros estudos indicam que, desde que os ajustamentos necessários sejam tidos em conta, os carcinomas gástricos têm um prognóstico semelhante, o qual depende essencialmente do estadió ^{Siewert 1995}. Acresce que poucos estudos se têm debruçado especificamente sobre os carcinomas localizados no terço médio do

estômago, cuja caracterização epidemiológica, clínica e patológica ainda não é, na nossa opinião, suficientemente conhecida.

Numa tentativa de procurar contribuir para a clarificação da influência da localização no perfil clínico-patológico e no prognóstico do carcinoma do estômago realizamos este estudo que compara as diversas características dos carcinomas do estômago nas três localizações: cárdia, fundo/corpo e antro. A opção por esta classificação em carcinomas do cárdia, do fundo/corpo e do antro prende-se com diferenças morfológicas da mucosa gástrica nestas três localizações e ainda com alguma evidência prévia de diferenças de incidência e de comportamento biológico dos carcinomas originados nessas localizações. Prestou-se atenção particular aos carcinomas do fundo/corpo, que têm sido menos estudados em trabalhos anteriores.

A hipótese testada neste estudo foi a seguinte: se os carcinomas do estômago se originam em mucosas gástricas diferentes, então eles deverão também ter características clínico-patológicas e prognósticos diferentes. Por outras palavras, o estudo pretendeu investigar a possibilidade de definir entidades clínico-patológicas distintas com base nas três localizações consideradas. A documentação de entidades clínico-patológicas distintas de carcinoma do estômago só ficaria definida com a observação de diferenças significativas na expressão de marcadores de diferenciação tumoral e nos de agressividade biológica nas três localizações. De entre as múltiplas opções de estudo, a nossa escolha recaiu nas mucinas para avaliar a diferenciação tumoral e no *c-erb B-2* para marcar a agressividade biológica dos carcinomas. De acordo com os resultados de alguns estudos ^{Lee 1998, Maehara 1999} e também com os resultados preliminares de uma série pequena avaliada pelo nosso grupo (dados não publicados), mas ao contrário dos resultados observados por outros autores ^{Fléjou 1999, Tolbert 1999}, não se verificaram diferenças significativas na expressão de p53 nas três localizações. Por este motivo, elegemos o *c-erb B-2* para avaliar a agressividade tumoral neste trabalho.

As mucinas como indicadores de diferenciação tumoral no carcinoma gástrico

As mucinas são glicoproteínas caracterizadas por uma massa molecular elevada ($>2 \times 10^6$ Da), por um alto conteúdo em carboidratos (50-80% da sua massa) e por uma grande heterogeneidade que envolve tanto a apomucina, isto é a proteína de suporte, quanto as cadeias oligosacarídeas. A maioria dos glicanos nas mucinas estão ligadas em ligações-O à serina e/ou treonina através da ligação açúcar N-acetilgalactosamina ^{Carvalho 1999, Gendler 1995}.

Introdução

As glicoproteínas do tipo-mucinas estão distribuídas amplamente na natureza, mas são melhor conhecidas as mucinas das espécies de mamíferos. Apesar de as mucinas terem sido definidas inicialmente como glicoproteínas altamente glicosiladas que formam o principal componente proteico do muco e que são segregadas pelas células epiteliais especializadas, o termo mucina utiliza-se actualmente de uma forma mais lata para designar a família heterogénea de glicoproteínas O-ligadas.

Actualmente, graças a estudos genéticos, imunológicos e bioquímicos, é possível classificar as mucinas em dois grupos: mucinas epiteliais e mucinas não epiteliais. As mucinas epiteliais podem, por seu turno, ser classificadas em dois subgrupos essenciais: mucinas ligadas à membrana celular e mucinas segregadas. As mucinas ligadas à membrana celular possuem um domínio transmembranar. As mucinas segregadas podem ainda ser divididas em dois subgrupos: mucinas formadoras de gel e as mucinas não formadoras de gel. As mucinas segregadas formadoras de gel constituem o muco viscoso que recobre a maior parte das mucosas respiratórias, gastrointestinais e genitourinárias. O muco tem várias funções fisiológicas importantes, nas quais se incluem a manutenção da viscosidade e a protecção contra os mecanismos patogénicos, como por exemplo, a agressão mecânica e química das enzimas proteolíticas e de valores extremos de pH Devine 1993, Gendler 1995, Kim 1995, Kim 1996, Lesuffleur 1994, Taylor 1988.

O estômago é um órgão do tubo digestivo com características muito próprias. O epitélio gástrico está quase sempre exposto a valores de pH inferiores ou iguais a 2. Tem sido avançado que a camada de gel de mucinas que recobre o epitélio do estômago pode constituir um dos mecanismos que funciona como barreira protectora da difusão do ácido clorídrico luminal Strous 1992. As mucinas são as glicoproteínas de baixo peso molecular que constituem o componente major da camada mucosa que protege o epitélio gástrico das agressões químicas e mecânicas. No ser humano já foram identificadas pelo menos 12 genes de mucinas que codificam as proteínas das mucinas. As mucinas são designadas por MUC1 Gendler 1990, Lan 1990, MUC2 Gum 1989, MUC3 Gum 1990, MUC4 Porchet 1991, MUC5AC Aubert 1991, Guyonnet-Duperat 1995, MUC5B Dufosse 1993, MUC6 Toribara 1993, MUC7 Bobek 1993, MUC8 Shankar 1997, MUC9 Lapensee 1997, MUC11 e MUC12 Williams 1999. Como já foi referido, as mucinas partilham o facto de terem um domínio repetitivo, em cadeia, que é rico em resíduos de serina e de treonina. Estes resíduos de aminoácidos são locais de potencial O-glicosilação para a ligação de cadeias O-glican que constituem 80% do peso molecular da proteína da mucina final Gendler 1995.

Os genes das mucinas são expressos de uma forma cito-específica e histo-específica regulada. O estômago constitui um bom exemplo desta expressão diferencial dos genes das mucinas. O MUC1 é detectado nas células mucosas da superfície do epitélio e na região do colo do antro do estômago, bem como nas glândulas pilóricas e nas glândulas oxínticas da região do corpo Ho 1993, Ho 1995, Reis 1998(a). O MUC5AC é expresso de forma significativa (abundante) no epitélio foveolar tanto do corpo gástrico quanto do antro Audie 1993, DeBolós 1995, Ho 1995, Reis 1997. A expressão da proteína MUC6 está limitada às células do colo do corpo e às glândulas pilóricas do antro Bartman 1998, Byrd 1997, DeBolós 1995, Ho 1995, Reis 2000.

O padrão de expressão das mucinas no carcinoma do estômago é heterogéneo: inclui mucinas expressas normalmente na mucosa gástrica (MUC1, MUC5AC, e MUC6) e inclui também a expressão “de novo” da mucina intestinal MUC2 ^{Baldus 1998, Carrato 1994, Ho 1993, Reis 1998(a), Reis 2000, Sakamoto 1997, Utsunomiya 1998}. Estas observações sugerem que o reportório das mucinas segregados pelas células do carcinoma do estômago está intimamente associado com o seu programa de diferenciação. Deste modo, o padrão de expressão das mucinas pode adicionar novos dados acerca das vias de diferenciação dos carcinomas gástricos.

Um padrão de expressão heterogéneo das mucinas pode constituir um instrumento importante para o esclarecimento do comportamento biológico das possíveis entidades clínico-patológicas relacionadas com a localização do carcinoma gástrico, isto é, carcinomas proximais e distais.

A expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago

O prognóstico do carcinoma do estômago depende de vários parâmetros clínicos e patológicos, tais como a invasão da parede do estômago, a invasão ganglionar e a metastização sistémica ^{Allgayer 1997, Adachi 1994, Adachi 1998, Folli 2001, Fuji 1999, Harrison 1995, Ichikura 1999, Ishida 1997, Marubi 1993, Maruyama 1989, Mendes de Almeida 1999, Mueller 2000, Namieno 1996, Noguchi 1996, Oliveira 1999, Pinto de Sousa 2001(a), Pinto de Sousa 2001(b), Roder 1993, Sánchez-Bueno 1998, Siewert 1993, Siewert 1996(a), Siewert 1997, Siewert 1998, Siewert 1999(a), Siewert 1999(b), Yu 1997}. No entanto, é sabido que carcinomas com características clínicas e patológicas semelhantes podem apresentar evolução clínica distinta, o que parece sugerir que algumas propriedades biológicas dos tumores podem condicionar a sua agressividade. Variadas alterações genéticas têm sido estudadas no carcinoma gástrico, incluindo alterações do p53, do CD44, do uAP, do *c-met*, do PDGF-A, do *c-erb B-2* e também a Instabilidade de Microssatélites ^{Craanen 1999, Duhaylongsod 1995, Gleeson 1996, Gleeson 1998, Hayden 1997, Ireland 2000, Kim 1997, Katano 1998, Kyokane 1998, Maehara 1999, Nakajima 1999, Nakamura 1997, Nakata 1998, Okusa 1999, Roviello 1999, Santos 1996, Saito 1998, Seruca 1995, Steele 1998, Yokota 1986, Yoo 1999, Younes 1997}.

O gene humano HER2/*neu* ^{Coussens 1985} ou *c-erb B-2* está localizado no cromossoma 17q12-q21.32 ^{Coussens 1985, Popescu 1989} e codifica um receptor tirosina quinase ^{Akiyama 1986, Schechter 1985} com muita homologia com o receptor do factor de crescimento epidérmico. O ligando *c-erb B-2* tem sido descrito como sendo o *novo* factor de diferenciação heregulin ^{Holmes 1992}.

A amplificação do gene com expressão aumentada da proteína é a anomalia do *c-erb B-2* mais comumente detectada no cancro ^{King 1985, Yokota 1986}. O *c-erb B-2* é expresso em carcinomas das glândulas salivares ^{Cohen 1989}, do ovário ^{Slamon 1989}, da mama ^{Slamon 1987}, do cólon ^{Cohen 1989} e do estômago ^{Park 1989, David 1992}. No carcinoma da mama, a expressão de *c-erb B-2* foi observada em 34% dos casos ^{Heintz 1990} e tem sido considerada um marcador molecular com valor prognóstico ^{Duffy 2001, Mokbel 2001, Tervahauta 1991}, o que permitiu a

Introdução

introdução de novas terapêuticas anti *c-erb B-2* tais como o trastuzumab (Herceptin) ^{Bell 2001, Diaz 2001, Duffy 2001, Mokbel 2001, Piccart 2001}

No carcinoma do estômago, a amplificação do gene *c-erb b-2* e a expressão da proteína têm sido descritas numa pequena percentagem de casos (10 a 16%) ^{Gurel 1999, Nakajima 1999, Orita 1997, Tsugawa 1998, Yoneumra 1998}, ainda que essa percentagem seja mais elevada nos carcinomas gástricos do tipo intestinal de Laurén ^{Dursum 1999, Nakajima 1999, Pollowski 1999}

A influência na sobrevida e o valor prognóstico do *c-erb B-2* no carcinoma do estômago ainda não está definitivamente estabelecida. De acordo com vários estudos, o *c-erb B-2* deve ser considerado um factor de prognóstico ^{Albino 1995, Nakajima 1999, Orita 1997, Tsugawa 1998, Yonemura 1998}, enquanto que, segundo outros trabalhos, o *c-erb B-2* não influencia de forma significativa a sobrevida dois doentes com carcinoma do estômago ^{Amadori 1997, Gurel 1999, Ortolani 1993, Pollowski 1999}

A literatura é muito escassa em relação às diferenças de expressão de *c-erb B-2* nas três localizações. Por isso cremos ser importante investigar se as eventuais diferenças de expressão de *c-erb B-2* contribuiriam para a interpretação do comportamento biológico das diferentes entidades de carcinoma do estômago, nomeadamente as baseadas na localização tumoral.

Apesar de todos os avanços conseguidos na compreensão do carcinoma do estômago, pensamos que muitas questões ainda não foram respondidas. A importância desta doença, que é um grave problema de saúde pública e que se comporta biologicamente de modo muito agressivo, exige que o carcinoma do estômago continue a ser um alvo privilegiado de investigação clínico-patológica.

Objectivos

A influência da localização tumoral no comportamento biológico dos carcinomas do estômago ainda permanece envolta nalguma controvérsia. Isto é, ainda não é aceite de forma universal que o comportamento biológico do carcinoma gástrico seja diferente de acordo com a localização tumoral.

Neste estudo os carcinomas foram classificados em três grupos: cárdia, fundo/corpo e antro. A nossa divisão dos carcinomas do estômago baseou-se nas diferentes características morfológicas da mucosa gástrica nas três localizações e nos indícios de diferentes incidências e comportamentos biológicos dos carcinomas com origem nessas mucosas.

A hipótese testada neste estudo foi a seguinte: se os carcinomas do estômago se originam em “mucosas gástricas diferentes”, então eles deverão também ter características clínico-patológicas e prognósticos diferentes. O objectivo central do estudo prende-se com a possibilidade de demonstrar diferentes perfis clínico-patológicos e prognósticos diferentes do carcinoma do estômago em função da localização.

Se a hipótese colocada fosse provada, os carcinomas gástricos nas diversas localizações deveriam apresentar diferentes padrões de expressão de marcadores de diferenciação tumoral (as mucinas).

Ainda de acordo com a hipótese formulada, a agressividade biológica dos carcinomas seria de igual modo diferente nas diversas localizações.

O estudo foi elaborado em três etapas sequenciais com o objectivo de testar e validar a hipótese. Na primeira etapa definiu-se o perfil clínico-patológico e o prognóstico do carcinoma do estômago de acordo com a localização. Na segunda etapa pretendeu-se avaliar o padrão de expressão das mucinas, marcadores de diferenciação tumoral, no carcinoma do estômago. Na terceira etapa procurou-se contribuir para a definição do padrão de expressão do *c-erb B-2*, marcador de agressividade biológica, no carcinoma do estômago.

Cada uma das três etapas foi estruturada e concretizada com a intenção de atingir objectivos parcelares, os quais seriam depois integrados numa perspectiva global para responder à questão fulcral colocada.

Objectivos

Definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico de acordo com a localização do carcinoma

O estudo dos parâmetros clínicos e patológicos dos doentes com carcinoma do estômago procurou conduzir à obtenção dos seguintes objectivos:

- a) Definição do perfil clínico e patológico do carcinoma gástrico de acordo com a localização tumoral.
- b) Comparação das características clínico-patológicas do carcinoma do estômago nas três localizações.
- c) Caracterização dos carcinomas em localizações menos estudadas (terço médio).
- d) Comparação da sobrevida dos doentes com carcinoma gástrico nas três localizações.
- e) Identificação dos parâmetros com influência na sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago, globalmente e também em cada uma das três localizações.
- f) Identificação dos factores de prognóstico do carcinoma do estômago em cada uma das localizações.
- g) Caracterização de eventuais entidades clínico-patológicas do carcinoma do estômago, de acordo com a localização tumoral.

A expressão das mucinas no carcinoma do estômago

O estudo imunohistoquímico da expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 nos casos de carcinoma do estômago procurou contribuir para o esclarecimento de algumas questões:

- a) Definição do perfil de expressão das diferentes mucinas nos carcinomas do estômago.
- b) Relação do padrão de expressão de mucinas com o perfil de diferenciação do carcinoma gástrico.
- c) Associação do padrão de expressão das mucinas com o comportamento clínico-patológico do carcinoma do estômago.
- d) Avaliação da influência do padrão de expressão das mucinas na sobrevida e no prognóstico do carcinoma do estômago.
- e) Correlação do padrão de expressão das mucinas com a localização dos carcinomas (cárdia, fundo/corpo e antro).

A expressão do c-erb B-2 no carcinoma do estômago

O estudo imunohistoquímico da expressão de c-erb B-2 procurou contribuir para o melhor conhecimento de alguns aspectos importantes:

- a) Frequência da sobre-expressão do c-erb B-2 no carcinoma do estômago.
- b) Avaliação da associação da expressão do c-erb B-2 com os vários parâmetros clínico-patológicos.
- c) Associação da expressão do c-erb B-2 com os diferentes tipos histológicos do carcinoma do estômago.
- d) Influência da expressão de c-erb B-2 no prognóstico do carcinoma do estômago.
- e) Associação da expressão de c-erb B-2 com as eventuais entidades clínico-patológicas de carcinoma do estômago.

A concretização dos objectivos apresentados e a interligação dos resultados observados nas três etapas deste trabalho procurarão contribuir para o melhor conhecimento das características clínico-patológicas, da diferenciação tumoral e da agressividade biológica das diferentes entidades de carcinoma do estômago.

Objetivos

Material e métodos

No Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João, 326 doentes com carcinoma do estômago ou do cárdia foram submetidos a cirurgia de ressecção entre Janeiro de 1984 e Dezembro de 1996.

Todos os doentes apresentavam adenocarcinoma documentado nas peças de ressecção cirúrgica. Os doentes com carcinomas envolvendo extensamente o estômago, isto é, envolvendo mais de dois terços do estômago (n=10) e os carcinomas do coto gástrico (n=14) foram excluídos do estudo.

Os 302 doentes com carcinoma do estômago ou do cárdia seleccionados constituíram a amostra de base do nosso trabalho, a partir da qual foram constituídos os subgrupos (de casos/carcinomas/doentes) avaliados nas diversas etapas do estudo.

Os casos foram divididos em três grupos de acordo com a localização dos carcinomas: cárdia, fundo/corpo e antro. O estudo apresentado neste trabalho dividiu-se em três fases sequenciais: **1) a definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico de acordo com a localização do carcinoma; 2) a expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 no carcinoma do estômago; e 3) a expressão de c-erb B-2 no carcinoma gástrico.**

Cada uma das etapas decorreu de acordo com metodologia própria que será explanada separadamente. No entanto, alguns aspectos comuns, nomeadamente os que dizem respeito a aspectos técnicos, tais como as técnicas de imunohistoquímica, ou a análise estatística dos resultados, serão descritos progressivamente de forma mais sintética.

Definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico de acordo com a localização do carcinoma

Os 302 casos seleccionados para esta primeira fase do estudo foram classificados de acordo com a localização em três grupos: 1º grupo - carcinomas do cárdia (n=80); 2º grupo - carcinomas do fundo e corpo do estômago (n=60); 3º grupo - carcinomas do antro gástrico (n=162).

Material e Métodos

Os carcinomas foram considerados do cárdia de acordo com a classificação proposta por Siewert e Stein ^{Siewert 1996(b), Siewert 1998}. Os casos localizados no terço superior e médio do estômago foram considerados carcinomas do fundo/corpo. Os carcinomas classificados como carcinomas do antro referem-se aos tumores localizados no terço distal do estômago.

Os doentes com carcinomas dos tipos II e III da junção esófago-gástrica ^{Siewert 1996(b), Siewert 1998}, isto é, os doentes com carcinomas juncionais e com carcinomas subcárdicos, foram submetidos a gastrectomia total alargada ao esófago distal e ao baço, através de uma incisão de toracofrenolaparotomia esquerda. Os doentes com carcinomas da junção esófago-gástrica do tipo I ^{Siewert 1996(b), Siewert 1998}, também denominados adenocarcinomas do terço inferior do esófago, foram tratados por ressecção esofágica e do cárdia. Os doentes com carcinomas do fundo/corpo foram tratados por gastrectomia total (alargada ao baço nos casos de carcinoma do fundo) por via abdominal. Os doentes com carcinoma localizado no antro foram submetidos a gastrectomia distal; nos casos de carcinoma do antro com células isoladas foi realizada gastrectomia total. Nos carcinomas do fundo/corpo e nos do antro procedeu-se à linfadenectomia dos grupos ganglionares N1 e N2. Nos carcinomas do cárdia procedeu-se à exérese dos grupos ganglionares N1 e N2 e também à linfadenectomia dos gânglios do mediastino inferior.

Nesta fase do estudo foram avaliados em cada uma das localizações os vários parâmetros clínicos e patológicos indicados no quadro 1.

Os casos foram classificados em três categorias no que se refere à idade dos doentes: idade inferior a 40 anos; idade compreendida entre os 40 e os 65 anos; e idade superior a 65 anos.

Após fixação em formol, os carcinomas foram classificados em dois grupos de acordo com o maior diâmetro: maior eixo inferior ou igual a 5 cm; maior eixo superior a 5 cm.

Em relação à forma macroscópica foram considerados os seguintes carcinomas: vegetantes e úlcero-vegetantes; ulcerados e úlcero-infiltrativos; e infiltrativos.

De acordo com a classificação do carcinoma gástrico proposta por Laurén ^{Laurén 1965}, os casos foram classificados em intestinais, difusos e inclassificáveis (ou mistos). Os carcinomas foram classificados em glandulares, de células isoladas, sólidos e mistos no que se refere à classificação proposta por Carneiro e colaboradores ^{Carneiro 1995}. De acordo com a classificação definida por Ming ^{Ming 1977}, os carcinomas foram classificados em expansivos, em infiltrativos e em inclassificáveis.

A variável desmoplasia foi considerada em duas categorias: ausente/mínima e moderada/abundante.

Quadro 1. Parâmetros clínicos e patológicos do carcinoma do estômago

Sexo
Idade
Tamanho do carcinoma
Forma macroscópica
Classificação de Laurén
Classificação de Ming
Classificação de Carneiro e col.
Desmoplasia
Invasão venosa
Grau de penetração na parede
Metastização ganglionar
Estadio (TNM)
Mortalidade per-operatória
Sobrevida cumulativa

De acordo com o grau de penetração na parede os carcinomas foram classificados em: pT1 (carcinomas limitados à mucosa ou à submucosa); pT2 (invasão da muscular própria ou da subserosa); pT3 (invasão da serosa); pT4 (invasão de tecidos ou órgãos adjacentes).

O estado dos gânglios linfáticos foi classificado de acordo com a ausência ou com a presença de metástases. Ainda em relação à metastização ganglionar em cada uma das localizações foram também analisadas o número médio de gânglios estudados, o número médio de gânglios invadidos e a relação entre os gânglios invadidos e os gânglios estudados.

Os carcinomas foram estadiados de acordo com o sistema de estadiamento do TNM da UICC. Foram utilizadas no estadiamento as duas últimas versões do TNM: a versão de 1992^{Hermanek 1992}, revista em 1993^{Hermanek 1993} (estadiamento "antigo"), e a versão de 1997^{Sobin 1997} (estadiamento "actual"). De acordo com as referidas versões da classificação TNM da UICC, os carcinomas foram classificados em estadio IA, IB, II, IIIA, IIIB e IV. Resumidamente, o estadiamento "antigo" classifica a metastização ganglionar de acordo com critérios topográficos, isto é: N0 – ausência de metastização ganglionar; N1 – metastização nos gânglios do grupo N1 (gânglios linfáticos situados a uma distância inferior ou igual a 3 cm do tumor); N2 – metastização em gânglios do grupo N2 (gânglios linfáticos localizados a mais de 3 cm do tumor, ou ao longo dos ramos do tronco celíaco); N3 e N4 – metastização em gânglios do grupo N3 e N4 (M1) (gânglios linfáticos a partir do ligamento hepatoduodenal). O estadiamento "actual" define as categorias da metastização ganglionar de acordo com o número de gânglios linfáticos metastizados, independentemente da sua localização topográfica: N0 – ausência de metastização ganglionar; N1 (1 a 6 gânglios metastizados); N2 (7 a 15 gânglios metastizados); N3 (mais de 15 gânglios metastizados).

A invasão vascular venosa foi avaliada em secções histológicas coradas pela orceína e os casos foram classificados em carcinomas sem invasão vascular venosa e em carcinomas com invasão vascular venosa.

Material e Métodos

A mortalidade operatória foi definida como a percentagem de doentes falecidos nos primeiros 60 dias após a intervenção cirúrgica em relação ao número total de doentes submetidos a cirurgia de ressecção.

Os valores relativos à sobrevida dos doentes foram obtidos a partir do Registo Oncológico do Hospital de S. João e dos Registos da Unidade de Cirurgia Esófago-Gástrica do Serviço de Cirurgia 4 do H. S. João. Foi possível obter informação correcta acerca do "follow-up" de 97% dos doentes gastrectomizados. A sobrevida cumulativa dos doentes operados foi avaliada para cada um dos parâmetros em análise nas três localizações dos carcinomas.

Os resultados são expressos em média, mediana, desvio padrão e proporções. As médias foram comparadas pelo teste t de Student. A variância foi comparada pelo método Anova. As proporções foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. As curvas de sobrevida cumulativa foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier^{Kaplan 1958} e as diferenças pesquisadas pelos testes de Breslow e log rank. A identificação dos factores de prognóstico para os carcinomas em cada localização foi pesquisada pelo modelo de Cox^{Cox 1972}. Foi escolhido para entrar no modelo o melhor grupo de variáveis, ou parâmetros, que pudesse explicar o prognóstico dos tumores. O melhor grupo compreendia a idade, o sexo, o pT (progressão do tumor na parede), o pN (metastização ganglionar), o estadio (pTNM) e a invasão venosa. Não foram incluídos como covariantes na regressão de Cox parâmetros de interpretação subjectiva (classificações de Laurén, de Ming e de Carneiro e colaboradores), parâmetros de interpretação difícil (forma macroscópica e desmoplasia) ou parâmetros com um número relativamente elevado de "missings" (estadio "actual").

Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

A expressão das mucinas no carcinoma do estômago

Nesta segunda fase da nossa investigação foi estudada a expressão das mucinas na avaliação da diferenciação e do comportamento clínico-biológico do carcinoma do estômago. As mucinas escolhidas como marcadores de diferenciação do carcinoma do estômago foram as seguintes: MUC1; MUC2; MUC5AC; e MUC6. Para esta fase do trabalho foram seleccionados 94 dos 302 casos identificados e estudados na primeira fase do estudo (definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico de acordo com a localização do carcinoma), dos quais foi retirada uma amostra representativa dos blocos de parafina.

Os casos seleccionados, que se referem a doentes submetidos a gastrectomia entre Janeiro de 1984 e Dezembro de 1996, foram igualmente classificados em três grupos, de acordo com a localização dos carcinomas: **cárdia (n=22); fundo/corpo (n=25); e antro (n=47).**

Os carcinomas foram divididos de acordo com as classificações de Laurén^{Laurén 1965}, de Ming^{Ming 1977} e da O.M.S.^{Watanabe 1990}. Foram também analisados os seguintes parâmetros: tamanho, penetração do tumor na parede digestiva, metastização ganglionar e invasão venosa. Nesta fase do estudo foi utilizada a versão actual da UICC^{Sobin 1997} para o estadiamento dos carcinomas do cárdia e do estômago.

Quadro 2. Mucinas estudadas e anticorpos monoclonais específicos

MUC1 – HMFG1 (Reis, Taylor-Papadimitriou)
MUC1 infraglicosilado – SM3 (Reis)
MUC2 – PMH1 (Reis)
MUC5AC – CLH2 (Reis)
MUC6 – CLH5 (Reis)

A expressão do MUC1, MUC2, MUC5AC e do MUC6 foi estudada por imunohistoquímica com a utilização de anticorpos monoclonais (Quadro 2). Na pesquisa da imunorreactividade para o MUC1 foram utilizados os anticorpos monoclonais HMFG1 e SM3. O anticorpo monoclonal HMFG1 reage com a mucina MUC1 completamente glicosilada^{Taylor-Papadimitriou 1981}, enquanto que o anticorpo SM3 reage apenas com as formas infraglicosiladas do MUC1^{Burchell 1989}. O anticorpo monoclonal PMH1 foi utilizado na pesquisa do MUC2^{Reis 1998(b)}. O anticorpo monoclonal CLH2 foi utilizado na pesquisa do MUC5AC^{Reis 1997} e o anticorpo CLH5 na pesquisa do MUC6^{Reis 2000}.

As secções retiradas dos blocos de parafina eram representativas do carcinoma e foram coradas pelo complexo avidina-biotina de acordo com a técnica descrita por Hsu^{Hsu 1981, Reis 1997}. As secções dos blocos de parafina foram desparafinadas e re-hidratadas, e as secções seleccionadas para a análise pelo anticorpo monoclonal PMH1 (MUC2) foram submetidas ao tratamento com Neuraminidase. Resumidamente, as secções foram incubadas com Neuraminidase (do *Clostridium perfringens* Tipo VI Sigma; St. Louis, MO) diluída em tampão Na-acetato, pH 5,5, a 0,1 M, para uma concentração final de 0,1U/ml. A incubação processou-se durante duas horas a uma temperatura de 37 graus centígrados e foi seguida de três lavagens em água gelada. As secções foram seguidamente tratadas com peróxido de hidrogénio a 0,3% em metanol durante 30 minutos, para bloquear a peroxidase endógena, seguida de incubação com soro normal durante 20 minutos. De seguida, as secções foram lavadas em TBS ("Tris-buffered saline") e incubadas a 4 graus centígrados durante uma noite com os anticorpos primários. As secções foram também lavadas e incubadas com anticorpo secundário de coelho anti-rato marcado com biotina, diluído 1:200 em TSB durante 30 minutos. As lâminas foram seguidamente lavadas e incubadas durante uma hora com complexo avidina-biotina-peroxidase. As secções foram lavadas e coradas durante 7 minutos com 3,3diaminobenzidinetetrahydroclorido a 0,05% (DAB) preparado de fresco em tampão Tris/hidroximetilaminometrano pH 7,6, 0,05 M contendo peróxido de hidrogénio a 0,1%. As secções foram contrastadas com hematoxilina, desidratadas e montadas. Todas as séries incluíram controlos positivos. Os controlos negativos foram realizados com a utilização isolada do anticorpo secundário.

Material e Métodos

Os casos foram classificados qualitativamente de acordo com a imunoreactividade para cada uma das mucinas em negativos (sem imunoreactividade ou com imunoreactividade num número reduzido de células - menos de 5% das células) e positivos (imunoreactividade em mais de 5% das células).

À semelhança do que havia sucedido na primeira fase do estudo, também nesta, os dados relativos ao "follow-up" dos doentes foram obtidos a partir do Registo Oncológico do Hospital de S. João e dos Registos da Unidade de Cirurgia Esófago-Gástrica do Serviço de Cirurgia 4 do H. S. João, do Registo Oncológico do Hospital de S. João e de dados da Consulta Externa de Cirurgia do hospital de S. João. Foi possível obter informações acerca do "follow-up" de todos os doentes incluídos nesta etapa do estudo.

Na análise estatística dos resultados desta etapa do estudo foram utilizados os programas de computador StatView 5.0 e SPSS 9.0 para Windows. As diferenças na distribuição foram comparadas pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste de Fisher, sempre que aplicável. A sobrevida cumulativa foi calculada pelo método de Kaplan-Meier e as diferenças entre as curvas foram estudadas pelo teste log rank.

Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

A expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago

Nesta fase da investigação procedeu-se ao estudo imunohistoquímico da expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago. Foram avaliados retrospectivamente 157 fragmentos de peças de ressecção cirúrgica representativas de carcinomas gástricos. Estes doentes foram submetidos a gastrectomia por carcinoma no Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João, entre Janeiro de 1988 e Dezembro de 1995.

Os fragmentos de tecido foram fixados em formalina e embebidos em parafina.

Foram estudados os seguintes parâmetros: idade; sexo; localização do carcinoma; tamanho do tumor e forma macroscópica. As secções coradas pela hematoxilina e eosina foram usadas para classificar os carcinomas de acordo com a classificação de Laurén^{Laurén 1965} e com a de Carneiro e colaboradores^{Carneiro 1995}. O padrão de crescimento foi classificado de acordo com a classificação de Ming^{Ming 1977}. As secções coradas pela orceína foram utilizadas na pesquisa da invasão vascular venosa. Foram também estudados os seguintes parâmetros: penetração do carcinoma na parede digestiva; invasão linfática; estadió TNM patológico^{Sobin 1997}; e sobrevida cumulativa.

Em relação à idade os doentes foram classificados em três grupos: menos de 40 anos; entre 40 e 65 anos; e mais de 65 anos. Os carcinomas foram classificados em três grupos de acordo com a localização,

segundo critérios definidos na 1^o fase do estudo: cárdia (n=42); fundo/corpo (32); e antro (83). De acordo com o diâmetro máximo, os tumores foram divididos em dois grupos: diâmetro inferior ou igual a 5 cm; e diâmetro superior a 5 cm. Os carcinomas foram divididos, segundo a forma macroscópica, em vegetantes ou úlcero-vegetantes, em ulcerados ou úlcero-infiltrantes e em infiltrantes. De acordo com a classificação de Laurén ^{Lauren 1965}, os carcinomas foram divididos em tipo intestinal, tipo difuso e mistos (ou inclassificáveis). O crescimento dos carcinomas foi considerado como expansivo ou como infiltrativo, de acordo com a classificação de Ming ^{Ming 1977}. Em relação à classificação proposta por Carneiro e colaboradores ^{Carneiro 1995}, os carcinomas foram divididos como glandulares, como de células isoladas, como sólidos e como mistos. A invasão venosa foi pesquisada pela coloração com orceína e os casos foram classificados, à semelhança das fases anteriores do estudo, em carcinomas sem invasão venosa e em carcinomas com invasão venosa.

No que se refere à progressão do carcinoma na parede digestiva, os carcinomas foram classificados em pT1 (quando invadiam apenas a mucosa ou a submucosa), em pT2 (quando invadiam a muscular própria ou inclusivamente a subserosa), em pT3 (quando invadiam a camada serosa) e em pT4 (quando invadiam estruturas ou órgãos adjacentes ao estômago). A metastização ganglionar foi classificada não só como ausente ou presente mas também em N1, N2 e N3, de acordo com as normas definidas pela revisão de 1997, 5^a edição, da UICC para o estadiamento pTNM dos carcinomas do estômago ^{Sobin 1997}. O estadiamento dos carcinomas foi definido pelas regras da UICC de 1997 ^{Sobin 1997} em seis grupos: IA; IB; II; IIIA; IIIB; e IV.

No estudo imunohistoquímico da expressão de *c-erb B-2* foram utilizadas secções retiradas de material fixado em formalina e embebido em parafina, utilizando técnicas standardizadas. As secções cortadas a 4 µm de espessura foram montadas em lâminas revestidas com gelatina (Merck, Merck KgaA, Darmstadt, Germany) e sulfato potássico de crómio (III) 12-hidrato (Merck, Merck KgaA, Darmstadt Germany), secas durante uma noite a 37^o C e desparafinadas com xilol. A peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogénio a 3% em metanol durante 10 minutos. As secções foram submetidas a bloqueio protéico com um soro específico (Ultraviosn block, Lab Vision Corporation, Fremont, CA, USA) e incubadas com o anticorpo primário diluído 1:80, durante 30 minutos à temperatura ambiente (Rabbit Anti-Human *c-erb B-2* oncoprotein, DAKO-A 0485, DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA). A exposição do antigénio realizou-se usando uma solução da Vector, durante 30 minutos a 98^o C e, seguidamente, durante 5 minutos à temperatura ambiente. Os outros passos da coloração seguiram o protocolo standardizado de um "Lab Vision Autostainer" (Lab Vision Corporation, Fremont, CA, USA) com um "kit" específico baseado no método da streptavidina-biotina-peroxidase. As secções foram contrastadas com hematoxilina de Mayer, desidratadas, e montadas. Em cada etapa foram utilizados controlos negativos e positivos.

Os casos foram classificados qualitativamente em dois grupos de acordo com a imunoreactividade para o *c-erb B-2*: negativos (sem expressão de *c-erb B-2*) e positivos (com expressão de *c-erb B-2* na membrana basal das células neoplásicas).

Material e Métodos

À semelhança do que havia sucedido na primeira e também na segunda fase do estudo, os dados relativos ao "follow-up" dos doentes foram obtidos a partir Registo Oncológico do Hospital de S. João e dos Registos da Unidade de Cirurgia Esófago-Gástrica do Serviço de Cirurgia 4 do H. S. João. Foi possível obter informações acerca do "follow-up" de todos os doentes incluídos nesta terceira etapa do estudo. A sobrevida cumulativa foi analisada em função dos vários parâmetros clínico-patológicos do carcinoma do estômago e ainda da imunorreactividade para o *c-erb B-2*.

Na análise estatística dos resultados desta etapa do estudo foram utilizados os programas de computador StatView 5.0 e SPSS 9.0 para Windows. As diferenças na distribuição foram comparadas pelo test do qui-quadrado ou pelo teste de Fisher, sempre que aplicável. A sobrevida cumulativa foi calculada pelo método de Kaplan-Meier ^{Kaplan 1958} e as diferenças entre as curvas foram estudadas pelo teste log rank. O modelo de regressão de Cox ^{Cox 1972} foi usado para a identificação dos factores de prognóstico. Foram usados como covariantes no modelo de Cox os parâmetros com influência significativa na sobrevida em análise univariada.

Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

Resultados

Definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico dos carcinomas de acordo com a localização do carcinoma gástrico

Na primeira fase do estudo, que consistiu na definição do perfil clínico-patológico do carcinoma do estômago de acordo com a localização e na avaliação do prognóstico dos carcinomas, foram analisados 302 casos de carcinoma do cárdia ou do estômago distribuídos da seguinte forma: 80 carcinomas (26,5%) localizados no cárdia (Fig. 1 e 2); 60 (19,9%) no fundo e corpo; e 162 (53,6%) localizados no antro (Fig. 3).

A idade média e o desvio padrão eram de $60,3 \pm 13,3$ anos nos doentes com carcinoma do cárdia, de $60,0 \pm 12,9$ anos nos doentes com carcinoma do fundo/corpo e de $60,4 \pm 14,8$ anos nos doentes com carcinoma do antro. A comparação nas três localizações tumorais da idade média dos doentes não revelou diferenças com significado estatístico. Na série global, 28 doentes (9,3%) tinham idade inferior a 40 anos no momento da ressecção cirúrgica, 140 (46,7%) idades compreendidas entre os 40 e os 65 anos, e 132 doentes (44,0%) tinham mais de 65 anos. Não se registaram diferenças com significado estatístico na distribuição dos casos nas três localizações de acordo com os escalões etários (Quadro 3).

Quadro 3. Distribuição dos casos nas três localizações tumorais de acordo com os grupos etários (n = 300)

Grupos etários	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
< 40 anos	6 (7,7)	4 (6,7)	18 (11,1)	28 (9,3)
40-65 anos	38 (48,7)	33 (55,0)	69 (42,6)	140 (46,7)
> 65 anos	34 (43,6)	23 (38,3)	75 (46,3)	132 (44,0)
Total	78	60	162	300

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: p=ns

Cárdia vs antro: p= ns

O Quadro 4 ilustra a distribuição dos carcinomas nas diferentes localizações de acordo com o sexo dos doentes. Cento e noventa e três (63,9%) dos doentes da série global pertenciam ao sexo masculino. A percentagem relativa de doentes do sexo masculino foi superior nos casos localizados no cárdia (78,8%)

Resultados

comparativamente aos casos de carcinomas localizados no fundo/corpo (60,0%) ($p=0,02$) ou no antro (58,0%) ($p=0,001$) (Quadro 4). A percentagem de doentes do sexo masculino com carcinomas localizados no fundo/corpo (60%) não foi significativamente diferente da percentagem de doentes do sexo masculino com carcinomas localizados no antro (58,0%).

Quadro 4. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com o sexo dos doentes (n=302)

Sexo	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Masculino	63 (78,8)	36 (60,0)	94 (58,0)	193 (63,9)
Feminino	17 (21,2)	24 (40,0)	68 (42,0)	109 (36,1)
Total	80	60	162	302

Cárdia vs. fundo/corpo: $p=0,02$

Fundo/corpo vs. antro: $p=ns$

Cárdia vs. antro: $p=0,001$

Em relação à forma macroscópica dos tumores, na série global, 91 carcinomas (32,9%) foram classificados como vegetantes ou úlcero-vegetantes, 161 carcinomas (58,1%) como ulcerados ou úlcero-infiltrantes e 25 (9,0%) como infiltrantes. A comparação da distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a forma macroscópica revelou diferenças significativas entre os carcinomas localizados no cárdia e os localizados no antro ($p=0,002$). No cárdia observou-se uma percentagem de formas infiltrantes (12,9%) e vegetantes/úlcero-vegetantes (41,4%) significativamente mais elevada que a observada no antro (4,0% e 27,5%, respectivamente). Observou-se, ainda, uma percentagem de casos ulcerados/úlcero-infiltrantes no antro (68,5%) superior relativamente à registada no cárdia (45,7%). A comparação entre os carcinomas do fundo/corpo e os do antro, relativamente à forma macroscópica, também revelou diferenças significativas ($p=0,001$). A percentagem de carcinomas do tipo infiltrante no fundo/corpo (17,2%) foi mais elevada que a registada no antro (4,0%). Em relação à forma macroscópica dos tumores, não se registaram diferenças com significado estatístico na comparação entre os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo (Quadro 5).

Quadro 5. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a forma macroscópica (n=277)

Forma macroscópica	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Veget / úlc-veget.	29 (41,4)	21 (36,2)	41 (27,5)	91 (32,9)
Ulcerada / úlc-infilt.	32 (45,7)	27 (46,6)	102 (68,5)	161 (58,1)
Infiltrantes	9 (12,9)	10 (17,2)	6 (4,0)	25 (9,0)
Total	60	58	149	277

Cárdia vs fundo/corpo: $p=ns$

Fundo/corpo vs antro: $p=0,001$

Cárdia vs antro: $p=0,002$

Resultados

Na série global, 50% dos carcinomas eram do tipo intestinal, 29,3% eram do tipo difuso e 20,7% não eram classificáveis de acordo com a classificação proposta por Laurén para os carcinomas do estômago (Quadro 6). Observaram-se diferenças significativas na comparação dos casos de acordo com a classificação de Laurén e a localização tumoral entre os tumores do cárdia e os do fundo/corpo ($p=0,02$) e entre os tumores do cárdia e os do antro ($p=0,01$). A percentagem de carcinomas do tipo intestinal, de acordo com a classificação de Laurén, foi semelhante nos casos localizados no fundo/corpo (41,1%) e no antro (47,3%) e significativamente inferior em relação aos casos localizados no cárdia (63,2%) (Quadro 6). Inversamente, os carcinomas do tipo difuso foram mais frequentes no fundo/corpo (33,9%) e no antro (34,2%) em relação aos casos localizados no cárdia (14,7%). Em relação à classificação histológica de Laurén, não se registaram diferenças significativas na comparação da distribuição dos casos localizados no fundo/corpo e os localizados no antro.

Quadro 6. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a histologia (classificação de Laurén) (n = 270)

Classificação de Laurén	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Intestinal	43 (63,2)	23 (41,1)	69 (47,3)	135 (50,0)
Difuso	10 (14,7)	19 (33,9)	50 (34,2)	79 (29,3)
Não classificável	15 (22,1)	14 (25,0)	27 (18,5)	56 (20,7)
Total	68	56	146	270

Cárdia vs fundo/corpo: $p=0,02$

Fundo/corpo vs antro: ns

Cárdia vs antro: $p=0,01$

Quadro 7. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a histologia (classificação de Carneiro e colaboradores) (n = 204)

Classificação de Carneiro e col.	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Glandular	12 (34,3)	11 (22,9)	50 (41,3)	73 (35,8)
Misto	16 (45,7)	19 (39,6)	33 (27,3)	68 (33,3)
Células isoladas	4 (11,4)	15 (31,2)	25 (20,7)	44 (21,6)
Sólidos	3 (8,6)	3 (6,3)	13 (10,7)	19 (9,3)
Total	35	48	121	204

Cárdia vs fundo/corpo: $p=ns$

Fundo/corpo vs antro: $p=ns$

Cárdia vs antro: $p=ns$

A classificação histológica dos carcinomas do estômago proposta por Carneiro e colaboradores foi avaliada em 204 casos. Na série global 35,8% dos doentes apresentavam carcinomas glandulares, 21,6% apresentavam carcinomas de células isoladas, 9,3% carcinomas sólidos e 33,3% apresentavam

Resultados

carcinomas mistos. A distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a classificação histológica não apresentou diferenças significativas. No entanto, a frequência relativa de tumores do tipo misto foi superior no cárdia (45,7%) e no fundo/corpo (39,6%) em relação aos casos localizados no antro (27,3%) (Quadro 7).

Em relação à classificação histológica defendida por Ming, 91 (34,1%) carcinomas apresentavam crescimento do tipo expansivo, 173 (64,8%) crescimento do tipo infiltrativo e 3 (1,1%) eram inclassificáveis. As diferenças observadas na distribuição dos casos segundo a classificação proposta por Ming de acordo com a localização tumoral não foram significativas (Quadro 8).

Quadro 8. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a histologia (classificação de Ming) (n = 267)

Classificação de Ming	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Expansivo	24 (35,8)	16 (28,1)	51 (35,7)	91 (34,1)
Infiltrativo	42 (62,7)	41 (71,9)	90 (62,9)	173 (64,8)
Não classificável	1 (1,5)	0 (0,0)	2 (1,4%)	3 (1,1)
Total	67	57	143	267

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: p=ns

Cárdia vs antro: p= ns

Na série global, a resposta desmoplásica não existia ou era mínima em 133 (53,2%) carcinomas e era moderada ou abundante em 117 (46,8%) dos doentes (Quadro 9). Não se observaram diferenças com significado estatístico na distribuição dos casos nas três localizações do carcinoma (cárdia, fundo/corpo e antro) de acordo com a desmoplasia (Quadro 9).

Quadro 9. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a desmoplasia (n = 250)

Desmoplasia	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Mínima/ausente	32 (53,3)	24 (45,3)	77 (56,2)	133 (53,2)
Abundante/moderada	28 (46,7)	29 (54,7)	60 (43,8)	117 (46,8)
Total	60	53	137	250

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: ns

Cárdia vs antro: p= ns

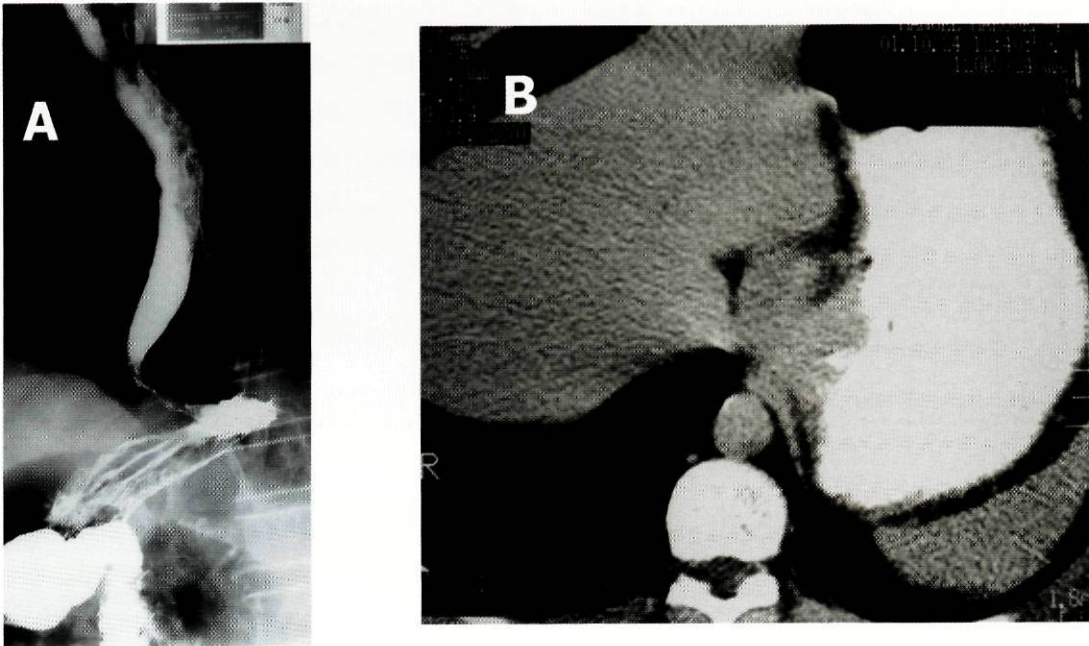


Figura 1 - Estudo radiológico contrastado esófago-gastro-duodenal (A) e tomografia axial computadorizada (B) de doentes com carcinoma da junção esófago-gástrica.

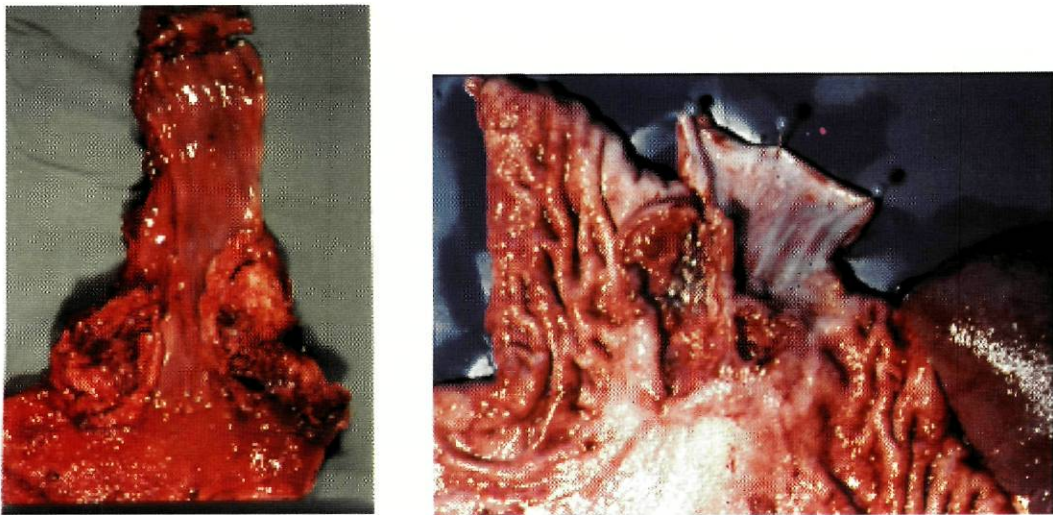


Figura 2 - Duas peças de ressecção cirúrgica relativas a doentes com carcinoma do cárdia.

Resultados

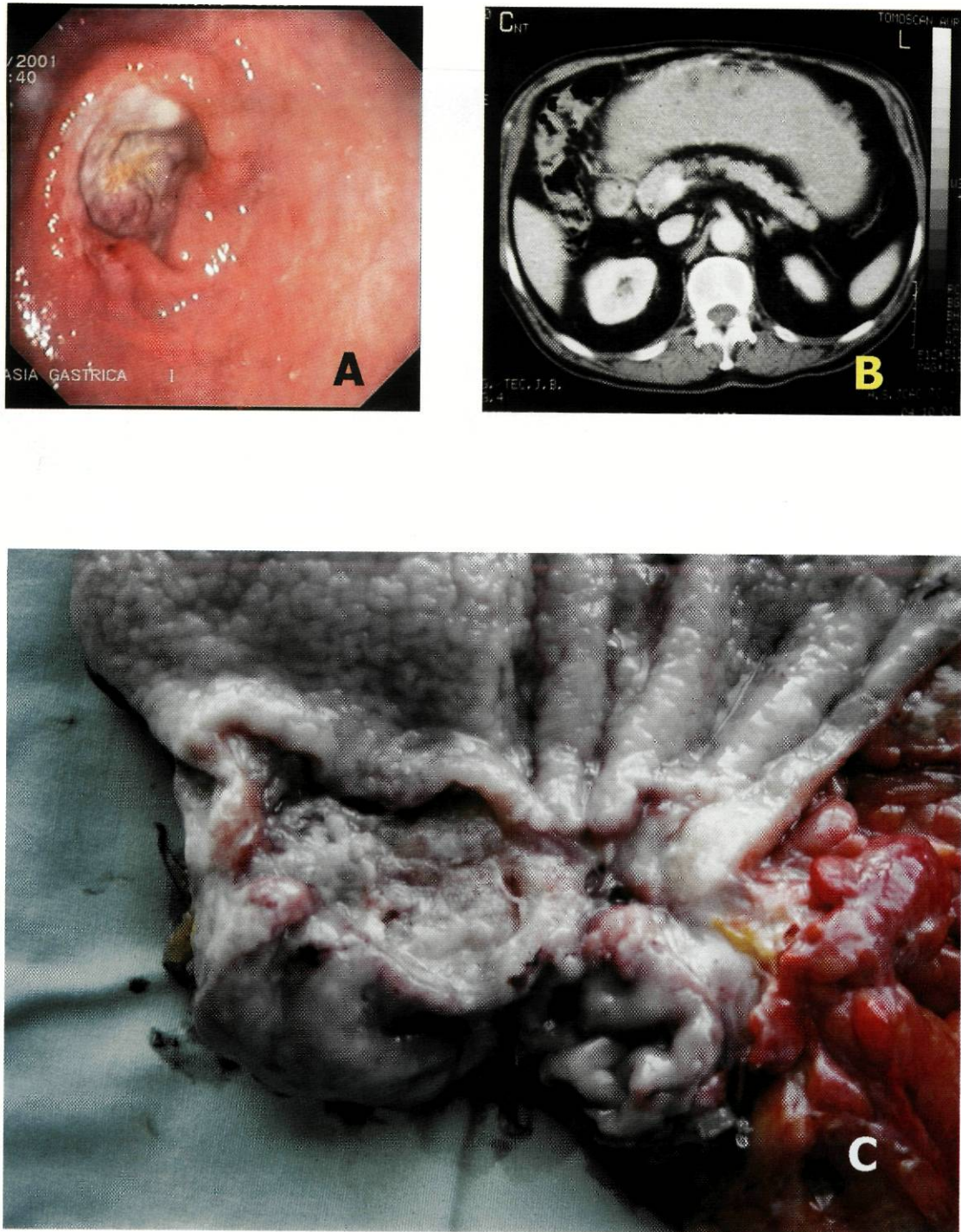


Figura 3 - Adenocarcinoma do antro: A) endoscopia, B) TAC abdominal evidenciando ectasia gástrica e C) peça de gastrectomia distal contendo carcinoma úlcero-infiltrativo.

Quadro 10. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com o tamanho dos carcinomas (n = 276)

Tamanho	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
<= 5 cm	28 (39,4)	19 (33,3)	82 (55,4)	129 (46,7)
> 5 cm	43 (60,6)	38 (66,7)	66 (44,6)	147 (53,3)
Total	71	57	148	276

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns
Fundo/corpo vs antro: p=0,005
Cárdia vs antro: p= 0,03

Em 147 dos casos da série (53,3%) o tumor tinha um diâmetro máximo superior a 5 cm. A percentagem de carcinomas com o diâmetro máximo superior a 5 cm foi significativamente inferior no antro (44,6%) relativamente à observada no cárdia (60,6%) e no fundo/corpo (66,7%). Não se identificaram diferenças significativas na comparação do maior diâmetro do tumor entre os casos de carcinoma do cárdia e os de carcinoma do fundo/corpo (Quadro 10).

De acordo com a progressão do carcinoma na parede digestiva, 42 carcinomas (14,7%) invadiam a mucosa ou a submucosa, 142 (49,7%) invadiam a muscular própria ou a subserosa, 87 (30,4%) atingiam a serosa e 19 (5,2%) carcinomas invadiam órgãos adjacentes (Quadro 11). As diferenças da distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a progressão na parede digestiva foram estatisticamente significativas. Os carcinomas localizados no cárdia e no fundo/corpo foram diagnosticados e tratados em fases mais avançadas de progressão na parede, isto é, em categorias pT mais avançadas do que os carcinomas localizados no antro (Quadro 11). No antro, 75,8% dos carcinomas encontravam-se limitados à camada muscular própria (pT1 e pT2), ao passo que 51,4% dos carcinomas do cárdia e 45,7% dos carcinomas localizados no fundo/corpo invadiam a serosa ou invadiam já estruturas ou órgãos adjacentes (pT3 e pT4) (Quadro 9). A comparação dos casos de carcinoma do cárdia e dos de carcinoma do fundo/corpo relativamente à progressão do tumor na parede não revelou diferenças com significado estatístico.

Quadro 11. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a progressão na parede (pT) (n = 286)

Progressão na parede	Localização			Total n (%)
	Cárdia N (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
T1 (mucosa e/ou submucosa)	4 (5,4)	8 (13,6)	30 (19,6)	42 (14,7)
T2 (muscular própria)	32 (43,2)	24 (40,7)	86 (56,2)	142 (49,7)
T3 (serosa)	33 (44,6)	22 (37,3)	32 (20,9)	87 (30,4)
T4 (órgãos adjacentes)	5 (6,8)	5 (8,4)	5 (3,3)	19 (5,2)
Total	74	59	153	286

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns
Fundo/corpo vs antro: p=0,02
Cárdia vs antro: p= 0,0002

Resultados

Cento e vinte e dois carcinomas (43,1%) invadiam as veias no momento do tratamento cirúrgico. Em relação à distribuição dos casos nas diferentes localizações de acordo com a invasão venosa registaram-se diferenças com significado estatístico (Quadro 12). A percentagem de carcinomas do cárdia com invasão vascular venosa (59,7%) foi significativamente superior em relação à dos carcinomas do antro (33,6). Não se registaram diferenças significativas na comparação dos carcinomas do cárdia com os do fundo/corpo e na comparação dos do fundo/corpo com os do antro (Quadro 12).

Quadro 12. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a invasão venosa (n = 283)

Invasão venosa	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Ausente	29 (40,3)	31 (52,5)	101 (66,4)	161 (56,9)
Presente	43 (59,7)	28 (47,5)	51 (33,6)	122 (43,1)
Total	72	59	152	283

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: p=ns

Cárdia vs antro: p= 0,0002

A percentagem de carcinomas com invasão de vasos linfáticos foi superior nos casos localizados no cárdia (88,3%) e no fundo/corpo (86,7%) em relação à dos casos localizados no antro (72,7%) ($p=0,007$). A média de gânglios examinados foi superior nos carcinomas do cárdia (21,0) e do fundo/corpo (21,6) em relação à dos do antro (14,8) ($p<0,001$). A média de gânglios metastizados foi significativamente superior nos carcinomas do cárdia (6,6 gânglios) e nos do fundo/corpo (7,2 gânglios) em relação à dos carcinomas do antro (3,5 gânglios) ($p=0,002$). A percentagem de carcinomas com metástases ganglionares no cárdia e no fundo/corpo (74,3% e 76,3%, respectivamente) foi significativamente superior em relação à percentagem de carcinomas do antro com metástases ganglionares (52,3%) ($p=0,002$) (Quadro 13). A média da relação entre o número de gânglios invadidos e o de gânglios examinados foi 0,32 nos carcinomas do cárdia, 0,33 nos do fundo/corpo e 0,20 nos do antro.

Quadro 13. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a metastização ganglionar (n = 286)

Metastização ganglionar	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
Ausente	19 (25,7)	14 (23,7)	73 (47,7)	106 (37,1)
Presente	55 (74,3)	45 (76,3)	80 (52,3)	180 (62,9)
Total	74	59	153	286

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: p=0,002

Cárdia vs antro: p= 0,002

Resultados

A distribuição dos casos nas três localizações de acordo com o estadiamento patológico revelou diferenças com significado estatístico, independentemente da versão do pTNM utilizada ter sido a de 1992/1993, estadiamento "antigo", (Quadro 14) ou a de 1997, estadiamento "actual", (Quadro 15). De acordo com qualquer um dos sistemas de estadiamento usado, os carcinomas localizados no antro foram diagnosticados e ressecados em estadios menos avançados (IA, IB e II) quer quando comparados com os carcinomas localizados no cárdia ($p=0,004$ quando foi utilizado o estadiamento "antigo" e $p<0,0001$ quando foi utilizado o estadiamento "actual"), quer quando comparados com os carcinomas localizados no fundo/corpo ($p=0,0009$ quando foi utilizado o estadiamento "antigo" e $p=0,002$ quando foi utilizado o estadiamento "actual") (Quadros 14 e 15). Não se registaram diferenças com significado estatístico entre os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo em relação ao estadiamento patológico.

A figura 4 ilustra as curvas de sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma nas três localizações. A sobrevida cumulativa aos 5 anos foi 50% nos casos de carcinoma do antro, de 33% nos do cárdia e de 20% nos do fundo/corpo. A diferença global na sobrevida segundo as três localizações foi significativa ($p=0,006$). Quando as três localizações foram comparadas individualmente, registaram-se diferenças na sobrevida entre os doentes com carcinoma no cárdia e os doentes com carcinoma do antro ($p=0,04$), e entre os doentes com carcinoma do fundo/corpo e os doentes com carcinoma do antro ($p=0,003$). Não se registaram diferenças significativas quando se compararam as sobrevidas dos doentes com carcinoma no cárdia e no fundo/corpo.

Quadro 14. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com o estadiamento "antigo" pTNM (n = 283)

"Estadio antigo"	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
IA	4 (5,5)	5 (8,5)	25 (16,4)	34 (12,0)
IB	11 (15,3)	9 (15,3)	41 (27,0)	61 (21,6)
II	13 (18,1)	10 (17,9)	30 (19,7)	53 (18,7)
IIIA	23 (31,9)	13 (22,0)	36 (23,7)	72 (25,4)
IIIB	13 (18,1)	12 (20,3)	16 (10,6)	41 (14,5)
IV	8 (11,1)	10 (17,0)	4 (2,6)	22 (7,8)
Total	72	59	152	283

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns
Fundo/corpo vs antro: p=0,0009
Cárdia vs antro: p= 0,004

Resultados

Quadro 15. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com o estadio "actual" pTNM (n=255)

Estadio "actual"	Localização			Total n (%)
	Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
IA	4 (7,0)	5 (8,9)	25 (17,6)	34 (13,3)
IB	11 (19,3)	9 (16,1)	42 (29,6)	62 (24,3)
II	6 (10,5)	10 (17,9)	37 (26,1)	53 (20,8)
IIIA	21 (36,8)	13 (23,1)	22 (15,5)	56 (22,0)
IIIB	3 (5,3)	9 (16,1)	9 (6,3)	21 (8,2)
IV	12 (21,1)	10 (17,9)	7 (4,9)	29 (11,4)
Total	57	56	142	255

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns
Fundo/corpo vs antro: p=0,002
Cárdia vs antro: p< 0,0001

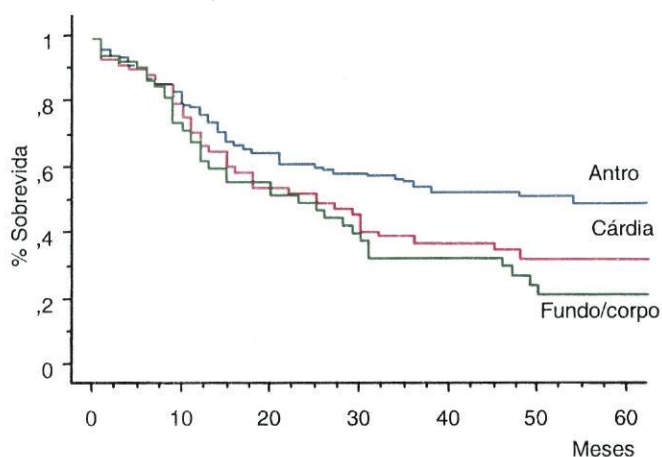


Figura 4 - Sobrevida aos 5 anos de acordo com a localização do carcinoma. Observou-se uma diferença global de acordo com a localização do tumor (p=0,006). A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do antro foi significativamente superior à dos doentes com carcinoma do cárdia (p=0,04) e do fundo/corpo (p=0,003). Não se registaram diferenças significativas na sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do cárdia e do fundo/corpo.

O Quadro 16 mostra os resultados da análise univariada da sobrevivência dos doentes de acordo com a localização do carcinoma. Nos casos de carcinoma do cárdia, os parâmetros associados com curvas de sobrevivência significativamente diferentes foram os seguintes: idade (p=0,005), forma macroscópica (p=0,048), classificação de Carneiro e colaboradores (p=0,003), classificação de Ming (p=0,0001), desmoplasia (p=0,02), invasão venosa (p=0,02), metastização ganglionar (p=0,03) e estadio patológico (estadio "actual") (p=0,03).

Resultados

Os parâmetros associados com diferenças significativas da sobrevida cumulativa nos casos de carcinoma do fundo/corpo foram os seguintes: forma macroscópica ($p=0,0005$), classificação de Ming ($p=0,02$), desmoplasia ($p=0,04$), tamanho do tumor ($p=0,048$), invasão venosa ($p=0,02$), e estadiopatológico (estadio "antigo" e estadio "actual") ($p=0,01$ e $p=0,0005$, respectivamente).

Nos casos de carcinoma do antro, os parâmetros associados com curvas de sobrevida significativamente diferentes foram os seguintes: classificação de Ming ($p=0,048$), desmoplasia ($p=0,02$), grau de penetração na parede gástrica ($p<0,0001$), invasão venosa ($p<0,0001$), metastização ganglionar ($p<0,0001$) e estadiopatológico (estadio "antigo" e estadio "actual") ($p<0,0001$ e $p<0,0001$, respectivamente).

Quadro 16. Resumo dos resultados da análise univariada da sobrevida de acordo com a localização do carcinoma

Parâmetros	Localização		
	Cárdia	Fundo/corpo	Antro
Idade	$p=0,005$	ns	ns
Sexo	ns	ns	ns
Forma macroscópica	$p=0,048$	$p=0,0005$	ns
Classificação de Laurén	ns	ns	ns
Classificação de Carneiro et col.	$p=0,003$	ns	ns
Classificação de Ming	$p=0,0001$	$p=0,02$	$p=0,048$
Desmoplasia	$p=0,02$	$p=0,04$	$p=0,02$
Tamanho do tumor	ns	$p=0,048$	ns
Penetração do tumor na parede	ns	ns	$p<0,0001$
Invasão venosa	$p=0,02$	$p=0,02$	$p<0,0001$
Metastização ganglionar	$p=0,03$	ns	$p<0,0001$
pTNM "antigo"	ns	$p=0,01$	$p<0,0001$
pTNM "actual"	$p=0,03$	$p=0,0005$	$p<0,0001$

- Os valores de p referem-se à comparação das curvas de sobrevida entre os parâmetros de acordo com as localizações. São dados como referência os valores aos 5 anos.

- ns - não significativos

O quadro 17 documenta as diferenças observadas na análise da sobrevida dos doentes em cada uma das subdivisões dos parâmetros estudados de acordo com a localização do carcinoma. Os valores expressos em percentagem no quadro são os da sobrevida aos 5 anos. Os valores de p apontados no quadro 17 são relativos à comparação das curvas de sobrevida pelo teste log rank.

Resultados

Quadro 17 – Sobrevida aos 5 anos (%) de acordo com os parâmetros clínico-patológicos

Parâmetros	Localização			Valor de p
	Cárdia Sobrev. aos 5 anos	Fundo/corpo Sobrev. aos 5 anos	Antro Sobrev. aos 5 anos	
Idade				
<40	80,0	0,0	60,0	na
40-65	43,3	18,4	45,6	ns
>65	14,5	28,9	51,1	0,03
Sexo				
Masculino	31,2	14,9	47,1	ns
Feminino	39,2	29,0	53,4	ns
Forma macroscópica				
Vegetante+ulc-vegetante	47,1	40,6	48,4	ns
Ulcerada+ulc-infiltrante	34,4	13,4	53,4	0,02
Infiltrante	0,0	0,0	28,6	ns
Classificação de Laurén				
Intestinal	28,5	28,3	53,6	ns
Difuso	37,0	8,0	51,5	0,03
Não classificado	45,7	20,6	40,4	ns
Classificação de Carneiro e col.				
Carcinoma glandular	40,4	30,5	57,4	ns
Carcinoma misto	0,0	14,3	49,6	0,01
Carcinoma de cél. isoladas	75,0	9,6	47,7	na
Carcinoma sólido	100,0	33,3	50,2	na
Classificação de Ming				
Expansivo	58,4	41,2	65,2	ns
Infiltrativo	14,5	11,4	40,5	0,003
Não classificado	0,0	--	100,0	na
Desmoplasia				
Ausente/mínima	38,8	37,3	56,9	ns
Moderada/abundante	31,6	12,5	43,9	0,03
Tamanho do tumor				
<= 5 cm	36,6	37,3	56,9	ns
> 5 cm	31,6	12,5	43,9	ns
Penetração na parede				
T1	100,0	53,3	83,0	na
T2	35,2	24,2	54,2	ns
T3	19,8	7,5	22,2	ns
T4	50,0	0,0	0,0	na
Invasão venosa				
Ausente	49,2	30,9	64,5	ns
Presente	17,4	11,0	22,6	ns
Metástases ganglionares				
Ausentes	55,9	36,7	72,8	ns
Presentes	24,9	15,3	29,3	ns
Estadio pTNM "antigo"				
IA	100,0	66,7	86,8	na
IB	49,9	22,5	77,9	ns
II	37,2	56,4	50,1	ns
IIIA	21,4	22,7	47,0	ns
IIIB	39,5	0,0	0,0	0,03
IV	0,0	0,0	0,0	na
Estadio pTNM "actual"				
IA	100,0	66,7	86,2	na
IB	49,9	22,0	70,0	ns
II	61,4	65,0	41,4	ns
IIIA	35,1	11,0	44,7	ns
IIIB	100,0	0,0	11,1	na
IV	0,0	0,0	0,0	ns

ns - Não significativo ($p > 0,05$); na – Não avaliado devido ao número reduzido de casos por grupo

Resultados

Observaram-se diferenças entre as curvas de sobrevida de acordo com a localização, no grupo de doentes com idade superior a 65 anos. Nestes doentes, a sobrevida foi mais elevada nos casos de carcinomas localizados no antro (51,1%) comparativamente à dos localizados no cárdia (14,5%) e à dos localizados no fundo/corpo (28,9%) (Quadro 17 e Figura 5).

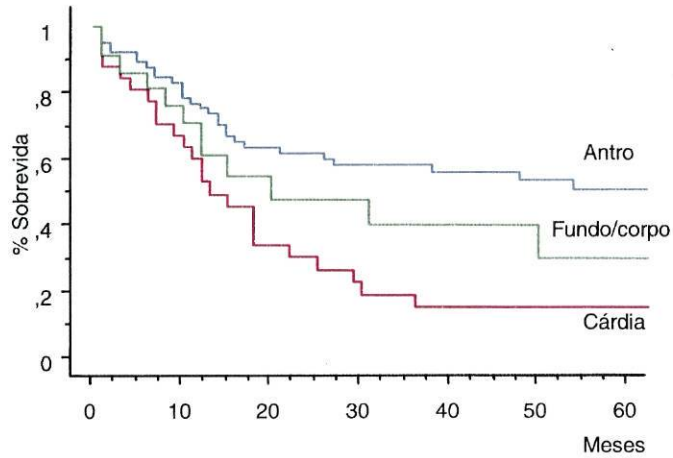


Figura 5 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com idade superior a 65 anos nas três localizações ($p=0,03$).

Os doentes com carcinoma do tipo ulcerado ou úlcero-infiltrante apresentaram sobrevida inferior nos casos localizados no fundo/corpo (13,4%) em comparação com a sobrevida dos doentes com carcinoma localizados no cárdia (34,4%) e no antro (53,4%) ($p=0,02$) (Fig. 6).

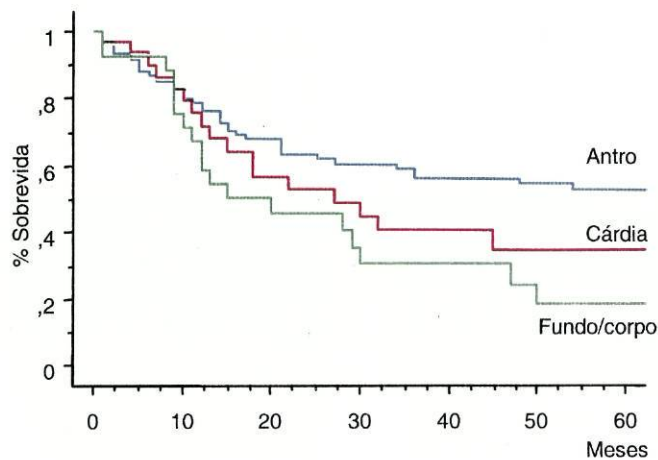


Figura 6 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas do tipo ulcerado ou úlcero-infiltrante nas três localizações ($p=0,02$).

Resultados

Os carcinomas do tipo difuso da classificação de Laurén localizados no fundo/corpo (8,0%) estiveram associados a sobrevida cumulativa inferior em relação à sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do cárdia (37,0%) e do antro (51,5%) ($p=0,03$) (Fig. 7).

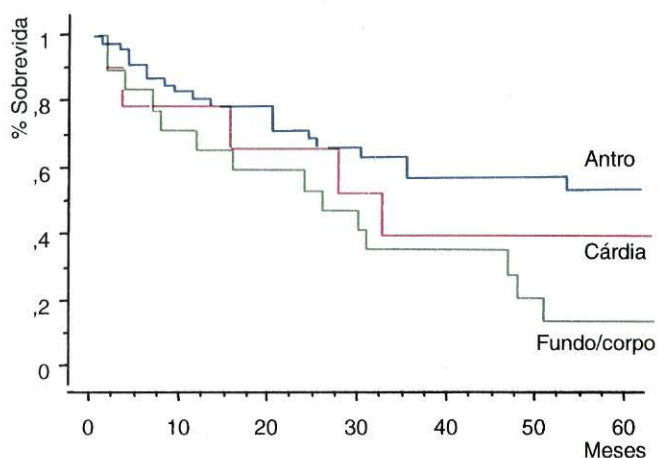


Figura 7 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas do tipo difuso de Laurén nas três localizações ($p=0,03$).

Em relação à classificação proposta por Carneiro e colaboradores observaram-se diferenças na sobrevida dos doentes com carcinomas mistos, de acordo com a localização tumoral (Quadro 15). Os doentes com carcinomas mistos tiveram sobrevida cumulativa superior nos casos de carcinoma localizado no antro (49,6%) em relação aos casos de carcinoma localizado no cárdia (0,0%) ou no fundo/corpo (14,3%) (Figura 8).

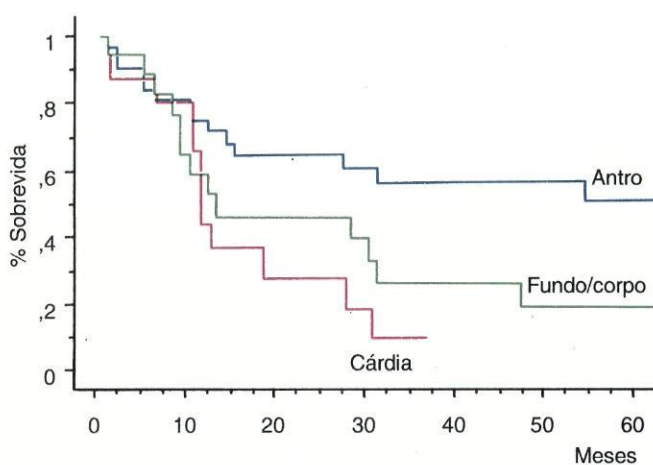


Figura 8 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas do tipo misto de acordo com a classificação de Carneiro e colaboradores nas três localizações ($p=0,01$).

A sobrevida dos doentes com carcinomas do tipo infiltrativo, da classificação de Ming no antro (40,5%), foi superior à sobrevida dos doentes com carcinoma do tipo infiltrativo no cárdia (14,5%) ou no fundo/corpo (11,4%) ($p=0,003$) (Quadro 17 e Figura 9).

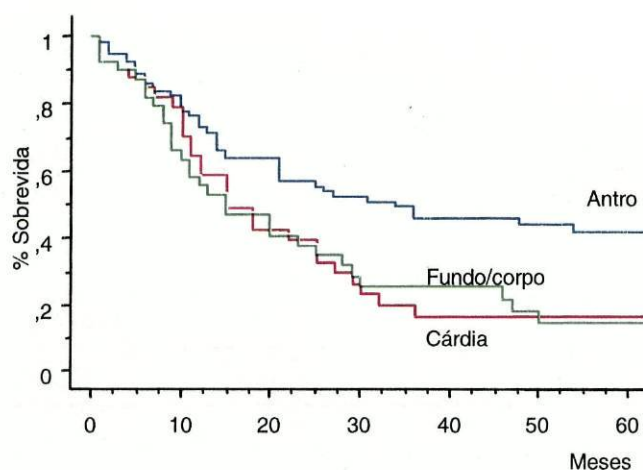


Figura 9 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas do tipo infiltrativo de Ming em cada uma das localizações ($p=0,003$).

Os doentes com carcinomas que apresentavam resposta desmoplásica moderada ou abundante localizados no fundo/corpo (12,5%) tiveram sobrevida inferior à dos doentes com carcinoma localizados no cárdia (31,6%) ou no antro (43,9%) ($p=0,03$) (Quadro 17 e Figura 10).

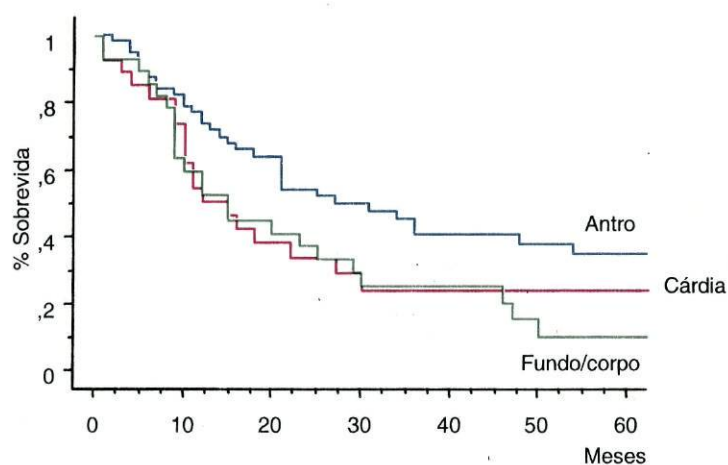


Figura 10 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas com reacção desmoplásica moderada ou abundante em cada uma das localizações ($p=0,03$).

Resultados

Os carcinoma classificados no estadio IIIB localizados no cárdia (39,5%) estiveram associados a sobrevida superior comparativamente aos carcinomas classificados no estadio IIIB localizados no fundo/corpo (0,0%) ou no antro (0,0%) ($p=0,03$ para o estadio pTNM "antigo") (Fig. 11).

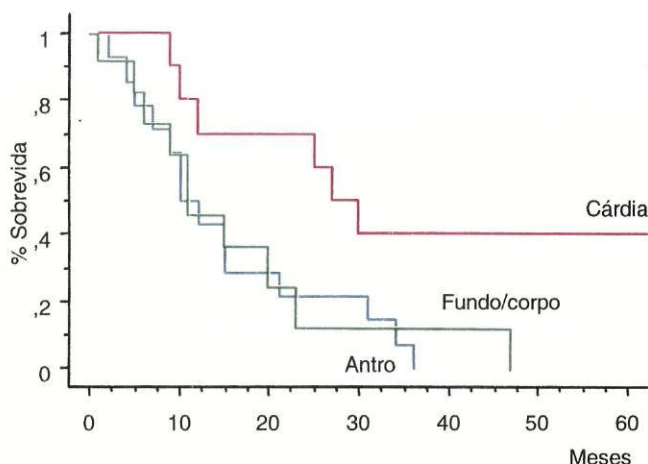


Figura 11 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas classificados em estadio IIIB em cada uma das localizações ($p=0,03$).

Não se observaram diferenças significativas na comparação das curvas de sobrevida para cada uma das subdivisões dos seguintes parâmetros de acordo com a localização do carcinoma: sexo, tamanho do tumor, grau de penetração na parede, invasão venosa e metastização ganglionar (Quadro 15).

O quadro 18 documenta o resumo da análise de regressão de Cox realizada para cada uma das localizações do carcinoma (cárdia, fundo/corpo e antro). A análise de regressão de Cox evidenciou, em primeiro lugar, que, nesta série de doentes estudada, a localização do carcinoma não constituiu, por si só, um factor determinante e independente no prognóstico dos tumores.

A regressão de Cox identificou factores de prognóstico diferentes nas três localizações dos carcinomas (Quadro 18). Em relação aos carcinomas do cárdia, os factores determinantes do prognóstico foram a idade, o estadio do tumor (pTNM "antigo") e a invasão venosa. Para os carcinomas do fundo/corpo, os factores que influenciaram o prognóstico foram o estadio do tumor (pTNM "antigo"), a invasão venosa e o tamanho do tumor. Em relação aos carcinomas do antro, os factores de prognóstico foram o estadio do tumor (pTNM "antigo") e a invasão venosa.

Quadro 18. Resumo da análise da regressão de Cox (Stepwise) para cada uma das localizações do carcinoma

Parâmetros	Localização		
	Cárdia	Fundo/corpo	Antro
Estadio "antigo"	p=0,001	p=0,002	p<0,001
Invasão venosa	p=0,001	p=0,001	p<0,001
Idade	p=0,005		
Tamanho do tumor		p=0,001	

A expressão das mucinas no carcinoma do estômago

As características clínicas e patológicas da população avaliada nesta fase do estudo estão descritas resumidamente no quadro 19.

A imunorreactividade para a forma completamente glicosilada de MUC1 (Fig. 12), detectada pelo anticorpo HMFG1, foi observada em 73 casos (89,0%). A forma infraglicosilada de MUC1, detectada pelo anticorpo monoclonal SM3, foi observada em 41 casos (50%). A expressão de MUC2 (Fig. 13) foi observada em 21 casos (26,6%), a de MUC5AC (Fig. 14) foi detectada em 44 casos (47,3%) e a de MUC6 (Fig. 15) em 18 casos (22%).

Expressão de mucinas e perfil de diferenciação do carcinoma gástrico

Não se observaram diferenças com significado estatístico na distribuição do perfil de expressão da mucina MUC1 (independentemente da forma de glicosilação) e da mucina MUC6 de acordo com as classificações de Laurén e de Ming.

A expressão de MUC2 associou-se, de forma significativa e exclusiva, com os carcinomas mucinoso, sendo de registar que todos os casos (n=4) expressaram MUC2 (p=0,001) (Fig.13).

Resultados

A expressão de MUC5AC foi observada em 44 carcinomas. A percentagem de carcinomas difusos com expressão de MUC5AC (65,2%) foi significativamente superior em relação à percentagem dos carcinomas não classificados de Laurén (33,3%). Não se observaram diferenças significativas na comparação da expressão de MUC5AC entre os carcinomas do tipo intestinal de Laurén (46,9%) e os difusos ou os não classificáveis (Quadro 20).

Quadro 19. Resumo de algumas características clínicas e patológicas dos carcinomas gástricos.

Parâmetros	Doentes	
	n	(%)
Localização do carcinoma (n=94)		
Cárdia	22	23,4
Fundo/corpo	25	26,6
Antro	47	50,0
Classificação de Laurén (n=91)		
Intestinal	49	53,8
Difuso	23	25,3
Não classificável	19	20,9
Classificação da O. M. S. (n=93)		
Bem-mod. diferenciado	48	51,6
Pouco diferenciado	18	19,4
Células em anel de "sinete"	21	22,6
Outros	6	6,4
Classificação de Ming (n=90)		
Expansivo	30	33,3
Infiltrativo	60	66,7
Invasão venosa (n=94)		
Ausente	47	50,0
Presente	47	50,0
Invasão linfática (n=94)		
Ausente	11	11,7
Presente	83	88,3
Invasão da parede (n=94)		
T1	13	13,8
T2	46	48,9
T3	31	33,0
T4	4	4,3
Metástases ganglionares (n=94)		
Ausentes	28	29,8
Presentes	66	70,2
Estadio pTNM (n=89)		
IA	10	11,2
IB	18	20,2
II	15	16,9
IIIA	21	23,6
IIIB	6	6,7
IV	19	21,4

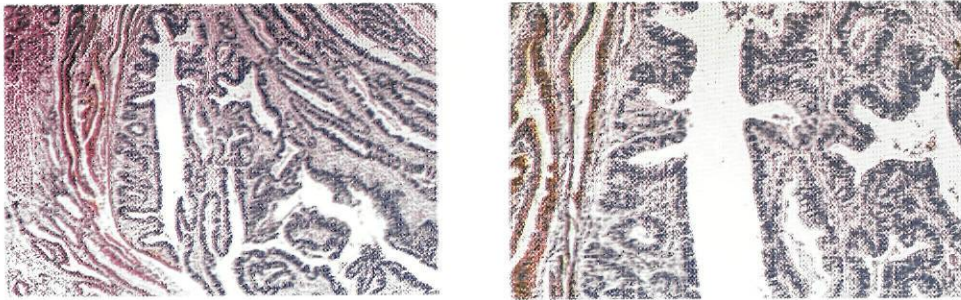


Figura 12 - Imunoreactividade para a mucina MUC1 num carcinoma gástrico do tipo intestinal de Laurén.

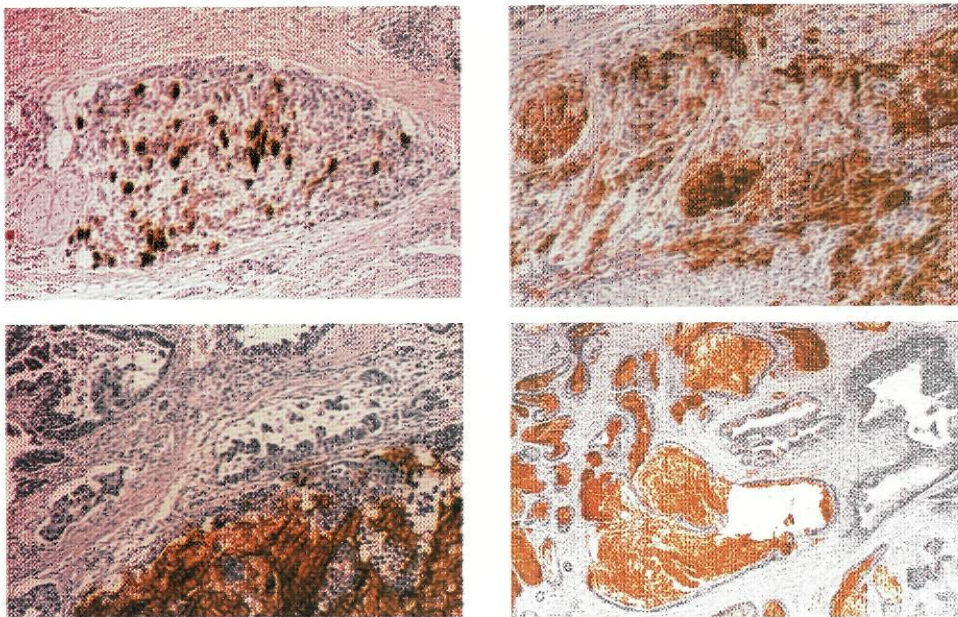


Figura 13 - Imunoreactividade para a mucina MUC2 num carcinoma gástrico mucinoso (classificação da Organização Mundial de Saúde)

Resultados

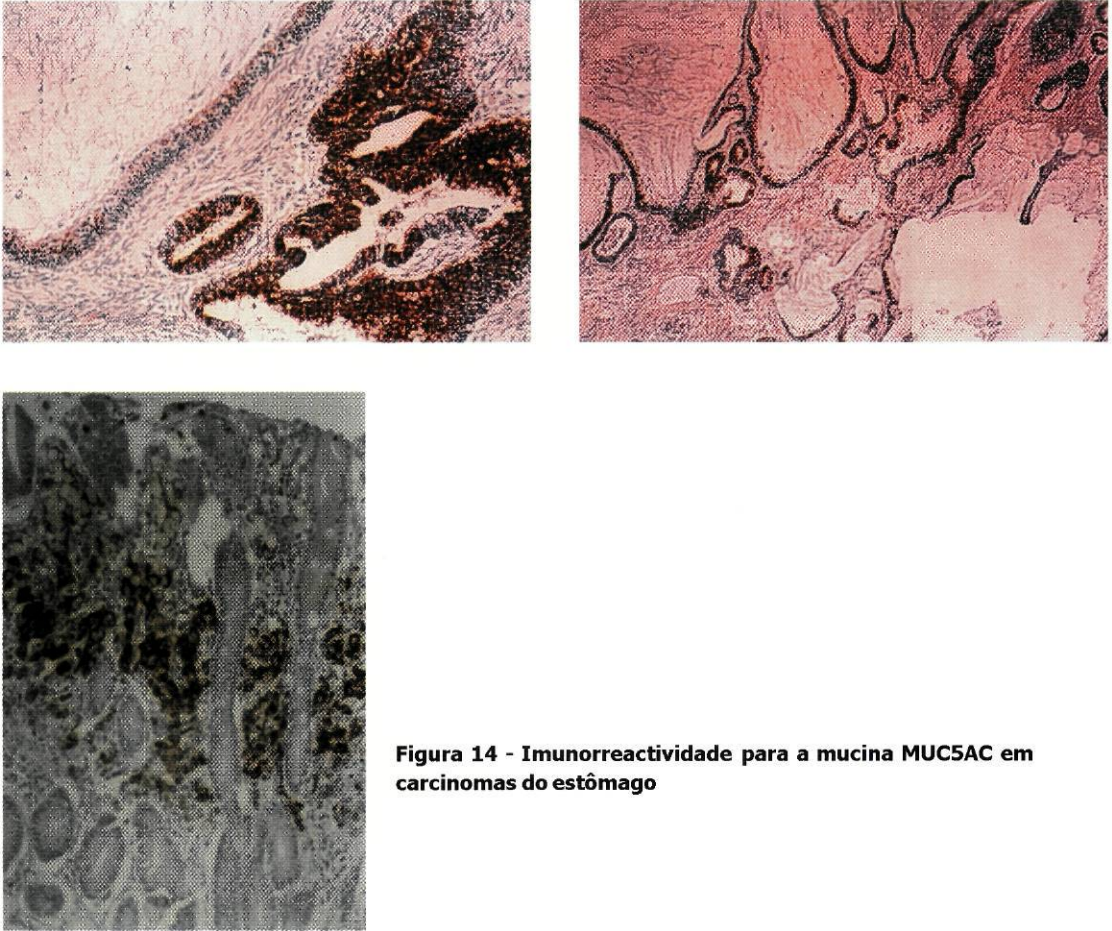


Figura 14 - Imunorreatividade para a mucina MUC5AC em carcinomas do estômago

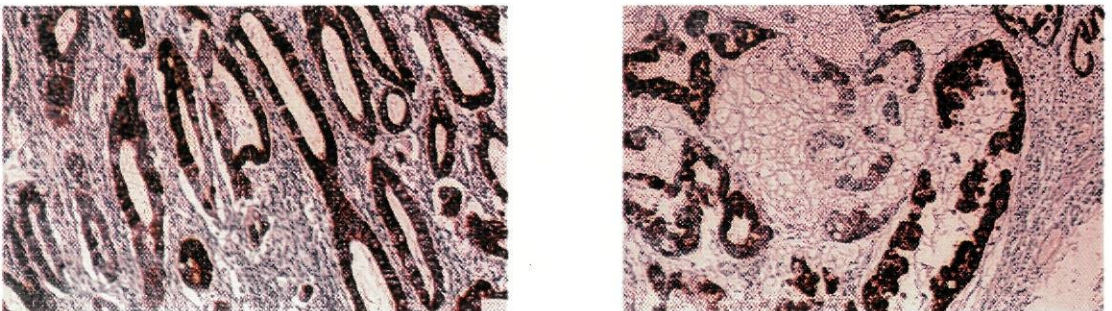


Figura 15 - Imunorreatividade para a mucina MUC6 em carcinomas do estômago

Quadro 20. Distribuição dos casos de acordo com a imunoreactividade para o MUC5AC e a classificação histológica (Laurén) (n=90)

Histologia	Expressão de MUC5AC	
	Negativa n (%)	Positiva n (%)
Classificação de Laurén		
Intestinal	26 (53,1)	23 (46,9)
Difuso	8 (34,8)	15 (65,2)
Não classificável	12 (66,7)	6 (33,3)

Intestinal vs difuso: p= ns

Difuso vs não classificável: p= 0,04

Intestinal vs não classificável: p= ns

A distribuição dos casos com expressão de MUC5AC de acordo com a classificação de Ming referente aos carcinomas do estômago está documentada no quadro 21 e revelou diferenças significativas (p=0,01). A percentagem de casos reactivos para o MUC5AC foi significativamente superior nos carcinomas com crescimento infiltrativo (60%) em relação aos que apresentavam crescimento expansivo (27,6%).

Quadro 21. Distribuição dos casos de acordo com a imunoreactividade para o MUC5AC e a classificação histológica (Ming) (n=89)

Histologia	Expressão de MUC5AC	
	Negativa n (%)	Positiva n (%)
Classificação de Ming		
Expansivo	21 (72,4)	8 (27,6)
Infiltrativo	24 (40,0)	36 (60,0)

Expansivo vs. infiltrativo: p= 0,01

Expressão de mucinas e comportamento clínico-biológico do carcinoma gástrico

Não se observaram associações com significado estatístico entre a imunoreactividade para qualquer uma das mucinas avaliadas e os seguintes parâmetros patológicos estudados: profundidade de penetração na parede gástrica, metastização ganglionar, invasão venosa e estadio (Quadros 22, 23, 24, 25 e 26) .

Resultados

Quadro 22 – Distribuição dos parâmetros patológicos de acordo com a expressão de MUC1 (forma completamente glicosilada)

Parâmetros	Expressão de MUC1		Valor de p
	Negativa (n) (%)	Positiva (n) (%)	
Penetração na parede			ns
T1	2 (15,4)	11 (84,6)	
T2	2 (5,4)	35 (94,6)	
T3	5 (17,9)	23 (82,1)	
T4	0 (0,0)	4 (100,0)	
Invasão venosa			ns
Ausente	4 (9,8)	37 (90,2)	
Presente	5 (12,2)	36 (87,8)	
Metástases ganglionares			ns
Ausentes	2 (8,0)	23 (92,0)	
Presentes	7 (12,3)	50 (87,7)	
Estadio "actual" pTNM			ns
I	2 (8,0)	23 (92,0)	
II	1 (8,3)	11 (91,7)	
III	3 (13,0)	20 (87,0)	
IV	3 (15,8)	16 (84,2)	

Quadro 23 – Distribuição dos parâmetros patológicos de acordo com a expressão de MUC1 infraglicosilado

Parâmetros	Expressão de MUC1 infraglicosilado		Valor de p
	Negativa (n) (%)	Positiva (n) (%)	
Penetração na parede			ns
T1	6 (50,0)	6 (50,0)	
T2	19 (48,7)	20 (51,3)	
T3	15 (55,6)	12 (44,4)	
T4	1 (25,0)	3 (75,0)	
Invasão venosa			ns
Ausente	20 (47,6)	22 (52,4)	
Presente	21 (52,5)	19 (47,5)	
Metástases ganglionares			ns
Ausentes	10 (42,5)	13 (56,5)	
Presentes	31 (52,5)	28 (47,5)	
Estadio "actual" pTNM			ns
I	9 (40,9)	13 (59,1)	
II	10 (76,9)	3 (23,1)	
III	13 (56,5)	10 (43,5)	
IV	8 (42,1)	11 (57,9)	

Quadro 24 – Distribuição dos parâmetros patológicos de acordo com a expressão de MUC2

Parâmetros	Expressão de MUC2		Valor de p
	Negativa (n) (%)	Positiva (n) (%)	
Penetração na parede			ns
T1	9 (75,0)	3 (25,0)	
T2	28 (77,8)	8 (22,2)	
T3	19 (70,4)	8 (29,6)	
T4	2 (50,0)	2 (50,0)	
Invasão venosa			ns
Ausente	30 (73,2)	11 (26,8)	
Presente	28 (73,7)	10 (26,3)	
Metástases ganglionares			ns
Ausentes	19 (79,2)	5 (20,8)	
Presentes	39 (70,9)	16 (29,1)	
Estadio "actual" pTNM			ns
I	19 (82,6)	4 (17,4)	
II	9 (75,0)	3 (25,0)	
III	13 (59,1)	9 (40,9)	
IV	14 (73,7)	5 (26,3)	

Quadro 25 – Distribuição dos parâmetros patológicos de acordo com a expressão de MUC5AC

Parâmetros	Expressão de MUC5AC		Valor de p
	Negativa (n) (%)	Positiva (n) (%)	
Penetração na parede			ns
T1	5 (38,5)	8 (61,5)	
T2	21 (45,7)	25 (54,3)	
T3	20 (66,7)	10 (33,3)	
T4	3 (75,0)	1 (25,0)	
Invasão venosa			ns
Ausente	21 (44,7)	26 (55,3)	
Presente	28 (60,9)	18 (39,1)	
Metástases ganglionares			ns
Ausentes	12 (42,9)	16 (57,1)	
Presentes	37 (56,9)	28 (43,1)	
Estadio "actual" pTNM			ns
I	12 (42,9)	16 (57,1)	
II	8 (53,3)	7 (46,7)	
III	15 (57,7)	11 (42,3)	
IV	13 (68,4)	6 (31,6)	

Resultados

Quadro 26 – Distribuição dos parâmetros patológicos de acordo com a expressão de MUC6

Parâmetros	Expressão de MUC6		Valor de p
	Negativa (n) (%)	Positiva (n) (%)	
Penetração na parede			ns
T1	8 (66,7)	4 (33,3)	
T2	32 (82,1)	7 (17,9)	
T3	20 (74,1)	7 (25,9)	
T4	4 (100,0)	0 (0,0)	
Invasão venosa			ns
Ausente	34 (77,3)	10 (22,7)	
Presente	30 (78,9)	8 (21,1)	
Metástases ganglionares			ns
Ausentes	19 (76,0)	6 (24,0)	
Presentes	45 (78,9)	12 (21,1)	
Estadio "actual" pTNM			ns
I	17 (70,8)	7 (29,2)	
II	11 (91,7)	1 (8,3)	
III	20 (87,0)	3 (13,0)	
IV	13 (72,2)	5 (27,8)	

A distribuição dos casos de acordo com a imunoreactividade para as mucinas MUC1 e MUC6 nas diferentes localizações do carcinoma está documentada no quadro 27. Não se observaram diferenças significativas entre a expressão de MUC1 (independentemente do estado de glicosilação) e de MUC6 de acordo com a localização do carcinoma.

Quadro 27. Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a imunoreactividade para as mucinas MUC1 e MUC6

Mucinas	Global n (%)	Localização			Valor de p
		Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)	
MUC1					ns
Negativo	9 (11,0)	0 (0,0)	4 (17,4)	5 (12,8)	
Positivo	73 (89,0)	20 (100,0)	19 (82,6)	34 (87,2)	
MUC1 infraglicosilado					ns
Negativo	41 (50,0)	6 (35,3)	13 (56,5)	22 (52,4)	
Positivo	41 (50,0)	11 (64,7)	10 (43,5)	20 (47,6)	
MUC6					ns
Negativo	64 (78,0)	15 (78,9)	18 (81,8)	31 (75,6)	
Positivo	18 (22,0)	4 (21,1)	4 (18,2)	4 (24,4)	

Observaram-se diferenças na comparação global da distribuição do MUC2 de acordo com a localização do tumor ($p=0,04$) (Quadro 28). A comparação da expressão de MUC2 entre cada uma das localizações do tumor mostrou que a percentagem de carcinoma do cárdia com imunoreactividade para o MUC2 (50%) foi

significativamente superior em relação à percentagem de carcinomas do fundo/corpo (17,4%) e à de carcinomas do antro (21,1%).

Quadro 28 - Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a imunorreactividade para a mucina MUC2

MUC2	Global n (%)	Localização		
		Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro n (%)
Negativo	58 (73,4)	9 (50,0)	19 (82,6)	30 (78,9)
Positivo	21 (26,6)	9 (50,0)	4 (17,4)	8 (21,1)
Total	79	18	23	38

Cárdia vs fundo/corpo: p= 0,03

Fundo/corpo vs antro: p= ns

Cárdia vs antro: p= 0,03

A distribuição global dos casos de acordo com a expressão de MUC5AC e a localização dos carcinomas não mostrou diferenças significativas (Quadro 29). No entanto, como está documentado no quadro 29, a percentagem de casos de carcinoma do antro com expressão de MUC5AC (55,3%) foi significativamente superior à de casos de carcinoma do fundo/corpo (29,2%) (p=0,04).

Quadro 29 - Distribuição dos casos nas três localizações de acordo com a imunorreactividade para a mucina MUC5AC

MUC5AC	Global n (%)	Localização		
		Cárdia n (%)	Fundo/corpo n (%)	Antro N (%)
Negativo/raras células	49 (52,7)	11 (50,0)	17 (70,8)	21 (44,7)
Positivo	44 (47,3)	11 (50,0)	7 (29,2)	26 (55,3)
Total	93	22	24	47

Cárdia vs fundo/corpo: p= ns

Fundo/corpo vs antro: p= 0,04

Cárdia vs antro: p= ns

Não se observaram diferenças significativas na sobrevida dos doentes com carcinoma gástrico de acordo com a imunorreactividade para as mucinas estudadas (MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6). Os valores da sobrevida cumulativa aos 5 anos de acordo com o padrão de expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 estão ilustrados no quadro 30. As curvas de sobrevida dos doentes de acordo com cada uma das mucinas estudadas encontram-se documentados nas figuras 16, 17, 18, 19 e 20.

A análise da sobrevida cumulativa nas três localizações de acordo com a expressão de cada uma das mucinas não mostrou diferenças significativas. No cárdia, a análise das curvas de sobrevida de acordo com a expressão de MUC1 infraglicosilado esboçou uma tendência no sentido da melhor sobrevida nos casos com expressão daquela forma de MUC1 (p=0,05) (Fig. 21).

Resultados

Quadro 30 – Valores de sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinoma gástrico de acordo com a expressão das mucinas

Mucinas	Sobrevida aos 5 anos	Valor de p
MUC1		ns
Negativo	25,0%	
Positivo	39,0%	
MUC1 infraglicosilado		ns
Negativo	29,5%	
Positivo	43,0%	
MUC2		ns
Negativo	37,6%	
Positivo	31,6%	
MUC5AC		ns
Negativo	39,5%	
Positivo	36,2%	
MUC6		ns
Negativo	37,7%	
Positivo	42,9%	

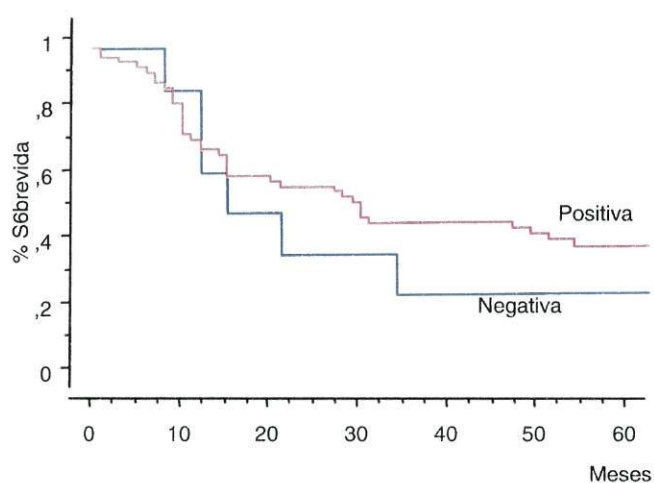


Figura 16 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes, de acordo com a imunorreactividade para o MUC1. A diferença registada nas curvas de sobrevida não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

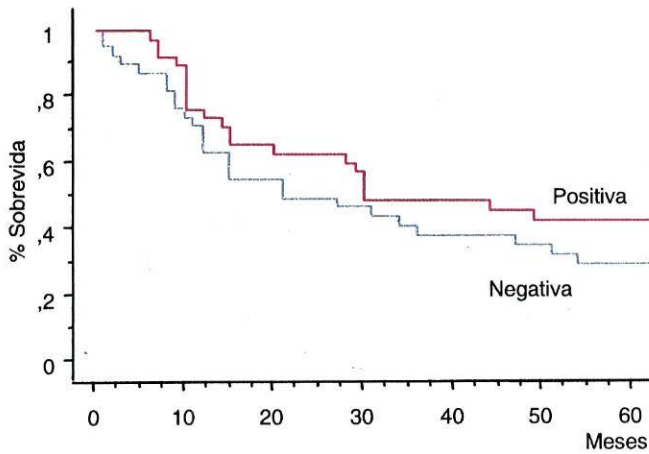


Figura 17 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes, de acordo com a imunorreactividade para o MUC1 infraglicosilado. A diferença registada nas curvas de sobrevida não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

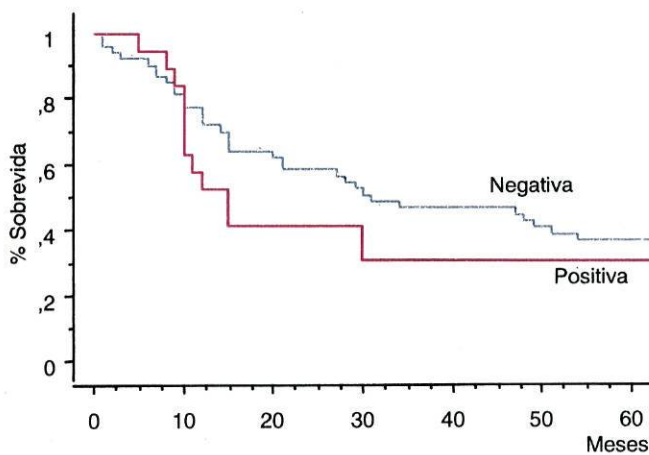


Figura 18 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes de acordo com a imunorreactividade para o MUC2. A diferença registada nas curvas de sobrevida não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

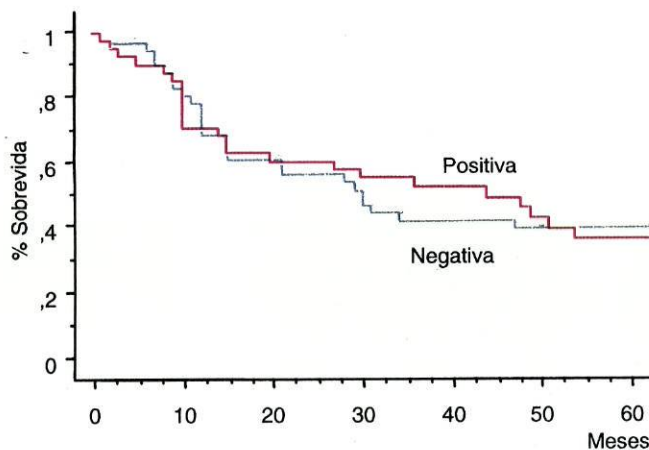


Figura 19 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes de acordo com a imunorreactividade para o MUC5AC. A diferença registada nas curvas de sobrevida não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Resultados

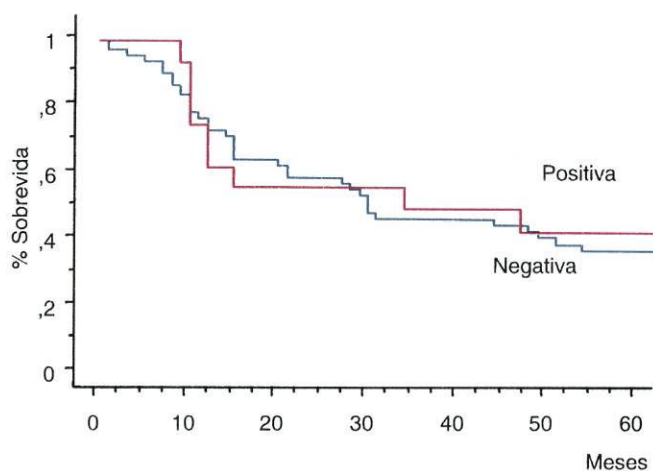


Figura 20 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes de acordo com a imunoreactividade para o MUC6. A diferença registada nas curvas de sobrevida não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

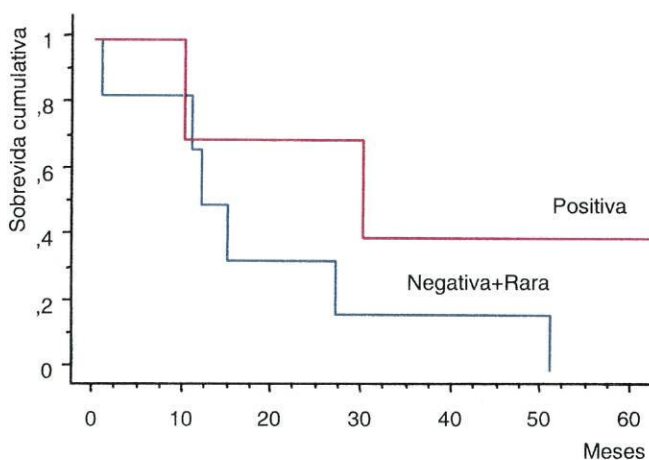


Figura 21 – Sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinoma do cárdia de acordo com a imunoreactividade para o MUC1 infraglicosilado. A diferença registada nas curvas de sobrevida aproximou-se do limiar da significância estatística ($p=0,053$).

A expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago

Neste estudo foram analisadas retrospectivamente secções representativas de 157 carcinomas gástricos ressecados no Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João. A expressão de *c-erb B-2* foi observada em 24 carcinomas (15,3%) (Fig. 22, 23 e 24).

A distribuição dos casos de acordo com os parâmetros avaliados e a expressão de *c-erb B-2* está resumidamente descrita no quadro 31.

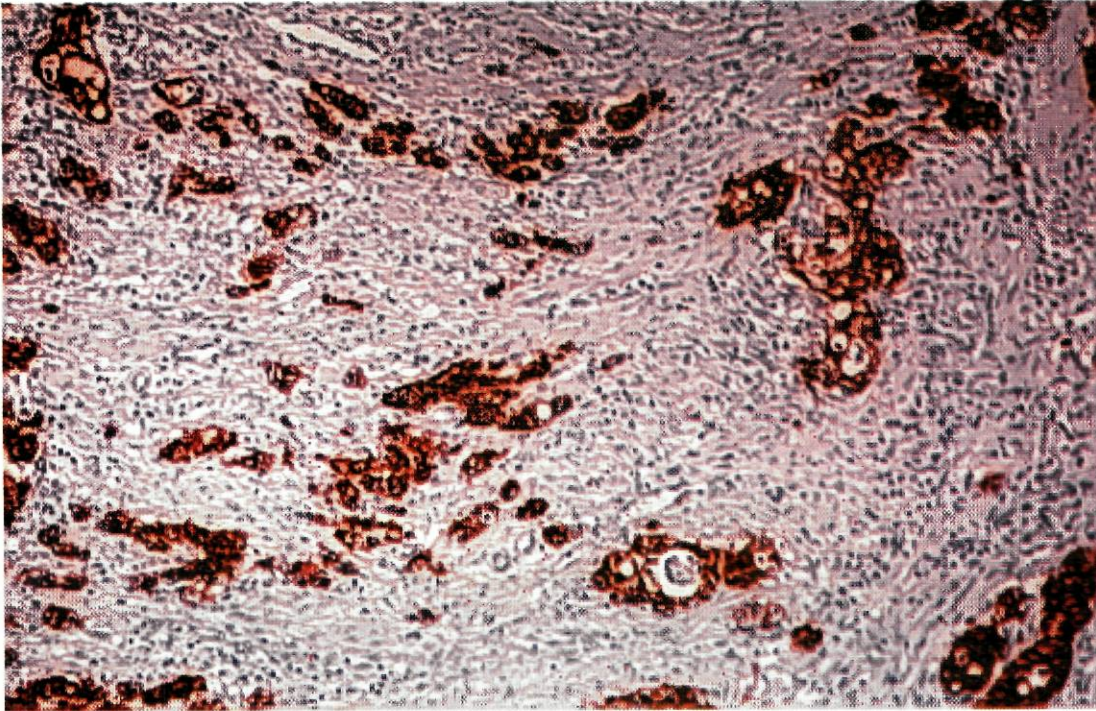


Figura 22 - Imunoreactividade para o *c-erb B-2* num carcinoma do tipo difuso de Laurén

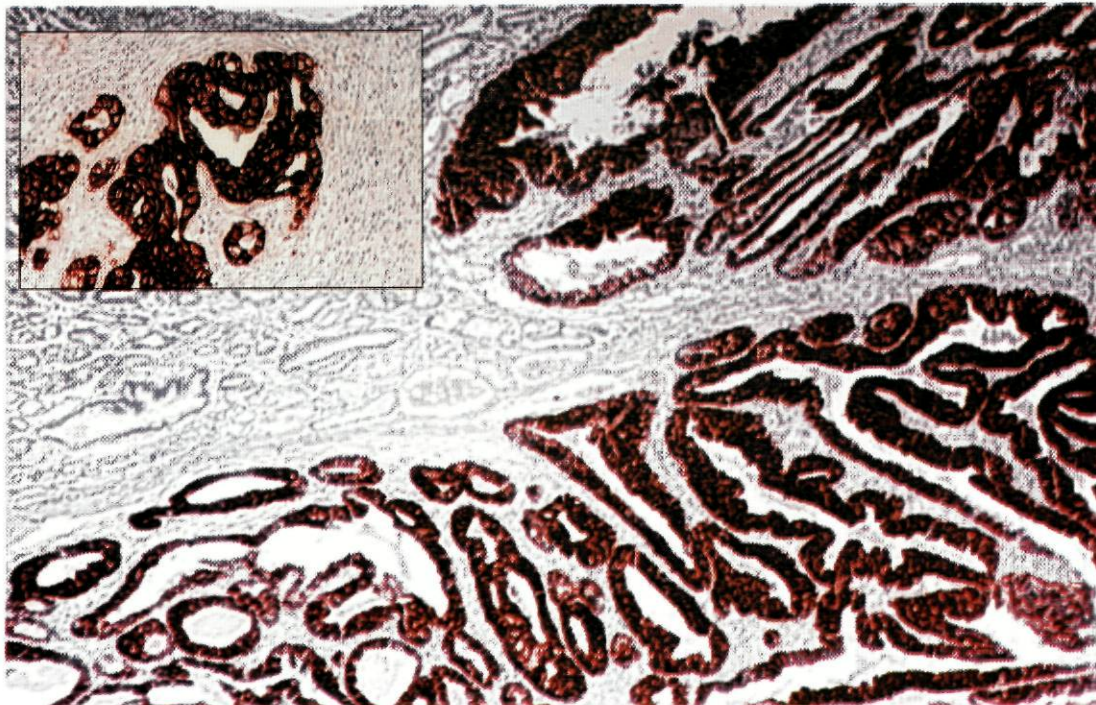


Figura 23 - Imunoreactividade para o *c-erb B-2* num carcinoma do tipo intestinal de Laurén. O pormenor representa a coloração positiva da membrana celular para *c-erb B-2*.

Resultados

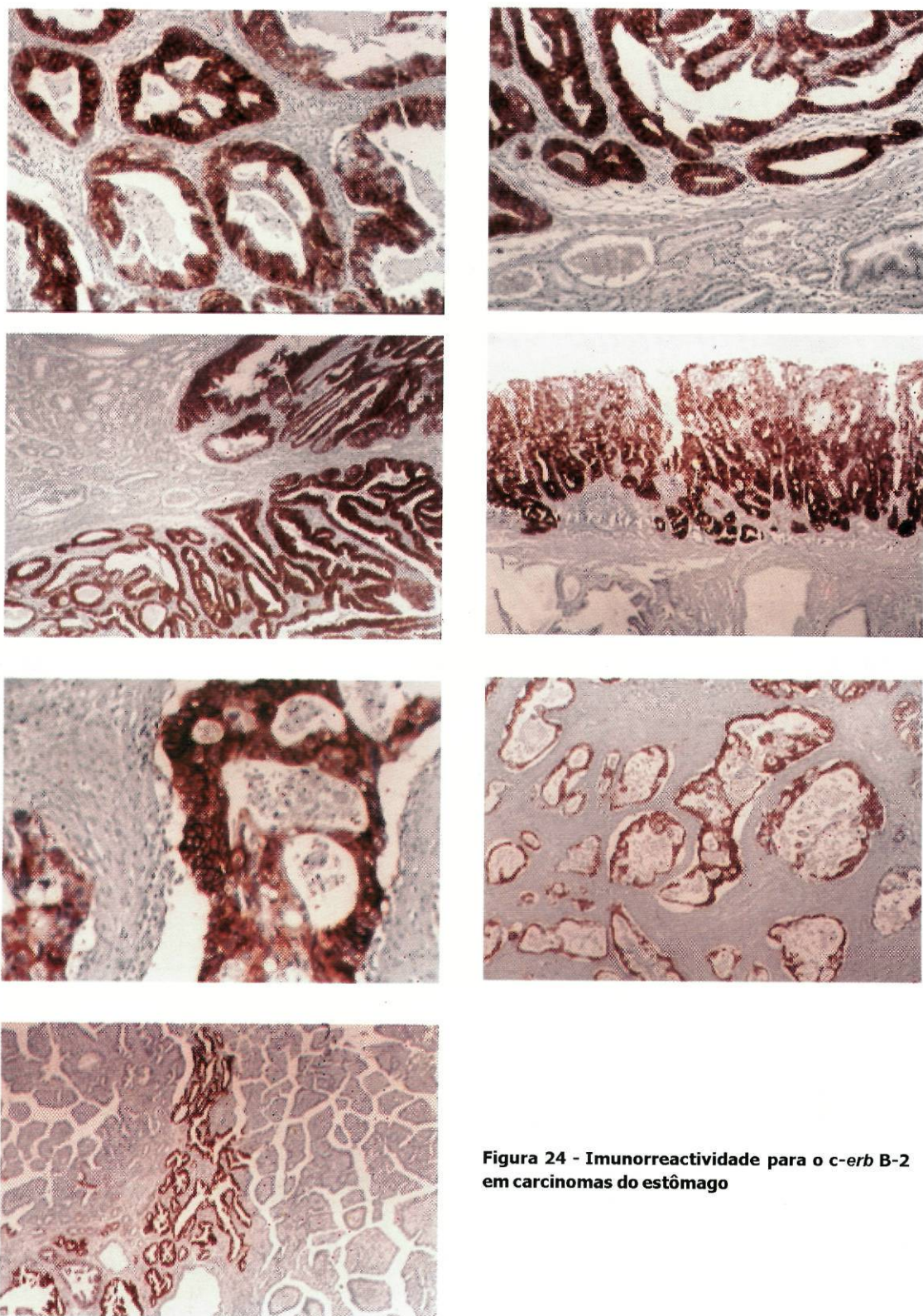


Figura 24 - Imunoreactividade para o c-erb B-2 em carcinomas do estômago

Quadro 31 – Resumo da distribuição dos parâmetros clínico-patológicos de acordo com a expressão de c-erb B-2.

Parâmetros	Expressão de c-erb B-2		Valor de p
	Sem expressão de c-erb B-2 n (%)	Com expressão de c-erb B-2 n (%)	
Idade (n=156)			ns
< 40 anos	12 (92,3)	1 (7,7)	
40-65 anos	58 (84,1)	11 (15,9)	
> 65 anos	63 (84,0)	12 (16,0)	
Sexo (n=157)			ns
Masculino	83 (83,0)	17 (17,0)	
Feminino	50 (87,7)	7 (12,3)	
Localização do carcinoma (n=157)			0,01
Cárdia	32 (76,2)	10 (23,8)	
Fundo/corpo	24 (75,0)	8 (25,0)	
Antro	77 (92,8)	6 (7,2)	
Tamanho do tumor (n=155)			ns
<= 5 cm	59 (85,5)	10 (14,5)	
> 5 cm	72 (83,7)	14 (16,3)	
Forma macroscópica (n=152)			ns
Veget./ulcerovegetante	39 (76,5)	12 (23,5)	
Ulcerado/ulceroinfiltrante	76 (87,4)	11 (12,6)	
Infiltrante	14 (100,0)	0 (0,0)	
Classificação de Laurén (n=151)			ns
Intestinal	64 (81,0)	11 (19,0)	
Difuso	42 (95,5)	2 (4,5)	
Não classificável	23 (82,1)	5 (17,9)	
Classificação de Carneiro et al. (n=135)			ns
Glandular	40 (83,3)	8 (16,7)	
Misto	43 (82,7)	9 (17,3)	
Cél. anel de sinete	23 (100,0)	0 (0,0)	
Sólido	10 (83,3)	2 (16,7)	
Classificação de Ming (n=151)			ns
Expansivo	41 (87,2)	6 (12,8)	
Infiltrativo	88 (84,6)	16 (15,4)	
Invasão venosa (n=154)			0,04
Ausente	68 (90,7)	7 (9,3)	
Presente	62 (78,5)	17 (21,5)	
Invasão da parede digestiva (n=157)			ns
T1+T2	86 (86,0)	14 (14,0)	
T3 + T4	45 (81,8)	10 (18,2)	
Metastização ganglionar (n=156)			ns
Ausente	42 (85,7)	7 (14,3)	
Presente	90 (84,1)	17 (15,9)	
Estadio pTNM (n=151)			ns
IA+IB+II	66 (96,8)	10 (13,2)	
IIIA+IIIB+IV	61 (81,3)	14 (18,7)	

Resultados

Observou-se uma relação entre a expressão de *c-erb* B-2 e a localização do tumor e entre a expressão de *c-erb* B-2 e a invasão venosa (Quadro 31).

No que se refere à localização dos carcinomas, observou-se que a percentagem de carcinomas do antro com expressão de *c-erb* B-2 (7,2%) foi significativamente inferior à dos carcinomas do cárdia (23,8%) e do fundo/antro (25,0%) ($p=0,01$) (Quadro 31).

A percentagem de carcinomas com invasão venosa e com expressão de *c-erb* B-2 (21,5%) foi significativamente superior em relação à registada nos carcinomas sem invasão venosa (9,3%) ($p=0,04$) (Quadro 31).

Na presente série, não se observaram diferenças significativas na distribuição dos casos de acordo com os restantes parâmetros analisados em relação à expressão de *c-erb* B-2 (Quadro 31).

Não se observaram diferenças significativas na distribuição dos casos de carcinomas do tipo intestinal com expressão de *c-erb* B-2 de acordo com a localização do carcinoma (26,1% no cárdia, 33,3% no fundo/corpo e 9,8% no antro).

O quadro 32 documenta a análise univariada da sobrevida dos doentes da série. Neste estudo, os parâmetros que se associaram de forma significativa com a sobrevida foram os seguintes: idade dos doentes; localização do carcinoma; forma macroscópica; classificações histológicas de Carneiro e colaboradores e de Ming; invasão venosa; profundidade de progressão tumoral na parede digestiva; metastização ganglionar; estadió do carcinoma; e expressão de *c-erb* B-2. Não foram observadas diferenças com significado, do ponto de vista estatístico, em relação à sobrevida cumulativa de acordo com o sexo dos doentes e a classificação histológica de Laurén.

A sobrevida aos 5 anos dos doentes com carcinomas com expressão de *c-erb* B-2 foi de 16,2% e a dos com carcinomas sem expressão de *c-erb* B-2 foi de 43,7% ($p=0,004$) (Quadro 32). As curvas de sobrevida cumulativa relativas à expressão de *c-erb* B-2 estão representadas na figura 25.

O modelo de regressão de Cox ("stepwise") está descrito resumidamente no quadro 33. A análise desta série identificou, na análise multivariada da sobrevida, de entre os factores seleccionados para entrarem no modelo, o estadió do carcinoma ($p<0,0001$), a invasão venosa ($p=0,002$), a expressão de *c-erb* B-2 ($p=0,02$) e a idade ($p=0,04$) como factores independentes de prognóstico nos carcinomas gástricos.

A figura 26 documenta as curvas de sobrevida dos doentes de acordo com a expressão de *c-erb* B-2 e a invasão venosa. As diferenças globais observadas foram estatisticamente significativas ($p<0,0001$).

Quadro 32. Análise univariada da sobrevida dos doentes com carcinoma gástrico.

Parâmetros	Sobrevida aos 5 anos (%)	Valor de p
Idade		0,03
< 40 anos	63,5	
40-65 anos	41,7	
> 65 anos	32,7	
Sexo		ns
Masculino	38,7	
Feminino	41,3	
Localização do carcinoma		0,003
Cárdia	30,5	
Fundo/corpo	17,1	
Antro	54,9	
Tamanho do tumor		0,001
<= 5 cm	51,4	
> 5 cm	28,9	
Forma macroscópica		<0,0001
Vegetante/ ulcerovegetante	34,8	
Ulcerado/ulceroinfiltrante	48,6	
Infiltrante	0,0	
Classificação de Laurén		ns
Intestinal	41,7	
Difuso	43,8	
Não classificável	27,5	
Colaboração de Carneiro e col.		0,02
Glandular	51,5	
Misto	25,0	
Cél. anel de sinete	43,2	
Sólido	45,5	
Classificação de Ming		0,01
Expansivo	55,7	
Infiltrativo	32,0	
Invasão venosa		<0,0001
Ausente	58,6	
Presente	18,8	
Invasão da parede digestiva		<0,0001
T1+T2	53,4	
T3 + T4	15,6	
Metastização ganglionar		<0,0001
Ausente	70,5	
Presente	24,2	
Estadio TNM		<0,0001
IA+IB+II	64,8	
IIIA+IIIB+IV	13,7	
Expressão de c-erb B-2		0,004
Ausente	43,7	
Presente	16,2	

Resultados

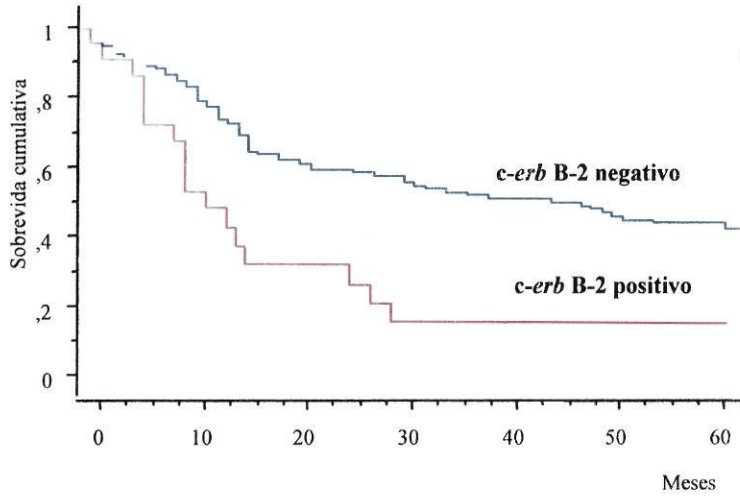


Figura 25. Sobrevida cumulativa global de acordo com a expressão de *c-erb B-2* ($p=0,004$).

Quadro 33 – Resumo do modelo de regressão de Cox para o carcinoma gástrico.

Parâmetros	Valor de p
Estadio	<0,0001
Invasão venosa	0,002
Expressão de <i>c-erb B-2</i>	0,02
Idade	0,04

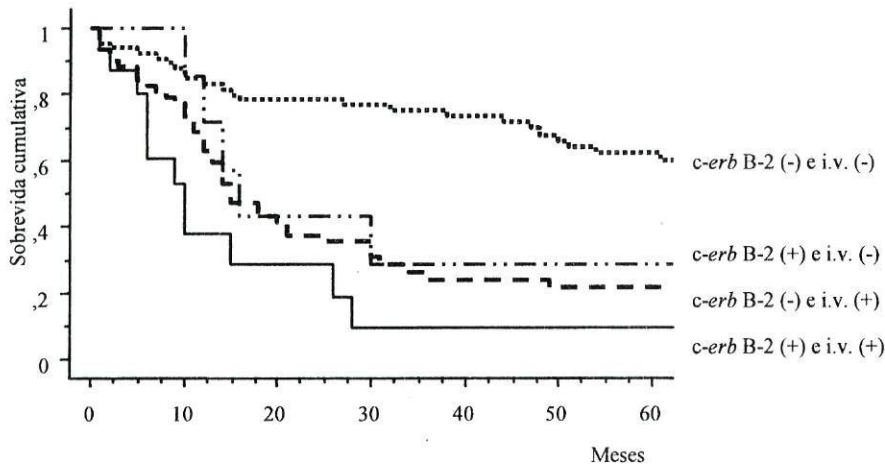


Figura 26. Sobrevida cumulativa dos doentes de acordo com a expressão de *c-erb B-2* e a invasão venosa (i.v). As diferenças observadas foram significativas ($p<0,0001$).

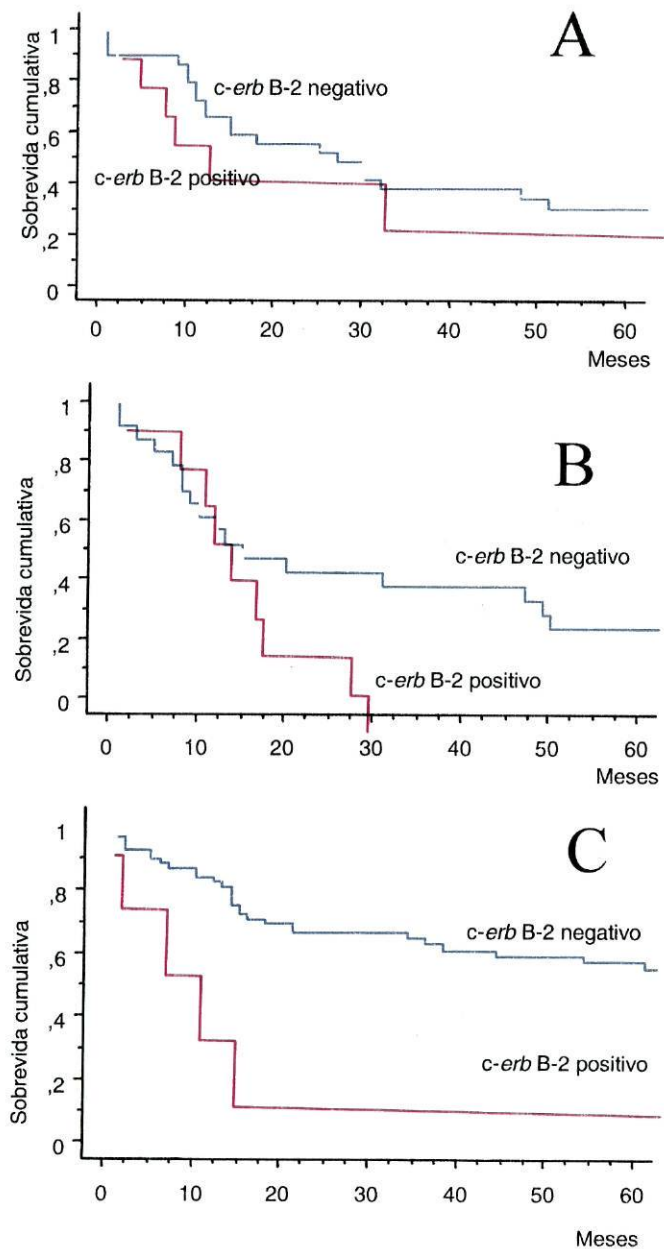


Figura 27. Sobrevida cumulativa dos doentes com carcinomas do cárdia (A), do fundo/corpo (B) e do antro (C) de acordo com a expressão de *c-erb B-2*. Não se observaram diferenças significativas na comparação das curvas nos carcinomas localizados no cárdia (A) e nos localizados no fundo/corpo (B). Os carcinomas com expressão de *c-erb B-2* localizados no antro (C) apresentaram curvas de sobrevida significativamente inferior em relação aos que não apresentaram expressão de *c-erb B-2* ($p=0,02$).

Resultados

Os valores mais elevados da sobrevida cumulativa foram observados nos casos de carcinomas sem invasão venosa e sem expressão de *c-erb B-2*. Os valores mais baixos da sobrevida cumulativa foram observados nos casos de carcinomas com invasão venosa e com expressão de *c-erb B-2*. A curva de sobrevida cumulativa dos casos sem invasão venosa e com expressão de *c-erb B-2* foi semelhante à observada nos casos com invasão venosa e sem expressão de *c-erb B-2*.

Analisou-se a sobrevida dos doentes com carcinomas com e sem invasão venosa e com tumores em diferentes localizações do estômago tendo em consideração a expressão de *c-erb B-2*. Nos carcinomas sem invasão venosa, a sobrevida foi pior nos casos com expressão de *c-erb B-2* (28,6%) que naqueles sem expressão de *c-erb B-2* (61,9%) ($p=0,06$). Nos casos com invasão venosa, a sobrevida dos doentes não variou significativamente em função da expressão de *c-erb B-2*. A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinomas localizados no cárdia (Figura 27A) e no fundo/corpo (Figura 27B) não se relacionou de forma significativa com a expressão de *c-erb B-2*. Pelo contrário, nos carcinoma do antro, a sobrevida aos 5 anos dos casos com expressão de *c-erb B-2* foi pior (20,5%) que a daqueles sem expressão de *c-erb B-2* (57,4%) ($p=0,02$) (Figura 27C).

Discussão

A influência da localização tumoral no comportamento biológico do carcinoma gástrico ainda não está completamente clarificada. Contudo, esta controvérsia reveste-se de uma enorme importância clínica porque o carcinoma do estômago não deve ser encarado como uma doença única, tanto na investigação, quanto na prática clínica, sob pena de esta atitude conduzir a erros graves. Poderá a análise dos resultados observados nas três fases do estudo contribuir para um melhor conhecimento das características clínico-patológicas, da diferenciação tumoral e da agressividade biológica do carcinoma gástrico de acordo com a localização tumoral no estômago?

Definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico do carcinoma do estômago de acordo com a localização

A análise dos resultados observados na primeira etapa do estudo confirma que o carcinoma do estômago é uma doença heterogênea. Também contribuiu para a clarificação do perfil clínico e patológico dos carcinomas que se originam nas diferentes localizações gástricas e, simultaneamente, ajudou a definir os factores de prognóstico em cada localização tumoral.

Os resultados evidenciaram que os carcinomas com origem no cárdia e no fundo/corpo partilham entre si algumas características clínicas e patológicas e que essas características os distinguem dos carcinomas do antro: a forma macroscópica, o tamanho do tumor, o grau de penetração na parede digestiva, a invasão venosa, a metastização ganglionar e o estadió patológico (pTNM).

No estudo observou-se uma frequência relativamente elevada de carcinomas infiltrativos e vegetantes/úlceró-vegetantes no cárdia e no fundo/corpo em relação ao antro, facto este que, tanto quanto é do nosso conhecimento, ainda não tinha sido descrito. Este achado não parece estar relacionado com as características histopatológicas dos tumores.

Discussão

Verificou-se que os carcinomas do antro eram mais pequenos em comparação com os do cárdia ou com os do fundo/corpo. Esta observação está de acordo com os dados de outros estudos ^{Maehara 1991, Watanabe 1998}. Aparentemente, é fácil de compreender que os carcinomas localizados no fundo/corpo possam crescer até atingirem grandes dimensões, devido às dimensões e distensibilidade do terço médio do estômago. Porém, apesar da elasticidade do esófago, já é mais difícil encontrar uma explicação plausível para o facto de os carcinomas do cárdia conseguirem atingir grandes dimensões numa zona de diâmetro estreito como é a junção esófago-gástrica. O crescimento subsequente destes tumores do cárdia para a parte proximal do estômago ou o desenvolvimento inicial destes tumores no fundo do estômago e a invasão ulterior do cárdia pode contribuir para explicar este aparente paradoxo.

A invasão da parede digestiva é um factor de prognóstico que se revelou importante ^{Allgayer 1997, Dhar 2000, Siewert 1995, Watanabe 1998}. Os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo foram ressecados em fases mais avançadas de progressão na parede digestiva em comparação com os carcinomas do antro. Para explicar a maior progressão na parede digestiva encontrada nos carcinomas do cárdia tem sido apontado o facto de na face posterior da transição esófago-gástrica e do fundo gástrico não existe serosa, pelo que os tumores que se desenvolvem nessas regiões não encontram tanta dificuldade à sua progressão transmural e extraparietal ^{Siewert 1995, Siewert 1999(b), Watanabe 1998}.

Tanto a invasão venosa como a metastização ganglionar ocorreram mais frequentemente nos carcinomas do cárdia e do fundo/corpo que nos do antro. Estas observações estão em consonância com as de Siewert e col. ^{Siewert 1995}, com as de Watanabe e col. ^{Watanabe 1998} e ainda com as de Maehara e col. ^{Maehara 1991}. E os nossos resultados suportam também o conceito de que a invasão linfática nos carcinomas gástricos proximais é mais frequente que a observada nos carcinomas gástricos distais ^{Siewert 1995, Siewert 1996(b), Wang 1993}. A importância da metastização ganglionar e da invasão venosa na determinação do prognóstico é bem conhecida e tem sido apontada frequentemente na literatura ^{Adachi 1995, Dhar 2000, Gouveia 2001, Ikeguchi 1995, Isozaki 1995, Kajiyama 1997, Kitamura 1998, Maehara 1991, Mendes de Almeida 1999, Moutinho-Ribeiro 1988, Roder 1998, Siewert 1995, Siewert 1998, Watanabe 1998, Yu 1997}.

Os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo foram ressecados em estadios (pTNM) mais avançados em comparação com os carcinomas do antro. Estes resultados, que estão em conformidade com outros estudos ^{Nakane 1993, Siewert 1995}, reflectem o efeito cumulativo do potencial agressivo de cada um dos factores, nomeadamente da penetração na parede digestiva, da invasão/metastização ganglionar e da invasão venosa.

No que se refere à distribuição dos casos segundo o sexo e a classificação de Laurén, verificou-se que os carcinomas do fundo/corpo eram distintos dos do cárdia e semelhantes aos do antro. Nos carcinomas do cárdia observou-se uma relação sexo masculino/sexo feminino (3,7:1) superior à registada nos carcinomas do fundo/corpo (1,5:1) e nos do antro (1,4:1). Estes resultados são coincidentes com os dados relatados por outros autores ^{Antonilli 1982, Siewert 1995} e reforçam a convicção de que os doentes do sexo masculino estão

mais expostos aos factores exógenos envolvidos na génese do carcinoma do cárdia, tais como o álcool e o tabaco ^{Kalish 1984}.

No cárdia registou-se uma frequência relativa de carcinomas do tipo intestinal superior à observada nas localizações gástricas mais distais, o que também foi verificado por outros autores ^{Siewert 1995}. A frequência elevada de carcinomas do tipo intestinal de Laurén no cárdia está de acordo com o predomínio destas lesões no sexo masculino ^{Kalish 1984} e também com a "migração proximal" do carcinoma gástrico ^{Siewert 1995}. Estes factos são também suporte evidente do efeito importante dos factores ambientais no desenvolvimento do carcinoma do cárdia.

Em relação à idade dos doentes não se registaram diferenças significativas entre os carcinomas nas três localizações. Esta observação não é concordante com estudos prévios que indicam que os doentes com carcinoma do cárdia e do estômago proximal são, em geral, mais novos em relação aos doentes com carcinomas gástricos distais ^{Siewert 1995}.

Não se registaram diferenças significativas na distribuição dos carcinomas do cárdia, do fundo/corpo e do antro de acordo com as classificações de Carneiro e col. ^{Carneiro 1995} e de Ming ^{Ming 1977}, e, também, segundo a reacção desmoplásica.

A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma distal foi significativamente superior à dos doentes com carcinoma proximal, o que constitui uma observação sobreponível à verificada noutros estudos ^{Lardenoye 1998, Maehara 1991, Siewert 1995, Watanabe 1998}. Pôde também ser observado na nossa série que os doentes com carcinoma do cárdia tiveram sobrevida semelhante à dos doentes com carcinoma localizado no fundo/corpo. A maior frequência relativa de neoplasias avançadas no cárdia e no fundo/corpo, tanto no nosso estudo, como em outros trabalhos publicados ^{Lardenoye 1998, Siewert 1995}, parece indicar que a sobrevida destes doentes está essencialmente dependente do estadio dos carcinomas.

Neste estudo, a comparação das curvas de sobrevida entre cada uma das três localizações, em relação aos diversos factores clínicos e patológicos, evidenciou diferenças significativas nalguns subgrupos de doentes (Quadro 17). Os doentes com idade superior a 65 anos tiveram sobrevida mais curta quando o carcinoma se localizou no cárdia. Para esta pior sobrevida pode ter contribuído a maior taxa de morbilidade e de mortalidade nos doentes com mais de 65 anos.

Dos doentes com carcinomas em estadios mais avançados tiveram pior prognóstico aqueles tumores localizados no fundo/corpo e no antro comparativamente aos localizados no cárdia. Esta observação está provavelmente relacionada com infra-estadiamento nos carcinomas do cárdia. O infra-estadiamento do carcinoma do cárdia pode decorrer da falta de serosa na zona da transição esófago-gástrica e do desconhecimento do significado da metastização ganglionar directa para os gânglios linfáticos retroperitoneais ^{Allgayer 1997, Siewert 1995, Siewert 1999(b), Wang 1993}. Alguns autores ^{Siewert 1995} afirmam que estas

Discussão

disposições anatómicas devem ser tidas em consideração no estadiamento do carcinoma do cárdia. É provável que só após alguns ajustamentos necessários no estadiamento seja possível efectuar com rigor comparações entre o prognóstico de doentes com carcinomas nas três localizações gástricas.

No modelo de regressão de Cox foram identificados o estadio (estadio "antigo") e a invasão venosa como factores determinantes e independentes de prognóstico comuns às três localizações. Estes resultados são coerentes com os de outros estudos que demonstram que o prognóstico dos carcinomas gástricos depende, essencialmente, do estadio ^{Allgayer 1997, Moutinho-Ribeiro 1988, Siewert 1995}. A importância da invasão venosa no prognóstico dos carcinomas do estômago também tem sido ilustrada noutros trabalhos ^{Carneiro 1995, Gouveia 2001, Moutinho-Ribeiro 1988, Pinto de Sousa (a), Pinto de Sousa 2001(b), Korenaga 1989}. Para além do estadio e da invasão venosa, o modelo de Cox identificou também a idade como factor de prognóstico para o carcinoma do cárdia e o tamanho do tumor para o carcinoma do fundo/corpo. A idade, apesar da existência de estudos multicêntricos ^{Allgayer 1997, Roder 1993}, não tem sido identificada na literatura, de forma consistente, como factor de prognóstico do carcinoma do cárdia ou do estômago. Não temos conhecimento de algum estudo ter identificado o tamanho do tumor como um factor determinante e independente do prognóstico do carcinoma do estômago.

Em resumo, os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo partilharam uma percentagem relativamente baixa de casos ulcerados/úlceros-infiltrantes e uma frequência elevada de carcinomas de maior tamanho (> 5cm), com penetração na parede gástrica, com invasão venosa, com metástases ganglionares e de estadios tumorais mais avançados. Por isso, e como seria de esperar a partir destas observações, os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo apresentaram curvas de sobrevida semelhantes e significativamente inferiores em comparação com as observadas no antro.

Os carcinomas do fundo/corpo foram distintos dos do cárdia e semelhantes aos do antro no que se refere a uma relativamente elevada frequência de doentes do sexo feminino e a uma elevada percentagem de carcinomas difusos da classificação de Laurén.

Os nossos resultados mostram que os carcinomas do cárdia e os do antro são entidades distintas de carcinoma gástrico enquanto que os do fundo/corpo partilham algumas características das duas distintas entidades.

A expressão das mucinas no carcinoma gástrico

Os resultados da avaliação do papel das mucinas (MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6) no cancro do estômago confirmam que a expressão das mucinas está associada a características de diferenciação do carcinoma

gástrico. O estudo evidenciou que a expressão das mucinas gástricas – MUC1, MUC5AC e MUC6 – se modifica a níveis variados nos carcinomas do estômago.

A mucina MUC5AC exprime-se de forma específica nas células foveolares e nas do colo das glândulas da mucosa normal do estômago ^{Reis 1997}. Estas células são tidas como as células gástricas específicas para a produção de muco ^{Fiocca 1987}. Os nossos resultados evidenciaram que muitos dos carcinomas do tipo difuso de Laurén (65% dos casos) mantinham a expressão desta mucina gástrica. Em contraste, apenas 33% dos carcinomas inclassificáveis de Laurén apresentavam expressão de MUC5AC. Estes resultados, que mostram uma associação da expressão de MUC5AC com o carcinoma gástrico do tipo difuso, estão de acordo com estudos prévios, nos quais se adiantava que os carcinomas do tipo difuso mantêm habitualmente algumas características de diferenciação gástrica ^{Carneiro 1992, Fiocca 1987, Reis 1997}. Neste estudo foi também possível demonstrar que a expressão de MUC5AC se associou com carcinomas que evidenciavam um padrão de crescimento infiltrativo de acordo com a classificação de Ming. Esta associação poderá reflectir que muitos dos carcinomas do tipo difuso também apresentam um padrão de crescimento infiltrativo ^{Cameiro 1995, Laurén 1965, Ming 1977}.

À semelhança do registado em estudos prévios, a expressão da mucina MUC6 observou-se numa pequena percentagem (22%) de carcinomas gástricos ^{Reis 2000}. Como já tinha sido identificado, na mucosa gástrica normal, a expressão de MUC6 associa-se à diferenciação mucopéptica ^{DeBolíós 1995, Reis 2000}. Os resultados deste estudo parecem indicar que a diferenciação mucopéptica não é um dado proeminente nos carcinomas gástricos e que, quando está presente, não se associa com nenhum tipo histológico particular de carcinoma do estômago. Estas observações estão em consonância com estudos anteriores histoquímicos, imunohistoquímicos e ultraestruturais, os quais provaram que as células mucopépticas ocorrem apenas numa pequena percentagem de carcinomas gástricos, independentemente dos seus tipos histológicos ^{Fiocca 1987}.

A avaliação da expressão da mucina MUC1 no carcinoma do estômago foi realizada através da utilização de dois anticorpos monoclonais específicos. O anticorpo monoclonal HMFG1 reage com a mucina MUC1 independentemente da sua forma de glicosilação ^{Taylor-Papafimitriou 1981}. Oitenta por cento dos carcinomas gástricos reagiram positivamente com o anticorpo HMFG1. A utilização do anticorpo SM3 permite apenas a identificação das formas infraglicosiladas de MUC1. No nosso estudo, registou-se imunoreactividade para o anticorpo SM3 em metade dos casos. A expressão da mucina MUC1 (tanto na forma completamente glicosilada, como na forma infraglicosilada) não se associou, neste estudo, com nenhum tipo histológico particular de carcinoma do estômago. Num estudo anterior tinha sido observada uma associação significativa entre a imunoreactividade com o anticorpo SM3 e os carcinomas não classificáveis de acordo com Laurén ^{Reis 1998}. A ausência de associação neste estudo da expressão do MUC1 com a diferenciação do carcinoma gástrico pode estar dependente do número reduzido de casos analisados em comparação com o estudo anterior.

Discussão

Os resultados deste trabalho mostraram uma expressão aberrante da mucina intestinal MUC2 em 26% dos carcinomas da série, o que está em sintonia com os resultados apontados noutros estudos ^{Baldus 1998, Ho 1995}. Também está em concordância com observações prévias ^{Reis 2000} que revelaram a expressão proeminente de MUC2 nos carcinomas mucinosos do estômago. A expressão da mucina MUC2 tem sido descrita em carcinomas mucinosos do cólon, do pâncreas, da mama e do ovário ^{Hanski 1997}. Considerando que a expressão de MUC2 nas células normais do estômago e na metaplasia intestinal está intimamente associada com o fenótipo de células "goblet" ^{Devine 1993, Gambús 1993, Ho 1993, Reis 1999}, os resultados observados parecem sugerir que as células "goblet" são comuns nos carcinomas mucinosos, o que é consistente com observações histoquímicas e ultraestruturais precedentes ^{Fiocca 1987}.

Neste estudo não foi observada qualquer associação estatisticamente significativa entre o padrão de expressão das mucinas avaliadas, MUC1, MUC2, MUC5Ac e MUC6, e os parâmetros clínicos e patológicos que têm influência no comportamento biológico do carcinoma do estômago. Deste modo, não foi possível confirmar observações prévias que indicavam que as mucinas poderiam desempenhar um papel na avaliação do comportamento clínico e patológico destes tumores. Com efeito, uma das associações anteriormente descritas relacionava-se com o facto de a expressão de MUC5AC ser mais frequente nos "early cancers" gástricos (100%) quando comparada com a expressão nos carcinomas gástricos avançados (58,6%) ^{Reis 1997}. Outro dado anteriormente apontado referia-se à associação entre a sobre-expressão de MUC1 e o pior prognóstico dos carcinomas do estômago ^{Baldus 1998, Lee 2001, Reis 1998(a)}. Com base nos dados do presente trabalho, não foi possível confirmar a utilidade de qualquer uma das mucinas estudadas, incluindo o MUC1 e o MUC5AC, na avaliação do prognóstico, provavelmente por causa do reduzido número de casos estudados nesta série.

O presente trabalho representa o primeiro estudo pormenorizado do padrão de expressão das mucinas em função da localização do carcinoma (cárdia, fundo/corpo e antro). O padrão de expressão das mucinas poderá ser um instrumento importante para avançar no conhecimento e na interpretação das diferentes entidades clínicas e patológicas do carcinoma do estômago, isto é, dos carcinomas gástricos proximais e distais ^{Pinto de Sousa 2001(a), Pinto de Sousa 2001(b), Siewert 1995}.

Na análise desta série de doentes foi possível observar diferenças significativas na distribuição das mucinas MUC2 e MUC5AC nas três localizações de carcinoma do estômago, mas não se registaram diferenças relativamente à distribuição do MUC1 (independentemente da forma de glicosilação) e à do MUC6. A expressão da mucina intestinal MUC2 foi observada mais frequentemente nos carcinomas localizados no cárdia (50%), relativamente aos carcinomas localizados no fundo/corpo (17,4%) e aos localizados no antro (21,1%). Estas observações poderão reflectir o facto de os carcinomas do cárdia serem diagnosticados e ressecados em estadios mais avançados do que os carcinomas do antro ^{Nakane 1993, Pinto de Sousa 2001(a), Pinto de Sousa 2001(b), Siewert 1995} e estão em harmonia com a hipótese de um padrão de expressão de mucinas mais heterogéneo e de expressão de mucinas "não gástricas" *de novo* em carcinomas gástricos mais avançados como descrito por Ho e colaboradores ^{Ho 1995}.

Neste estudo, os carcinomas localizados no antro gástrico apresentaram expressão de MUC5AC numa percentagem de casos significativamente superior em relação à dos carcinomas localizados no fundo/corpo. A percentagem superior de expressão de MUC5AC no antro gástrico poderá estar, quer na dependência da menor frequência relativa de carcinomas avançados do antro em comparação com a dos carcinomas mais proximais, quer da maior percentagem de carcinomas difusos no estômago distal ^{Pinto de Sousa 2001(a)}, quer de ambas.

Em resumo, no presente trabalho que reflecte a análise do carcinomas do estômago na perspectiva da expressão de algumas mucinas (MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6) foi possível evidenciar que: 1) a expressão das mucinas se associou com o tipo de carcinoma (MUC5AC com os carcinomas difusos e infiltrativos, e MUC2 com carcinomas mucinosos), mas que não se associou com o comportamento clínico-biológico dos tumores; 2) a expressão das mucinas se associou com a localização tumoral (MUC5AC com carcinomas do antro e MUC2 com carcinomas do cárdia), reflectindo, pelo menos indirectamente, diferenças na diferenciação tumoral de acordo com a localização.

A expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago

Os resultados observados no presente estudo indicam que a expressão de *c-erb B-2* não só está associada de forma significativa com alguns parâmetros clínicos e patológicos do carcinoma do estômago mas também tem impacto na sobrevida dos doentes.

A expressão de *c-erb B-2* foi observada em 15,3% dos casos estudados. Esta percentagem está de acordo com a referida em vários trabalhos sobre carcinoma do estômago previamente publicados ^{Nakajima 1999, Orita 1997, Tsugawa 1998, Yonemura 1991, Yonemura 1998}, mas é consideravelmente mais baixa que a observada em séries sobre carcinoma da mama ^{Heintz 1990, Piccart 2001}.

A percentagem de casos na nossa série com expressão de *c-erb B-2* foi mais elevada nos carcinomas do cárdia e do fundo/corpo e nos carcinomas com invasão venosa. Ao contrário das nossas observações, Albino e colaboradores referem que, na série por eles analisada, não se registou expressão de *c-erb B-2* nos carcinomas do cárdia (0% de 40 casos) enquanto que a expressão de *c-erb B-2* fora de 10% nos 40 casos estudados de carcinoma do antro ^{Albino 1995}. Amadori e colaboradores não observaram diferenças significativas numa série de 124 doentes em relação à expressão de *c-erb B-2* de acordo com a localização do carcinoma no estômago ^{Amadori 1997}.

A percentagem mais elevada de expressão de *c-erb B-2* nos carcinomas do cárdia e nos do fundo/corpo poderia estar na dependência, não só da maior frequência de carcinoma do tipo intestinal observada

Discussão

nessas localizações ^{Pinto de Sousa 2001(a), Siewert 1995}, mas também da maior percentagem de carcinoma do tipo intestinal com expressão de *c-erb B-2* em comparação com a dos difusos ^{Dursum 1998, Nakajima 1999}. Porém, no nosso estudo, a percentagem de carcinomas do tipo intestinal de Laurén com expressão de *c-erb B-2* não foi significativamente diferente no cárdia, no fundo/corpo e no antro (dados não mostrados nos resultados). Por esse motivo, de acordo com esses resultados, a mais frequente expressão de *c-erb B-2* nos carcinomas gástricos proximais parece ser independente do tipo histológico.

A associação entre a expressão de *c-erb B-2* e a invasão venosa observada na nossa série está em concordância com os resultados descritos por Nakajima e colaboradores, os quais evidenciam uma associação significativa entre a expressão de *c-erb B-2* e a amplificação do gene *c-erb B-2* ^{Nakajima 1999}.

Ao contrário de muitos estudos anteriores ^{Dursum 1999, Kameda 1990, Mizutani 1993, Nakajima 1999, Park 1989, Polkowski 1999, Yokota 1986, Yokota 1988, Yonemura 1991}, não observamos qualquer associação estatisticamente significativa entre a imunorreactividade para o *c-erb B-2* e o tipo intestinal de carcinoma gástrico. De igual modo, não observamos qualquer associação significativa entre a expressão de *c-erb B-2* e os estadios (mais avançados) do carcinoma do estômago. Esta falta de associação entre a expressão de *c-erb B-2* e estadio do carcinoma do estômago está de acordo com dois estudos prévios ^{Amadori 1997, Nakajima 1999}, mas não coincide com outros ^{Gurel 1999, Orita 1997, Polkowski 1999, Yonemura 1991, Yonemura 1999}. A falta de consenso relativamente à relação entre a expressão de *c-erb B-2* e os parâmetros referidos, a classificação de Laurén e o estadio dos carcinomas, pode estar dependente de razões diversas: da natureza subjectiva da classificação de Laurén; de critérios de selecção distintos e de tamanhos diferentes das populações analisadas; ou de diferentes metodologias usadas no estudo da expressão do *c-erb B-2*.

A influência da expressão do *c-erb B-2* na sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago não está ainda claramente definida, sendo os resultados até agora publicados ainda muito contraditórios. Tendo em linha de conta os resultados descritos em algumas séries, a expressão de *c-erb B-2* reúne as condições necessárias para ser considerada um factor de prognóstico do carcinoma do estômago ^{Albino 1995, Nakajima 1999, Orita 1997, Tsugawa 1998, Uchino 1993, Yonemura 1991}. Porém, de acordo com outros estudos, a expressão de *c-erb B-2* não influenciou de forma significativa a sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago ^{Amadori 1997, Gurel 1999, Ortolani 1993, Polkowski 1999}. No nosso estudo, a expressão de *c-erb B-2* influenciou a sobrevida dos doentes, não só em análise univariada, mas também no modelo de regressão de Cox. A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do estômago e com expressão de *c-erb B-2* foi inferior em comparação com a dos doentes com carcinoma sem expressão de *c-erb B-2*.

A análise das curvas de sobrevida de acordo com a expressão de *c-erb B-2* e também com a invasão venosa documentou resultados com particular interesse. A expressão de *c-erb B-2* influenciou de forma negativa a sobrevida cumulativa dos doentes tanto nos casos com invasão venosa como nos carcinomas sem invasão venosa. Tomando em linha de conta que a invasão venosa exerce um efeito independente na sobrevida dos doentes, os nossos resultados parecem sugerir que a invasão venosa e a expressão de *c-erb*

B-2 devem ser parâmetros a considerar quando da decisão de esquema terapêuticos pós-cirurgia de ressecção.

Os nossos resultados indicam pela primeira vez que a expressão de *c-erb* B-2 influencia de forma diferente a sobrevida cumulativa dos doentes com carcinomas nas diferentes localizações do estômago (cárdia, fundo/corpo e antro). Os doentes com carcinomas do antro e com expressão de *c-erb* B-2 tiveram sobrevida significativamente pior em comparação com o que se observou nas outras localizações, onde não se registaram diferenças significativas na sobrevida de acordo com a expressão de *c-erb* B-2. De acordo com dados obtidos na primeira fase deste trabalho, os carcinomas do cárdia e do fundo/corpo são tratados em estadios mais avançados comparativamente às lesões mais distais e por isso têm pior prognóstico. Deste modo, o efeito do estadio pode nas lesões proximais “esbater” o efeito de outros parâmetros e contribuir parcialmente para explicar que o valor prognóstico do *c-erb* B-2 seja mais relevante nos carcinomas localizados no antro.

Em resumo, a expressão de *c-erb* B-2 relacionou-se significativamente com a sobrevida dos doentes submetidos a gastrectomia por carcinoma. Além disso, os nossos resultados ainda mostraram que: 1) a expressão de *c-erb* B-2 teve um efeito negativo na sobrevida cumulativa dos doentes que foi independente da influência da invasão vascular venosa; 2) a expressão de *c-erb* B-2 influenciou significativamente a sobrevida dos carcinomas do antro, mas não influenciou a sobrevida dos carcinomas localizados no cárdia e no fundo/corpo.

Discussão

Conclusões

Os resultados obtidos suportaram a identificação de entidades com características clínico-patológicas distintas e com prognóstico diferentes de acordo com a localização dos carcinomas no estômago. Foi também possível evidenciar diferenças significativas, não só em relação aos marcadores de diferenciação tumoral, como também nos marcadores de agressividade biológica.

A análise dos resultados da **definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico do carcinoma do estômago de acordo com a localização tumoral** possibilita as seguintes conclusões:

Os carcinoma do cárdia e os do fundo/corpo apresentaram algumas características comuns, as quais foram distintas das dos carcinomas do antro: forma macroscópica, tamanho do tumor, profundidade de invasão da parede digestiva, invasão venosa, metastização ganglionar e estadio (pTNM).

Os carcinomas do fundo/corpo foram distintos dos do cárdia e semelhantes aos do antro em relação à distribuição dos casos de acordo com o sexo dos doentes e também com a classificação de Laurén.

A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do antro foi significativamente superior à dos doentes com carcinomas do cárdia ou do fundo/corpo. A diferença entre a sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do cárdia e a dos doentes com carcinoma do fundo/corpo não foi estatisticamente significativa.

O estadio e a invasão venosa foram factores de prognóstico comuns aos carcinomas nas três localizações. A idade dos doentes e o tamanho dos tumores foram os restantes factores de prognóstico identificados no modelo de Cox, respectivamente para os carcinomas do cárdia e para os do fundo/corpo.

Os nossos resultados mostraram que o carcinoma do cárdia e o do antro constituem entidades diferentes de carcinoma gástrico, enquanto que o carcinoma do fundo/corpo partilha algumas características com as duas entidades individualizadas.

A análise do estudo do padrão de **expressão das mucinas (MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6) no carcinoma do estômago** evidenciou uma associação entre aquele padrão e as características de diferenciação dos carcinomas gástricos e permitiu apontar as seguintes conclusões:

Conclusões

O padrão de expressão das diferentes mucinas foi muito heterogéneo: a mucina MUC1 totalmente glicosilada estava expressa em 89% dos casos; a MUC1 infraglicosilada em 50%; a MUC2 em 26,6%; a MUC5AC em 47,3%; e a MUC6 em 22% dos casos.

A expressão das mucinas associou-se com o tipo histológico do tumor. A mucina MUC5AC associou-se com carcinomas do tipo difuso e com carcinomas com crescimento infiltrativo. A mucina “não gástrica” MUC2 associou-se de forma significativa com os carcinomas mucinosos (todos os casos de carcinoma mucinoso expressaram MUC2).

Não se observaram associações significativas entre o padrão de expressão das diferentes mucinas e as características clínico-patológicas que influenciam o comportamento biológico do carcinoma do estômago. Ainda de acordo com os nossos resultados, o padrão de expressão das mucinas não teve influência significativa na sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago.

A expressão das mucinas foi diferente conforme a localização dos carcinomas (cárdia, fundo/corpo e antro), reflectindo indirectamente diferenças na diferenciação tumoral concordantes com a localização dos carcinomas. A mucina MUC5AC associou-se com os carcinomas do antro e a mucina MUC2 associou-se com os carcinomas do cárdia.

Os resultados do estudo da **expressão de c-erb B-2 no carcinoma do estômago** documentaram uma associação significativa com a localização tumoral no estômago e com a invasão venosa e também uma influência no prognóstico do carcinoma do estômago. Resumidamente, foi possível retirar deste estudo as seguintes conclusões:

O *c-erb B-2* estava sobre-expresso em 15,3% dos casos de carcinoma do estômago. A expressão de *c-erb B-2* foi significativamente mais frequente nos carcinomas do cárdia que nos do antro, independentemente do tipo histológico dos tumores.

A expressão de *c-erb B-2* associou-se de forma significativa com a existência de invasão venosa no carcinoma gástrico.

A expressão de *c-erb B-2* evidenciou-se no modelo de regressão de Cox como um factor de prognóstico do carcinoma do estômago.

A influência da expressão de *c-erb B-2* na sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do estômago foi exercida de forma independente da influência da invasão venosa.

Nos doentes com carcinomas do antro, a expressão de *c-erb B-2* associou-se significativamente aos casos com pior sobrevida

A análise dos resultados parcelares das três etapas deste estudo parece fornecer evidência suficiente para estabelecer que são identificáveis diferentes entidades clínico-patológicas de carcinoma do estômago de acordo com a localização tumoral.

Em resumo, os resultados do estudo parecem comprovar a hipótese central colocada inicialmente. Isto é, os carcinomas do estômago desenvolvidos a partir de mucosas gástricas distintas diferem também nas características clínico-patológicas, na diferenciação tumoral, na agressividade biológica e no prognóstico.

Conclusões

Resumo

Este trabalho procurou contribuir para a clarificação da influência da localização tumoral no perfil clínico-patológico e no prognóstico do carcinoma do estômago.

A hipótese testada neste estudo foi a seguinte: se os carcinomas do estômago se originam em mucosas gástricas diferentes, eles deverão ter também características clínico-patológicas e prognósticos diferentes. A hipótese colocada tem subjacente a eventual identificação de diferentes entidades clínico-patológicas de carcinoma gástrico. As distintas entidades de carcinoma do estômago apresentariam também diferentes padrões de expressão de marcadores de diferenciação tumoral, as mucinas, e de marcadores de agressividade biológica, o *c-erb B-2*

Neste estudo os carcinomas foram classificados em três grupos de acordo com a localização: cárdia, fundo/corpo, e antro. A opção por esta classificação em carcinomas do cárdia, do fundo/corpo e do antro baseou-se em diferenças morfológicas da mucosa gástrica nestas três localizações e também nalguma evidência prévia de diferenças no comportamento biológico dos carcinomas com origem nessas mucosas.

O estudo decorreu em três fases. A primeira etapa consistiu na definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico dos carcinomas do estômago de acordo com a localização tumoral. Na segunda fase do estudo foi investigado o papel da expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 na avaliação da diferenciação e no comportamento clínico-biológico do carcinoma do estômago. Na terceira etapa do estudo foi avaliada a relação do padrão de expressão do *c-erb B-2* com as características clínico-patológicas e com o prognóstico do carcinoma do estômago. Para permitir uma melhor sistematização o resumo de cada uma das etapas será apresentado separadamente.

Definição do perfil clínico-patológico e do prognóstico do carcinoma do estômago de acordo com a localização tumoral

Esta etapa do estudo procurou contribuir para a clarificação da controvérsia acerca da influência da localização no perfil clínico-patológico e no prognóstico do carcinoma do estômago de acordo com a

Resumo

localização tumoral. Os objectivos desta etapa do estudo foram os seguintes: definição do perfil clínico-patológico do carcinoma gástrico de acordo com a localização tumoral; comparação das características clínico-patológicas do carcinoma do estômago nas três localizações; caracterização dos carcinomas em localizações menos estudadas anteriormente, como é o caso do terço médio; comparação da sobrevida dos doentes com carcinoma nas diferentes localizações; identificação dos factores com influência na sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago, globalmente e também em cada uma das localizações; identificação dos factores de prognóstico do carcinoma do estômago em cada uma das localizações; identificação de eventuais entidades clínico-patológicas de carcinoma do estômago de acordo com a localização tumoral.

O trabalho baseou-se no estudo retrospectivo de 302 doentes submetidos a cirurgia de ressecção por carcinoma do estômago, no Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João, entre Janeiro de 1984 e Dezembro de 1996. Os casos foram classificados em carcinomas do cárdia (n=80), do fundo/corpo (n=60) e do antro (n=162). Foram estudados os seguintes parâmetros clínicos e patológicos: idade e sexo dos doentes; forma macroscópica dos carcinomas; classificações de Laurén, de Ming e de Carneiro e colaboradores; desmoplasia; tamanho do tumor; grau de penetração na parede digestiva (pT – pTNM); invasão venosa; invasão linfática; número de gânglios linfáticos examinados; número de gânglios linfáticos invadidos; metástases ganglionares; estadio “antigo” (pTNM - 92 e 93) e estadio “actual” (pTNM - 97); e sobrevida cumulativa.

Os dados relativos à sobrevida dos doentes foram obtidos a partir do Registo Oncológico do Hospital de S. João e dos registos da Unidade de Cirurgia Esófago-Gástrica do Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João. Foi possível obter informação acerca de 97% dos doentes estudados nesta etapa do estudo. A sobrevida cumulativa foi avaliada nas três localizações de acordo com os parâmetros seleccionados para o estudo.

Os programas de computador SPSS 7.5, StatView 5.0 e BMDP foram utilizados na análise estatística dos dados do estudo. As distribuições foram comparadas pelo teste qui-quadrado. A sobrevida cumulativa foi calculada pelo método de Kaplan-Meier e comparada pelo teste log rank. O modelo de regressão de Cox (“Cox regression stepwise”) foi utilizado na identificação dos factores de prognóstico para cada uma das localizações do carcinoma do estômago. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

Os carcinomas do cárdia e os do fundo/corpo apresentaram algumas características comuns, as quais foram distintas das dos carcinomas do antro: forma macroscópica, tamanho do tumor, profundidade de invasão da parede digestiva (pT-pTNM), invasão venosa, metastização ganglionar, e estadio (pTNM). A percentagem de carcinomas infiltrativos no cárdia (12,9%) e no fundo/corpo (17,2%) foi mais elevada em relação à observada no antro (4,0%) (p=0,002 e p=0,001, respectivamente). A percentagem de carcinomas com diâmetro máximo superior a 5 cm foi inferior no antro (44,6%) em comparação com a

observada no cárdia (60,6%) e no fundo/corpo (66,7%) ($p=0,03$ e $p=0,005$, respectivamente). No antro 75,8% dos carcinomas estavam limitados à muscular própria, mas 51,4% dos carcinomas do cárdia e 45,7% dos do fundo/corpo invadiam a serosa ou órgãos adjacentes ($p=0,0002$ e $p=0,02$, respectivamente). A percentagem de carcinomas com invasão venosa foi mais elevada no cárdia (59,7%) do que no carcinoma do antro (33,6%) ($p=0,0002$). A percentagem de metástases ganglionares foi mais elevada nos carcinomas do cárdia (74,3%) e nos do fundo/corpo (76,3%) em relação à observada nos carcinomas do antro (52,3%) ($p=0,002$ e $p=0,002$, respectivamente). Os carcinomas do antro foram diagnosticados e ressecados em estadios menos avançados do que os carcinomas do cárdia ($p=0,004$ e $p<0,0001$, respectivamente para o estadio "antigo" e para o estadio "actual") e do que os do fundo/corpo ($p=0,0009$ e $p=0,002$, respectivamente para o estadio "antigo" e para o estadio "actual").

Os carcinomas do fundo/corpo eram distintos dos do cárdia e semelhantes aos do antro em relação à distribuição dos casos de acordo com o sexo dos doentes e também com a classificação de Laurén. A percentagem de doentes do sexo masculino foi mais elevada nos carcinomas do cárdia (78,8%) do que nos do fundo/corpo (60,0%) ($p=0,02$) e nos do antro (58,0%) ($p=0,001$). A percentagem de carcinomas do tipo intestinal foi semelhante no fundo/corpo (41,1%) e no antro (47,3%) mas foi significativamente inferior à observada no cárdia (63,2%) ($p=0,02$ e $p=0,01$, respectivamente).

No estudo observou-se uma diferença significativa na sobrevida dos doentes com carcinomas nas três localizações ($p=0,006$). A sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do antro foi significativamente superior em relação à dos doentes com carcinomas do cárdia ($p=0,04$) e do fundo/corpo ($p=0,003$). A diferença entre a sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do cárdia e a dos doentes com carcinoma do fundo/corpo não foi estatisticamente significativa. Os parâmetros com influência na sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do cárdia em análise univariada foram os seguintes: idade; forma macroscópica, classificação de Carneiro e colaboradores, classificação de Ming, desmoplasia, invasão venosa, metastização ganglionar e estadio "actual". Em relação ao carcinoma do fundo/corpo, os factores com influência na sobrevida dos doentes foram: forma macroscópica, classificação de Ming, desmoplasia, tamanho do tumor, invasão venosa, estadio "antigo" e estadio "actual". A classificação de Ming, a desmoplasia, o grau de penetração na parede gástrica, a invasão venosa, a metastização ganglionar, o estadio "antigo" e o estadio "actual" foram os parâmetros com influência em análise univariada na sobrevida cumulativa dos doentes com carcinoma do antro.

O estadio e a invasão venosa foram factores de prognóstico comuns aos carcinomas nas três localizações, isto é, no cárdia, no fundo/corpo e no antro. Foram também identificados como factores de prognóstico a idade, nos carcinomas do cárdia, e o tamanho, nos carcinomas do fundo/corpo.

A análise dos nossos resultados evidenciou que o carcinoma do cárdia e o do antro constituem entidades diferentes de carcinoma gástrico, enquanto o carcinoma do fundo/corpo partilha algumas características com aquelas duas entidades individualizadas.

Resumo

A expressão das mucinas no carcinoma do estômago

A mucosa gástrica normal exprime as mucinas MUC1 e MUC5AC no epitélio foveolar e a mucina MUC6 nas células mucosas cervicais e nas glândulas profundas do antro. Em vários estudos têm sido descritas alterações na expressão de mucinas no carcinoma do estômago: expressão aberrante de uma forma infra-glicosilada de MUC1; expressão diminuída das mucinas "gástricas"; e expressão aberrante de mucinas "não gástricas" (MUC2). Nesta etapa do estudo, pretendemos analisar o papel da expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 na diferenciação e no comportamento clínico-biológico de 94 carcinomas do estômago por imunohistoquímica.

Os 94 doentes representam um subgrupo do total de 302 doentes seleccionados como população de base para o trabalho na globalidade. Os doentes seleccionados foram submetidos a ressecção gástrica por carcinoma entre 1984 e 1996 no Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João. Os 94 casos foram classificados em três grupos: cárdia (n=22), fundo/corpo (n=25) e antro (n=47). Os carcinomas foram classificados de acordo com a classificação de Laurén e da Organização Mundial de Saúde (OMS). O padrão de crescimento foi considerado de acordo com a classificação de Ming. O tamanho, a penetração na parede, a metastização ganglionar e a invasão venosa foram parâmetros também registados. No estadiamento destes carcinomas foi utilizada a versão de 1997 do sistema pTNM da UICC (Union Internationale Contra la Cancrum).

A expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 foi estudada por imunohistoquímica com anticorpos monoclonais. Os anticorpos monoclonais HMFG1 e SM3 foram utilizados para a pesquisa de imunoreactividade para a forma de glicosilação completa do MUC1 e para a forma infra-glicosilada de MUC1, respectivamente. O anticorpo PMH1 foi usado para a detecção de MUC2, o anticorpo CLH2 para o MUC5AC e o anticorpo CLH5 para a detecção de MUC6. Os novos cortes dos blocos de parafina representativos dos carcinomas gástricos foram tratados usando o complexo avidina-biotina, segundo os processos habituais. Toda a série inclui controlos positivos e negativos.

Os casos foram classificados de acordo com a coloração imunohistoquímica em dois grupos: negativo, quando não apresentavam reactividade ou apresentavam reactividade num número muito reduzido de células, inferior a 5%; e positivo, quando apresentavam reactividade em mais de 5% das células.

Os dados relativos à sobrevida foram obtidos a partir das mesmas fontes descritas na primeira etapa do estudo. Foi possível obter informação relativa a todos os 94 doentes. A sobrevida cumulativa foi avaliada de acordo com a imunoreactividade para cada mucina e também de acordo com a localização do carcinoma.

Os programas de computador StatView 5.0 e SPSS 9.0 para Windows foram usados na análise estatística dos dados do estudo. As distribuições foram comparadas pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste exacto

de Fisher sempre que apropriado. A sobrevida cumulativa foi calculada segundo o método de Kaplan-Meier e comparada pelo teste log rank. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

A imunorreatividade foi de 89% para o MUC1 (forma completamente glicosilada), de 50% para o MUC1 infraglicosilado, de 26,6% para o MUC2, de 47,3% para o MUC5AC e de 22% para a mucina MUC6.

Os resultados evidenciaram que o padrão de expressão das mucinas está associado com o tipo de carcinoma: a expressão da mucina MUC5AC associou-se com os carcinomas do tipo difuso de Laurén (65,2%) e com os infiltrativos de Ming (60%); e a expressão da mucina MUC2 associou-se com os carcinomas mucinosos (100%).

O padrão de expressão das mucinas não esteve associado com o comportamento clínico-biológico dos tumores, isto é, não se observou associação da expressão das mucinas com os parâmetros clínico-patológicos que influenciam o comportamento biológico dos carcinomas do estômago.

De acordo com os nossos resultados, a expressão das mucinas não influenciou significativamente a sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago.

O padrão de expressão das mucinas associou-se com a localização dos carcinomas: a expressão da mucina MUC5AC esteve associada com os carcinomas do antro (55,3%); e a mucina MUC2 associou-se com os carcinomas do cárdia (50%). Estas observações sugerem de forma indirecta algumas diferenças na diferenciação tumoral de acordo com a localização.

A expressão de *c-erb B-2* no carcinoma do estômago

O gene HER-2/neu ou *c-erb B-2* está localizado no cromossoma 17q, pertence a uma família de receptores tirosina quinase e partilha muitas características com o receptor do factor de crescimento epidérmico. A amplificação do gene *c-erb B-2* e a sobre-expressão têm sido descritas em muitos carcinomas humanos. Apesar de os resultados disponíveis serem ainda contraditórios, o valor prognóstico destas anomalias reveste-se de grande importância clínica, porque pode possibilitar a utilização de novas armas terapêuticas no carcinoma do estômago.

Neste estudo, foi pesquisada a expressão de *c-erb B-2* por imunohistoquímica em 157 amostras representativas de carcinomas gástricos ressecados, usando um anticorpo policlonal. Estes 157 doentes representam um subgrupo dos 302 doentes casos seleccionados como população de base para o trabalho. Os casos seleccionados nesta etapa do estudo foram submetidos a ressecção gástrica por carcinoma

Resumo

entre 1988 e 1995 no Serviço de Cirurgia 4 do Hospital de S. João. Os 157 casos foram classificados em três grupos: cárdia (n=42), fundo/corpo (n=32) e antro (n=83).

A idade e o sexo dos doentes, a localização do tumor, o tamanho e a forma macroscópica dos carcinomas foram parâmetros clínico-patológicos avaliados. As lâminas coradas pela hematoxilina e eosina foram usadas na divisão dos carcinomas de acordo com a classificação de Laurén e com a de Carneiro e colaboradores. O padrão de crescimento foi catalogado de acordo com a classificação de Ming. As secções coradas pela orceína foram usadas para a detecção da invasão venosa. A penetração do carcinoma através da parede digestiva, a presença de metástases ganglionares, o estadió (versão de 1997 do sistema pTNM da UICC) e a sobrevida cumulativa foram outros parâmetros analisados.

As secções retiradas de material embebido em parafina foram utilizadas para o estudo imunohistoquímico do *c-erb B-2* usando técnicas padronizadas. Na pesquisa da imunoreactividade para o *c-erb B-2* foi usado um anticorpo policlonal (Rabbit Anti-Human *c-erb B-2* oncoprotein, DAKO-A 0485, DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA). Toda a série inclui controlos positivos e negativos.

Os casos foram classificados de acordo com a coloração imunohistoquímica em dois grupos: negativo quando não apresentavam expressão de *c-erb B-2*; e positivo quando apresentavam expressão de *c-erb B-2* na membrana celular.

Os dados relativos à sobrevida foram obtidos a partir das mesmas fontes descritas na primeira etapa do estudo. Foi possível obter informação relativa a todos os 157 doentes. A sobrevida cumulativa foi avaliada de acordo com os parâmetros clínico-patológicos e também de acordo com a coloração para o *c-erb B-2*.

Os programas de computador StatView 5.0 e SPSS 9.0 para Windows foram usados na análise estatística dos dados do estudo. As distribuições foram comparadas pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste exacto de Fisher sempre que apropriado. A sobrevida cumulativa foi calculada segundo o método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste log rank. O modelo de regressão de Cox foi usado na identificação dos factores de prognóstico. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05.

Os resultados do estudo mostraram que: a) a expressão de *c-erb B-2* foi observada em 15,3% dos casos analisados; b) a expressão de *c-erb B-2* foi significativamente mais frequente nos carcinomas do cárdia (23,8%) e nos do fundo/corpo (25,0%) do que nos do antro (7,2%); c) a expressão de *c-erb B-2* esteve associada de forma significativa à invasão venosa; d) o *c-erb B-2* foi identificado como um factor de prognóstico no carcinoma do estômago; e) a influência da expressão de *c-erb B-2* na sobrevida dos doentes com carcinoma do estômago foi independente da influência da invasão venosa; e f) a expressão de *c-erb B-2* esteve associada de forma significativa a pior prognóstico dos doentes com carcinomas do antro.

Os resultados do nosso trabalho parecem fornecer evidência suficiente para validar a hipótese que colocamos no início da nossa investigação. Os carcinomas do cárdia, os do fundo/corpo e os do antro originam-se em mucosas gástricas diferentes e apresentam características clínico-patológicas diferentes, prognósticos diferentes, padrões de expressão de marcadores tumorais diferentes e também diferentes padrões de expressão de marcadores de agressividade biológica.

Os nossos resultados mostram que o carcinoma do cárdia e o carcinoma do antro são duas entidades de carcinoma gástrico distintas ao passo que o carcinoma do fundo/corpo partilha algumas características com as duas entidades individualizadas.

Resumo

Summary

This work searched to contribute to the clarification of the influence of tumour location on the clinico-pathological profile and prognosis of gastric carcinoma.

The following hypothesis was tested in this study: if carcinomas originate from different gastric mucosas, then they should have different clinico-pathological characteristics and prognosis. The distinct entities of gastric carcinomas should also present different expression patterns for tumour differentiation markers, such as the mucins, and for biological aggressive marker, the *c-erb-B2*.

In this study the carcinomas were classified into three groups according to location: cardia, fundus/body and antrum. The option for this classification in carcinomas of the cardia, fundus/body and antrum was based on morphological differences of the gastric mucosa in these three locations and also on some previous evidence of differences on the biological behaviour of carcinomas that originate from these mucosas.

The study was performed in three phases. The first phase consisted in defining the clinico-pathological profile and prognosis of gastric carcinomas according to tumour location. In the second phase of the study the role of expression of the mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 in the evaluation of the differentiation and clinico-pathological behaviour of gastric carcinomas was investigated. In the third phase of the study the relation between the pattern of expression of *c-erb-B2* and the clinico-pathological characteristics and prognosis of stomach carcinoma was evaluated. To allow a better systemization, a summary of each one of the phases will be presented separately.

The definition of clinico-pathological profile and prognosis of gastric carcinoma according to tumour location

This phase of the study searched to contribute to the clarification of the controversy about the influence of tumour location on the clinico-pathological profile and prognosis of gastric carcinoma.

Summary

The objectives of this phase of the study were the following: definition of the clinico-pathological profile of gastric carcinoma according to tumour location; comparison of the clinico-pathological characteristics of gastric carcinoma in the three locations; characterization of carcinomas in locations less studied previously as in the case of the middle third; comparison of survival of patients with gastric carcinoma globally and in each one of the locations; identification of prognosis factors of gastric carcinoma in each one of the locations; and identification of eventual clinico-pathological entities of gastric carcinoma according to tumour location.

The work was based on a retrospective study of 302 patients submitted, at Serviço de Cirurgia 4 of Hospital de S. João, to surgical resection for gastric carcinoma, between January of 1984 and December of 1996. The cases were classified as carcinomas of the cardia (n=80), of the fundus/body (n=60) and of the antrum (n=162). The following clinical and pathological parameters were studied: age and gender of the patients; macroscopic appearance of the carcinomas; the classifications of Laurén, Ming, and Carneiro et al.; desmoplasia; tumour size; degree of penetration in the digestive wall (pT – pTNM); venous invasion; lymph node metastases; "old" stage (pTNM – 92 and 93) and "new" stage (pTNM – 97); and cumulative survival.

The data relating to the survival of the patients was obtained from the Oncological Registry of "Hospital de S. João" and from the records of the Unity of Esophago-Gastric Surgery of "Serviço de Cirurgia 4". It was possible to obtain information on approximately 97% of the patients studied in this phase of the work. The cumulative survival was evaluated in the three locations according to the parameters selected for the study.

The computer programs SPSS 7.5, StatView 5.0 and BMDP were used for the statistical analysis of the data from this study. The distributions were compared by the chi-square test. The cumulative survival was calculated by the Kaplan-Meier method and compared by the log rank test. The Cox regression stepwise was used in the identification of prognosis factors for each one of the locations of stomach carcinoma. Values of p inferior to 0.05 were considered significant.

The carcinoma of the cardia and those of the fundus/body presented some common characteristics, which were distinct from those of the antrum carcinomas: macroscopic appearance; tumour size; depth invasion of the digestive wall (pT – pTNM); venous invasion; lymph node metastases; and stage (pTNM). The percentage of infiltrative carcinomas in the cardia (12.9%) and in the fundus/body (17.2%) was higher relatively to the one observed in the antrum (4.0%) (p=0.002 and p=0.001, respectively). The percentage of carcinomas with a maximum diameter superior to 5 cm was inferior in the antrum (44.6%) in comparison to the one observed in the cardia (60.6%) and in the fundus/body (66.7%) (p=0.03 and p=0.005, respectively). In the antrum, 75.8% of the carcinomas were limited to the muscularis propria but 51.4% of the carcinomas of the cardia and 45.7% of those of the fundus/body invaded the serosa or adjacent organs (p=0.0002 and p=0.02, respectively). The percentage of carcinomas with venous invasion

was higher in the cardia (59.7%) than the antrum carcinomas (33.6%) ($p=0.0002$). The percentage of lymph node metastases was higher in the carcinomas of the cardia (74.3%) and of the fundus/body (76.3%) relatively to the one observed in the antrum carcinomas (52.3%) ($p=0.002$ and $p=0.002$, respectively). The carcinomas of the antrum were diagnosed and resected in earlier stages than the carcinomas of the cardia ($p=0.004$ and $p<0.0001$, respectively for the "old" stage and for the "new" stage) and the carcinomas of the fundus/body ($p=0.0009$ and $p=0.002$, respectively for the "old" stage and for the "new" stage).

The carcinomas of the fundus/body were distinct from those of the cardia and similar to those of the antrum relatively to the distribution of the cases according to the patient's gender and also to the classification of Laurén. The percentage of male patients was higher in the cardia carcinomas (78.8%) than those of the fundus/body (60.0%) ($p=0.02$) and those of the antrum (58.0%) ($p=0.001$). The percentage of intestinal type carcinomas was similar in the fundus/body (41.1%) and the antrum (47.3%) but was significantly inferior to the one observed in the cardia (63.2%) ($p=0.02$ and $p=0.01$, respectively).

In the study a significant difference was observed in the survival of patients with carcinomas of the three locations ($p=0.006$). The cumulative survival of the patients with antrum carcinomas was significantly higher relatively to the patients with carcinomas of the cardia ($p=0.04$) and the fundus/body ($p=0.003$). The difference between the cumulative survival of the patients with carcinoma of the cardia and that of the patients with carcinoma of the fundus/body was not statistically significant. The parameters with influence in the cumulative survival of the patients with cardia carcinoma in univariate analysis were the following: age; macroscopic appearance; classification of Carneiro et al; classification of Ming; desmoplasia; venous invasion; lymph node metastases; and "new" stage. Relatively to the fundus/body carcinoma, the factors with influence on the survival of the patients were: macroscopic appearance; classification of Ming; desmoplasia; tumour size; venous invasion; "old" stage and "new" stage. The classification of Ming, desmoplasia, the degree of penetration in the gastric wall, venous invasion, lymph node metastases, the "old" stage and the "new" stage were the parameters which presented, in a univariate analysis, influence on the cumulative survival of patients with antrum carcinomas.

The stage and venous invasion were common prognosis factors of carcinomas of the three locations, which are the cardia, fundus/body and antrum. Age, in carcinomas of the cardia, and tumour size, in the carcinomas of the fundus/body, were also identified as prognosis factors.

The analysis of our results evidenced that the carcinoma of the cardia and the antrum are different entities of gastric carcinoma, while the carcinoma of the fundus/body shares some characteristics with both of those individualized entities.

Summary

The mucin expression in gastric carcinoma

The normal gastric mucosa expresses the mucins MUC1 and MUC5AC in the foveolar epithelium and the mucin MUC6 in the cervical mucosa cells and the deep glands of the antrum. In different studies, various alterations in the expression of mucins in stomach carcinoma have been described: abnormal expression of an under-glycosylated form of MUC1; lesser expression of "gastric" mucins; and abnormal expression of "non gastric" mucins (MUC2). In this phase of the study, we intended to analyse the role of the expression of the mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 by imunohistochemistry, in the differentiation and clinico-biological behaviour of 94 stomach carcinomas.

The 94 patients represent a subgroup of the total 302 patients selected as the globally base population for the work. The patients selected were submitted to gastric resection for carcinoma between 1984 and 1996 at Serviço de Cirurgia 4 of the Hospital de S. João. The 94 cases were classified in three groups: cardia (n=22), fundus/body (n=25) and antrum (n=47). The carcinomas were classified according to the classifications of Laurén and World Health Organization (WHO). The pattern of growth was considered according to the classification of Ming. Tumour size, wall penetration, lymph node metastases and venous invasion were parameters also registered. In the staging of these carcinomas the 1997 version of the pTNM system of the UICC (Union Internacionale Contra la Cancrum) was used.

The expression of the mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 was studied with monoclonal antibodies by immunohistochemistry. The monoclonal antibodies HMFG1 and SM3 were used for the research of immunoreactivity for the complete glycosylation form of MUC1 and for the under-glycosylated form of MUC1, respectively. The antibody PHM1 was used for the detection of MUC2, the antibody CLH2 for MUC5AC and the antibody CLH5 for the detection of MUC6. The new slices of paraffin blocks representative of the gastric carcinomas were treated under usual procedures, by using the avidin-biotin complex. Each run contained negative and positive controls.

The cases were classified into two groups according to the immunohistochemistry colouring: negative (when they did not present reactivity or presented reactivity in a small number of cells, inferior to 5%); and positive (when they presented reactivity in more than 5% of the cells).

The data relating to survival were obtained from the same sources described in the first phase of the study. It was possible to obtain information relatively to all of the 94 patients. The cumulative survival was evaluated according to the immunorreactivity for each mucin and also according to the location of the carcinoma.

The computer programs StatView 5.0 and SPSS9.0 for Windows were used in the statistical analysis of the studies data. The distributions were compared by the chi-square test or by the exact test of Fisher whenever appropriate. The cumulative survival was calculated by the Kaplan-Meier method and compared by the log rank test. Values of p inferior to 0.05 were considered significant.

The immunoreactivity was 89.1% for MUC1 (complete glycosylated form), 50% for the underglycosylated MUC1, 26.6% for MUC2, 47.3% for MUC5AC and 22% for the mucin MUC6. The results evidenced that the pattern of mucin expression was associated with the type of carcinoma: the expression of the mucin MUC5AC was associated with the Laurén diffuse type carcinoma (65.2%) and with the infiltratives of Ming (60%); and the expression of the mucin MUC2 was associated with the mucinous carcinomas (100%). The pattern of mucin expression was not associated with the clinico-biological behaviour of the tumours, that is, no association was observed between the mucin expression and the clinico-pathological parameters that influenced the biological behaviour of the stomach carcinomas.

According to our results, the mucin expression did not influence significantly the survival of the patients with gastric carcinoma.

The pattern of mucin expression was associated with the location of the tumours: the expression of the mucin MUC5AC was associated with the antrum carcinomas (55.3%); and the mucin MUC2 was associated to the cardia carcinomas (50%). These observations suggest indirectly some differences in the differentiation of the tumours according to location.

***c-erb B-2* expression in gastric carcinoma**

The HER-2/neu or *c-erb B-2* gene is located on the chromosome 17q, belongs to a family of tyrosine kinase receptors and shares many characteristics with the epidermic growth factor receptor. The amplification of the *c-erb B-2* gene and its over-expression have been described in several human carcinomas.

The prognostic value of these genetic alterations in gastric carcinoma is far from being established, but newer therapeutic options may be supported from the current studies regarding the role of *c-erb B-2* over-expression in gastric carcinoma

In this work we evaluated by immunohistochemistry the expression of *c-erb B-2* in a series of 157 representative surgical specimens of gastric carcinomas using a polyclonal antibody. The 157 patients represent a subgroup of the total 302 patients selected as the globally base population for the work. The patients selected were submitted to gastric resection for carcinoma between 1988 and 1995 at Serviço de Cirurgia 4 of the Hospital de S. João. The 157 cases were classified in three groups: cardia (n=42), fundus/body (n=32) and antrum (n=83).

The following clinical and pathological parameters were evaluated: age; gender; tumour location; tumour size and macroscopic appearance. Hematoxylin and eosin stained sections were used to classify the tumours according to Laurén and Carneiro et al. The growth pattern was classified according to Ming. Orcein stained sections were used for the detection of vascular invasion. Penetration of gastric wall,

Summary

presence of lymphatic permeation, TNM staging (1997 version of pTNM system of UICC) and survival time were also recorded.

Sections from formalin-fixed paraffin-embedded material were used for immunohistochemical studies using standard methods. The polyclonal antibody (Rabbit Anti-Human *c-erb* B-2 oncoprotein, DAKO-A 0485, DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) was used to evaluate the immunoreactivity for *c-erb* B-2. Each run contained negative and positive controls.

Cases were classified qualitatively into two groups: negative (without expression of *c-erb* B-2); and positive (with expression of *c-erb* B-2 at the cell membrane).

The data relating to survival were obtained from the same sources described in the first phase of the study. It was possible to obtain information relatively to all of the 157 patients. Cumulative survival was evaluated according to the clinico-pathological parameters and also according to the staining for *c-erb* B-2.

SPSS 9.0 and StatView 5.0 computer programs were employed in the statistical analysis of data. Distributions were compared by chi-square test, or by Fisher's exact test whenever appropriate. Cumulative survival curves were obtained by the Kaplan-Meier method and compared using the log rank test. The Cox regression stepwise approach (proportional hazard model) was used to identify the prognostic factors. Significance was assumed if p values were less than 0.05.

Our results show that: a) *c-erb* B-2 was over-expressed in 15.3% of gastric carcinoma cases; b) *c-erb* B-2 over-expression was significantly more frequent in cardia (23.8%) and fundus/body (25.0%) carcinomas than in antrum (7.2%) carcinomas; c) *c-erb* B-2 over-expression was significantly associated with venous invasion; d) *c-erb* B-2 was a prognostic factor for gastric carcinoma; e) the influence of *c-erb* B-2 over-expression in survival was independent from venous invasion; and f) *c-erb* B-2 over-expression was significantly associated with a poorer outcome of patients with antrum carcinomas.

The results of our work seem to show sufficient evidence to validate the hypothesis that we proposed at the beginning of our investigation. The carcinomas of the cardia, the fundus/body and the antrum originate from different gastric mucosa and present different clinico-pathological characteristics, different prognosis, different expression patterns of tumour markers, and also different expression patterns of biological aggressive markers.

Our results show that cardia carcinoma and antrum carcinoma are two distinct entities of gastric carcinoma while fundus/body carcinoma shares some characteristics with both distinct entities.

Résumé

Cette étude a cherché à clarifier l'influence de la localisation tumorale sur le profil clinico-pathologique et sur le pronostic du carcinome de l'estomac.

L'hypothèse suivante a été testée: si les carcinomes gastriques sont originaires de muqueuses différentes, ils devront aussi avoir des caractéristiques clinico-pathologiques et des pronostics différents. Subjacente à cette hypothèse est l'éventuelle identification de différentes entités clinico-pathologiques de carcinomes de l'estomac. Ces entités de carcinomes présenteraient aussi des modèles d'expression des marqueurs de différenciation tumorale, les mucines, et de marqueurs d'agressivité biologique, le *c-erb B-2*.

Dans ce travail, les carcinomes ont été classifiés en trois groupes en accord avec leur localisation : cardia, fundus/corps et antré. Le choix de cette classification (en carcinomes du cardia, du fundus/corps et de l'antré) est basé sur les différences morphologiques de la muqueuse gastrique dans ces trois localisations mais aussi sur l'évidence antérieure des différents comportements biologiques des carcinomes originaires de ces muqueuses.

L'étude a été réalisée en trois phases. La première a consisté à établir la définition du profil clinico-pathologique et du pronostic des carcinomes gastriques en accord avec leur localisation. Dans un deuxième temps, nous avons étudié le rôle de l'expression des mucines MUC1, MUC2, MUC5AC et MUC6 sur la différenciation et le comportement clinico-biologique des carcinomes de l'estomac. Dans la dernière phase de l'étude, la relation entre le modèle d'expression du *c-erb-B-2* avec les caractéristiques clinico-pathologiques et le pronostic du carcinome gastrique a été étudiée. Pour permettre une meilleure systématisation ces trois phases seront présentées séparément dans ce résumé.

Définition du profil clinico-pathologique et du pronostic du carcinome gastrique selon la localisation tumorale

Cette étape de l'étude a essayé de clarifier la controverse relative à l'influence de la localisation tumorale sur le profil clinico-pathologique et le pronostic du carcinome de l'estomac. Les objectifs ont été d'établir: la définition du profil clinico-pathologique du carcinome gastrique en accord avec sa localisation; la comparaison des caractéristiques clinico-pathologiques du carcinome dans les trois localisations; la

Résumé

caractérisation des carcinomes dans des localisations moins étudiées antérieurement, comme le tiers moyen; la comparaison de la survie des malades selon l'origine de la tumeur; l'identification des facteurs d'influence sur la survie des malades dans la globalité mais aussi selon la localisation; l'identification des facteurs de pronostic du carcinome gastrique selon chaque localisation; et l'identification d'éventuelles entités clinico-pathologiques de carcinome de l'estomac selon la localisation tumorale.

Ce travail s'est basé sur l'étude rétrospective de 302 malades soumis à une chirurgie de résection pour carcinome gastrique dans le Service de Chirurgie 4 de l'Hôpital S. João, entre janvier 1984 et décembre 1996. Les cas ont été classifiés en carcinome du cardia (n= 80), du fundus/ corps (n=60) et de l'antrum (n=162). Les paramètres suivants ont été étudiés: âge et sexe des malades; forme macroscopique des carcinomes; classifications de Laurén, de Ming et de Carneiro et collaborateurs; desmoplasie; taille de la tumeur; grade de pénétration dans la paroi digestive (pT – pTNM); invasion veineuse; invasion lymphatique; nombre de ganglions lymphatiques examinés; nombre de ganglions envahis; métastases ganglionnaires; stade «ancien» (pTMN – 92 et 93) et stade «actuel» (pTNM – 97); et survie cumulative.

Les données relatives à la survie ont été obtenues à partir du Registre d'Oncologie de l'Hôpital S. Joao et des fiches des consultations de surveillance des malades de l'Unité de Chirurgie Esôphago-Gastrique du Service de Chirurgie 4 de l'Hôpital de S. João. L'obtention de ces informations a été possible pour 97% des malades étudiés. La survie cumulative a été évaluée, dans les trois localisations, en accord avec les paramètres sélectionnés.

Les programmes informatiques SPSS 7.5, StatView 5.0 et BMDP ont été utilisés pour l'analyse statistique des données. Les distributions ont été comparées selon le test du qui-carré. La survie cumulative a été calculée selon la méthode de Kaplan-Meier et comparée par le test log rank. Le modèle de régression de Cox («Cox regression stepwise») a été utilisé pour l'identification des facteurs de pronostic pour chacune des localisations du carcinome gastrique. Des valeurs de p inférieures à 0,05 ont été considérées significatives.

Les carcinomes du cardia et du fundus/corps ont présenté quelques caractéristiques communes, lesquelles ont été différentes de celles des carcinomes de l'antrum: forme macroscopique; taille de la tumeur; profondeur de l'invasion de la paroi gastrique (pT- pTNM); invasion veineuse; présence de métastases ganglionnaires; et stade (pTNM). Le pourcentage de carcinomes de type filtrant du cardia (12,9%) et du fundus/corps (17,2%) a été plus élevé relativement à celui observé chez les carcinomes de l'antrum (4,0%) (p=0,002 et p=0,001, respectivement). La proportion de carcinomes avec un diamètre maximum supérieur à 5 cm a été inférieure dans l'antrum (44,6%) en comparaison avec celle observée dans le cardia (60,6%) et dans le fundus/corps (66,7%) (p= 0,03 et p= 0,005, respectivement). 75,8% des carcinomes de l'antrum étaient limités à la musculaire, mais 51,4% des carcinomes du cardia et 45,7% des carcinomes du fundus/corps envahissaient la séreuse ou les organes adjacents. Le pourcentage de carcinomes avec invasion veineuse a été plus élevé dans le cardia (59,7%) que dans l'antrum (33,6%) (p= 0,0002). La

proportion de métastases ganglionnaires a été plus élevée dans les carcinomes du cardia (74,3%) et dans le fundus/corps (76,3%) que celle observée dans les carcinomes de l'antra (52,3%) ($p=0,002$ et $p=0,002$, respectivement). Les carcinomes de l'antra ont été diagnostiqués et excisés dans des stades moins avancés que les carcinomes du cardia ($p= 0,004$ et $p<0,0001$, respectivement pour les stades «ancien» et «actuel») et que ceux du fundus/corps ($p=0,0009$ et $p=0,002$, respectivement pour les stades «ancien» et «actuel»).

Les carcinomes du fundus/corps ont été différents de ceux du cardia et semblables à ceux de l'antra relativement aux distributions selon le sexe des malades et selon la classification de Laurén. Le pourcentage de malades du sexe masculin a été plus élevé dans les carcinomes du cardia (78,8%) que dans ceux du fundus/corps (60,0%) ($p= 0,02$) ou ceux de l'antra (58,0%) ($p=0,001$). Le pourcentage des carcinomes de type intestinal a été similaire dans le fundus/corps (41,1%) et dans l'antra (47,3%) mais a été significativement inférieur à celui observé dans le cardia (63,2%) ($p=0,02$ et $p= 0,02$, respectivement).

Dans cette étude nous avons observé une différence significative de la survie des malades selon les trois localisations ($p=0,006$). La survie cumulative des malades avec un carcinome de l'antra a été significativement supérieure à celle des malades avec un carcinome du cardia ($p=0,04$) ou du fundus/corps ($p=0,003$). La différence entre la survie cumulative des malades avec un carcinome du cardia et celle des malades avec un carcinome du fundus/corps n'a pas été statistiquement significative. Les paramètres qui ont influencé la survie des malades avec un carcinome du cardia, avec une analyse univariée, ont été les suivants: age; forme macroscopique; classification de Carneiro et collaborateurs; classification de Ming; desmoplasie; invasion veineuse; état ganglionnaire; et stade «actuel». Relativement au carcinome du fundus/corps les facteurs d'influence sur la survie ont été: forme macroscopique; classification de Ming; desmoplasie; taille de la tumeur; invasion veineuse; stade «ancien» et stade «actuel». La classification de Ming, la desmoplasie, le grade de pénétration de la paroi gastrique, l'invasion veineuse, l'état ganglionnaire, le stade «ancien» et le «actuel» ont été des paramètres avec de l'influence sur la survie cumulative des malades avec un carcinome de l'antra dans l'analyse univariée.

Le stade et l'invasion veineuse ont été des facteurs de pronostic communs aux carcinomes des trois localisations. L'age, dans les carcinomes du cardia, et la taille, dans les carcinomes du fundus/corps, sont également des facteurs de pronostic.

L'analyse de nos résultats a révélé que les carcinomes du cardia et de l'antra constituent des entités distinctes de carcinome gastrique, alors que le carcinome du fundus/corps partage des caractéristiques communes avec ces deux entités.

L'expression des mucines dans le carcinome gastrique

La muqueuse gastrique exprime les mucines MUC1 et MUC5AC dans l'épithélium foveolaire et la mucine MUC6 dans les cellules muqueuses cervicales et dans les glandes profondes de l'antra. De nombreuses

Résumé

études ont décrit des altérations dans l'expression de ces mucines dans le carcinome de l'estomac: expression aberrante d'une forme infra-glicosilée de MUC1, expression diminuée des mucines gastriques et expression aberrante des mucines non gastrique (MUC2). A cette étape de l'étude nous nous avons proposé d'analyser, par étude immunohistochimique, le rôle de l'expression des mucines MUC1, MUC2, MUC5AC et MUC6 dans la différenciation et dans le comportement clinico-biologique de 94 carcinomes de l'estomac.

Les 94 malades représentent un sous-groupe du total de 302 malades sélectionnés comme population base. Les malades sélectionnés ont été soumis à résection gastrique pour carcinome entre 1984 et 1996 dans le Service de Chirurgie 4 de l'Hôpital S. João. Les 94 cas ont été distribués en trois groupes: cardia (n=22), fundus/corps (n= 25) et antrum (n= 47). Les carcinomes ont été classifiés selon la classification de Laurén et de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). La forme de croissance a été classifiée selon Ming. La taille, la pénétration dans la paroi, l'état ganglionnaire et l'invasion veineuse ont également été étudiés. Le stade des carcinomes a été établi selon la version de 1997 du système pTNM de l'UICC.

L'expression des mucines MUC1, MUC2, MUC5AC et MUC6 a été étudiée par immunohistochimie avec des anticorps monoclonaux. Les anticorps HMFG1 et SM3 ont été utilisés pour la recherche de réactivité de la forme de glycosylation complète de MUC1 et pour la forme infra-glicosilée de MUC1, respectivement. L'anticorps PMH1 a été utilisé pour la détection de MUC2, l'anticorps CLH2 pour la MUC5AC et l'anticorps CLH5 pour la détection de MUC6. De nouvelles coupes, en bloc de paraffine, représentatives des carcinomes gastriques ont été traitées en utilisant le complexe avidine-biotine, selon les processus usuels. Toute la série comprend un groupe contrôle positif et un groupe négatif.

Les cas ont été classifiés, selon la positivité des réactions, en deux groupes: négatif (quand il n'y avait pas de réaction ou une réaction dans un nombre réduit de cellules, inférieure à 5%) et positif (réaction dans plus de 5% des cellules).

Les données sur la survie ont été obtenues selon les mêmes sources que précédemment décrites. Il a été possible d'obtenir des informations sur les 94 malades. La survie cumulative a été évaluée selon la positivité des réactions pour chacune des mucines mais aussi en accord avec la localisation du carcinome.

Les programmes informatiques StatView 5.0 et SPSS 9.0 pour Windows ont été utilisés pour l'analyse statistique des données. Les distributions ont été comparées selon le test du qui-carré ou par le test de Fisher. La survie cumulative a été calculée selon la méthode de Kaplan-Meier et comparée par le test log rank. Des valeurs de p inférieures à 0,05 ont été considérées significatives.

La positivité a été de 89% pour MUC1 (forme de glycosylation complète), de 50% pour MUC1 infra-glicosilé, de 26,6% pour MUC2, de 47,3% pour MUC5AC et de 22 % pour la mucine MUC6.

Les résultats ont mis en évidence un modèle d'expression des mucines associé avec le type de carcinome: expression de MUC5AC avec les carcinomes de type diffus de Laurén (65,2%) et avec le type infiltratif de Ming (60%); et expression de MUC2 avec les carcinomes mucineux (100%).

Le modèle d'expression des mucines n'a pas été associé avec le comportement clinico-biologique des tumeurs. Ainsi, nous n'avons pas observé d'association entre l'expression des mucines et les paramètres clinico-pathologiques qui influencent le comportement biologique des carcinomes de l'estomac.

Selon nos résultats, l'expression des mucines n'a pas influencé significativement la survie des malades avec un carcinome gastrique.

Le modèle d'expression des mucines s'est associé avec la localisation des carcinomes: expression de MUC5AC avec les carcinomes de l'antra (55,3%) et MUC2 avec les carcinomes du cardia (50%). Ces observations suggèrent, de forme indirecte, quelques différences de la différenciation tumorale selon la localisation.

L'expression de *c-erb B-2* dans le carcinome de l'estomac

Le gène HER-2/neu ou *c-erb B-2* est situé sur le chromosome 17 q, il appartient à une famille de récepteur de la tyrosine kinase et partage des caractéristiques avec le récepteur du facteur de croissance épidermique. L'amplification du gène *c-erb B-2* et la sur-expression ont été décrites dans beaucoup de carcinomes humains. Bien que les résultats disponibles soient encore contradictoires, la valeur pronostique de ces anomalies est d'une grande importance clinique parce qu'elles pourraient permettre l'utilisation de nouvelles armes thérapeutiques dans le carcinome gastrique.

Dans cette étude l'expression de *c-erb B-2* a été recherchée par immunohistochimie, avec des anticorps monoclonaux, dans 157 échantillons de carcinomes gastriques excisés. Les 157 malades représentent un sous-groupe du total de 302 malades sélectionnés comme population base. Les malades sélectionnés ont été soumis à résection gastrique pour carcinome entre 1988 et 1995 dans le Service de Chirurgie 4 de l'Hôpital S. João. Les 157 cas ont été distribués en trois groupes: cardia (n=42), fundus/corps (n=32) et antra (n= 83).

L'âge et le sexe des malades, la localisation de la tumeur, la taille et la forme macroscopique des carcinomes ont été les paramètres clinico-pathologiques étudiés. L'observation des tissus, colorés par H-E, a permis la classification des carcinomes selon Laurén et Carneiro et collaborateurs. Le modèle de croissance a été catalogué selon Ming. Des échantillons, colorés par orceine, ont été utilisés pour la détection d'invasion veineuse. La pénétration du carcinome dans la paroi, la présence de métastases ganglionnaires, le stade (version 1997 du système pTNM de l'UICC) et la survie cumulative ont été les paramètres étudiés.

Résumé

Les échantillons, retirés de matériel imbibé dans la paraffine, ont été utilisés pour l'étude immunohistochimique du *c-erb B-2* selon les techniques standardisées. Dans la recherche de positivité pour le *c-erb B-2* un anticorps polyclonal (Rabbit Anti-Human *c-erb B-2* oncoprotéine, DAKO-A 0485, DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) a été utilisé. Toute la série comprend un groupe contrôle positif et un groupe négatif.

Les cas ont été classifiés, selon la positivité des réactions, en deux groupes: négatif (quand il n'y avait pas de réaction pour *c-erb B-2*) et positif (quand la membrane cellulaire exprimait le *c-erb B-2*).

Les données sur la survie ont été obtenues selon les mêmes sources que précédemment décrites. Il a été possible d'obtenir des informations sur les 157 malades. La survie cumulative a été évaluée selon les paramètres clinico-pathologiques et aussi selon la positivité des réactions pour le *c-erb B-2*.

Les programmes informatiques StatView 5.0 et SPSS 9.0 pour Windows ont été utilisés pour l'analyse statistique des données. Les distributions ont été comparées selon le test du qui-carré ou par le test de Fisher. La survie cumulative a été calculée selon la méthode de Kaplan-Meier et comparée par le test log rank. Le modèle de régression de Cox a été utilisé pour l'identification des facteurs de pronostic. Des valeurs de *p* inférieures à 0,05 ont été considérées significatives.

Les résultats de cette étude ont montré que: a) l'expression de *c-erb B-2* a été observée dans 15,3% des cas analysés; b) l'expression de *c-erb B-2* a été significativement plus fréquente dans les carcinomes du cardia (23,8%) et du fundus/corps (25,0%) que dans ceux de l'antra (7,2%); c) l'expression de *c-erb B-2* a été associée, significativement, avec l'invasion veineuse; d) le *c-erb B-2* a été identifié comme facteur de pronostic dans le carcinome gastrique; e) l'influence de l'expression de *c-erb B-2* sur la survie des malades a été indépendante de l'influence de l'invasion veineuse; et f) l'expression de *c-erb B-2* s'est associée, de forme significative, avec un plus mauvais pronostic chez les malades avec un carcinome de l'antra.

Les résultats de notre étude semblent fournir une évidence suffisante pour valider l'hypothèse posée au tout début de notre recherche. Les carcinomes du cardia, du fundus/corps et de l'antra sont originaires de muqueuses gastriques différentes et présentent des caractéristiques clinico-pathologiques différentes, des pronostics différents, des modèles d'expression des marqueurs d'agressivité tumorale différents et aussi différents modèles d'expression de marqueurs d'agressivité biologique.

Nos résultats montrent que le carcinome du cardia et le carcinome de l'antra sont deux entités de carcinome gastrique distinctes alors que le carcinome du fundus/corps partage des caractéristiques avec ces deux entités.

Bibliografia

Adachi Y, Kamakura T, Mori M, Baba H, Maehara Y, Sugimachi K. Prognostic significance of the number of positive lymph nodes in gastric carcinoma. *Br J Surg* 1994;81:414-416.

Adachi Y, Oshiro T, Okuyama T, Kamakura T, Mori M, Maehara Y, Sugimachi K. A simple classification of lymph node level in gastric carcinoma. *Am J Surg* 1995;169:382-385.

Adachi Y, Suematsu T, Shiraishi N, Tanimura H, Morimoto A, Kitano S. Perigastric lymph node status as a prognostic indicator in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 1998;85:1281-1284.

Adashek K, Sanger J, Longmire WP. Cancer of the stomach: review of consecutive ten-year intervals. *Ann Surg* 1979;198:6-10.

Ajani JA, Mansfield PF, Ota DM. Potentially resectable gastric carcinoma: current approaches to staging and preoperative therapy. *World J Surg* 1995;19:216-220.

Ajani JA, Mansfield PF, Lynch PM, Pisters PW, Feig B, Dumas P, Evans D, Rajiman I, Hargraves K, Curley S, Ota DM. Enhanced staging and all chemotherapy preoperatively in patients with potentially resectable gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 1999;17:2403-2411.

Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of the human c-erb B-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosin kinase activity. *Science* 1986;232: 1644 – 1646.

Akoh JA, Macintyre IM. Improving survival in gastric cancer: review of 5-year survival rates in English language publication from 1970. *Br J Surg* 1992;79:293-299.

Albino AP, Jacne J, Altorki N, Blundell M, Urmacher C, Lauwers G, Nieddzwiecki D, Kelsen DP. Amplification of HER-2/neu gene in human gastric carcinomas: correlation with primary site. *Eur J Surg Oncol* 1995;21:56-60.

Allgayer H, Heiss MM, Schildberg FW. Prognostic factors in gastric cancer. *Br J Surg* 1997;84:1651-1664.

Amadori D, Maltoni M, Volpi A, Nanni O, Scarpi E, Renault B, Pellegata NS, Gaudio M, Magni E, Ranzani GN. Gene amplification and proliferative kinetics in relation to prognosis of patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1997;79:226-223.

Anderson DN, Campbell S, Park KG. Accuracy of laparoscopic ultrasonography in the staging of upper gastrointestinal malignancy. *Br J Surg* 1996; 83:1424-1428.

Antonoli DA, Goldman HM. Changes in location and type of gastric adenocarcinoma. *Cancer* 1982;50:775-781.

Appelman HD, McKenna BJ. A "rose is a rose is a rose is a rose," but exactly what is a gastric adenocarcinoma? *J Surg Oncol* 1998;68:141-143.

Bibliografia

- Aubert JP, Porchet N, Crepin M, Duterque-Coquillaud M, Vergnes G, Mazzuca M, Debuire B, Petitprez D, Degand P. Evidence for different human tracheobronchial mucin peptides deduced from nucleotide cDNA sequences. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;5:178-185.
- Audie JP, Janin A, Porchet N, Copin MC, Gosselin B, Aubert JP. Expression of human mucin genes in respiratory, digestive, and reproductive tracts ascertained by in situ hybridization. *J Histochem Cytochem* 1993;41:1479-1485.
- Averbach AM, Jacquet P. Strategies to decrease the incidence of intra-abdominal recurrences in resectable gastric cancer. *Br J Surg* 1996;83:726-723.
- Baldus SE, Zirbes TK, Engel S, Hanisch FG, Moning SP, Lorenzen J, Glossman J, Fromm S, Thiele J, Pichmaier H, Dienes HP. Correlation of the immunohistochemical reactivity of mucin cores MUC1 and MUC2 with histopathological subtype and prognosis of gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1998;79:133-138.
- Bartman AE, Buisine M-P, Aubert J-P, Niehans GA, Toribara NW, Kim YS, Kelly EJ, Crabtree JE, Ho SB. The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues. *J Pathol* 1998;186:398-405.
- Becker K, Fumagalli U, Mueller JD, Fink U, Siewert JR, Höfler H. Neoadjuvant chemotherapy for patients with locally advanced gastric carcinoma. Effect on tumor cell microinvolvement of regional lymph nodes. *Cancer* 1999;85:1484-1489.
- Bell R. Ongoing trials with trastuzumab in breast cancer. *Ann Oncol* 2001;12: S69-S73.
- Belo Soares JP, Pimentel J, Bernardes A, Duarte A, Raposo LJ. Carcinoma gástrico. Experiência do Serviço de Cirurgia I do Hospital da Universidade de Coimbra, particularmente no carcinoma inicial (1974-1994). *Arq Port Cirurgia* 1994;3:199-220.
- Black RJ, Bray F, Ferlay J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer* 1997;33:1075-1107.
- Blott WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni J. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *JAMA* 1991;265:1287-1289.
- Blot WJ, Devesa SS, Fraumeni JF. Continuing climb in rates of esophageal adenocarcinoma: an update. *JAMA* 1993; 270:1320
- Bobek LA, Tsai H, Biesbrock AR, Levine MJ. Molecular cloning, sequence, and specificity of expression of the gene encoding the lower molecular weight human salivary mucin (MUC7). *J Biol Chem* 1993;268: 20563-20569.
- Borch K, Jönsson B, Tarpila E, Franzén T, Berglund J, Kullman E, Franzén L. Changing pattern of histological type, location, stage and outcome of surgical treatment of gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:618-626.
- Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics, 1992. *CA Cancer J Clin* 1993;43:7-26.
- Boring CC, Squires TS, Tong T, Montgomery S. Cancer statistics 1994. *Ca Cancer J Clin* 1994;44:7-26.
- Brenes F, Correa P. Pathology of gastric cancer. *Surg Oncol Clinics North Amer* 1993;2:347-370.
- Bunt AM, Hermans J, Smit VT, van de Velde CJ, Fleuren GJ, Bruijn JA. Surgical/pathologic-stage migration confounds comparisons of gastric cancer survival rates between Japan and Western countries. *J Clin Oncol* 1995;13:19-25.

Burchell J, Taylor-Papadimitriou J, Boschell M, Gendler S, Duhig T. A short sequence, within the amino acid tandem repeat of a cancer-associated mucin, contains immunodominant epitopes. *Int J Cancer* 1989;44:691-696.

Byrd JC, Yan P, Sternberg L, Yunker CK, Scheiman JM, Bresalier RS. Aberrant expression of gland-type gastric mucin in the surface epithelium of *Helicobacter pylori*-infected patients. *Gastroenterology* 1997;113:455-464.

Carneiro F. Classifications of gastric carcinomas. *Curr Diag Pathol* 1997;4:51-59.

Carneiro F, Seixas M, Sobrinho-Simões M. New elements for an updated classification of the carcinomas of the stomach. *Pathol Res Pract* 1995;191:105-113.

Carrato C, Balagué C, DeBolos C, Gonzalez E, Gambus G, Planas J, Perini JM, Andreu D, Real FX. Differential apomucin expression in normal and neoplastic gastrointestinal tissues. *Gastroenterology* 1994;107:160-172.

Carvalho F. Mucin genes (MUC1 and MUC6) polymorphism and gastric carcinoma risk. Tese de doutoramento Faculdade de Medicina do Porto, 1999.

Cascinu S, Giordani P, Catalano V, Agostinelli R, Catalano G. Resection-line involvement in gastric cancer patients undergoing curative resections: implications for clinical management. *Jap J Clin Oncol* 1999;29:291-293.

Chausovsky G, Luchansky M, Figer A, Shapira J, Gottfried M, Novis B, Bogelman G, Zemer R, Zimlichman S, Klein A. Expression of cytokeratin 20 in the blood of patients with disseminated carcinoma of the pancreas, colon stomach, and lung. *Cancer* 1999;86:2398-2405.

Chow WH, Blot WJ, Vaughan TL, Risch HA, Gammon MD, Staford JL, Dubrow R, Schoenberg JB, Mayne ST, Farrow DC, Ahsan H, West AB, Rotterdam H, Niwa S, Farumeni JF Jr. Body mass index and risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:150-155.

Craanen ME, Dekker W, Block P, Ferwerda J, Tytgat GJ. Time trends in gastric carcinoma: changing patterns of type and location. *Am J Gastr* 1992;87:572-579.

Craanen ME, Block P, Offerhaus GJA, Meijer GA, Dekker W, Kuipers EJ, Meuwissen SGM. P21^{Waf1/Cip1} expression and the p53/MDM2 feedback loop in gastric carcinogenesis. *J Pathol* 1999;189:481-486.

Cohen JA, Weiner DB, More KF, Kokai Y, Williams WV, Maguire HC, LiVolsi VA and Greene MI. Expression pattern of the neu (NGL) gene-encoded growth factor receptor protein (p185^{neu}) in normal and transformed epithelial tissues of the digestive tract. *Oncogene* 1989;4:81-88.

Correa P. The epidemiology of gastric cancer. *World J Surg* 1991;15:228-231.

Correa P, Haenszel W, Cuello C, Zavala D, Fontham E, Zarama G, Tannenbaum S, Collazos T, Ruiz B. Gastric precancerous process in a high risk population: cross-sectional studies. *Cancer Res* 1990;50:4731-4736.

Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U, Levinson A, Ullrich A. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985;230:1132-1139.

Cox DR. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc B* 1972;34:187-220.

Bibliografia

Crookes p, Leiochman CG, Leichman L, Tan M, Laine L, Stain S, Baranda J, Casagrande Y, Groshen S, Silberman H. Systemic chemotherapy for gastric carcinoma followed by postoperative intraperitoneal therapy. A final report. *Cancer* 1997;79:1767-1775.

David L, Seruca R, Nesland JM, Soares P, Sansonetty F, Holm R, Børresen AL, Sobrinho-Simões M. c-erb B-2 expression in primary gastric carcinomas and their metastases. *Modern Pathol* 1992;5:384-390.

DeBolíós C, Garrido M, Real FX. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach. *Gastroenterology* 1995;109:723-734.

Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998;83:2049-2053.

Devine PL, McGuckin MA, Birrell GW, Whitehead RH, Sachdev GP, Shield P, Ward BG. Monoclonal antibodies reacting with the MUC2 mucin core protein. *Br J Cancer* 1993;67:1182-1188.

Dhar DK, Kubota H, Tachibana M, Kotoh T, Tabara H, Watanabe R, Kohno H, Nagasue N. Long-term survival of transmural advanced gastric carcinoma following curative resection: multivariate analysis of prognostic factors. *World J Surg* 2000;24:588-594.

Diaz NM. Laboratory testing for HER2/neu in breast carcinoma: an evolving strategy to predict response to targeted therapy. *Cancer Control* 2001;8:415-418.

Duffy MJ. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? *Clin Biochem* 2001;34:347-352.

Dufosse J, Porchet N, Audie JP, Guyonnet-Dupérat V, Laine A, Van-Seuningen I, Marrakchi S, Degand P, Aubert JP. Degenerate 87-base-pair tandem repeats create hydrophilic/hydrophobic alternating domains in human mucin peptides mapped to 11p15. *Biochem J* 1993;293:329-337.

Duhaylongsod FG, Gottfried MR, Iglehart JD, Vaughn AL, Wolfe WG. The significance of c-erb-B2 and p53 immunoreactivity in patients with adenocarcinoma of the esophagus. *Ann Surg* 1995;221:677-84.

Dursum A, Poyraz A, Celik B, Akyol G. Expression of c-erb B-2 oncoprotein in gastric carcinoma: correlation with histopathological characteristics and analysis of Ki-67. *Pathol Oncol Res* 1999;5:104-106.

Everett SM, Axon AT. Early gastric cancer in Europe. *Gut* 1997;41:142-150.

Fioca R, Villani L, Tenti P, Solcia E, Cornaggia M, Frigerio B, Capella C. Characterisation of four main cell types in gastric cancer: foveolar, mucopeptic, intestinal columnar and goblet cells. An histopathological, histochemical and ultrastructural study of "early" and "advanced" tumours. *Pathol Res Pract* 1987;182:308-325.

Fink AS, Longmire WP, Macintyre IMC. Improving results in the treatment of gastric cancer: an 11-year audit. *Br J Surg* 1991;78:349-351.

Fink U, Stein HJ, Schumacher HJ. Neoadjuvant chemotherapy for gastric cancer: update. *World J Surg* 1995;19:509-516.

Fléjou JF, Gratio V, Muzeau F, Hamelin R. p53 abnormalities in adenocarcinoma of the gastric cardia and antrum. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1999;52:263-268.

Folli S, Morgagni P, Roviello F, DE Manzoni G, Marrelli D, Saragoni L, Di Leo A, Gaudio M, Nanni O, Carli A, Cordiano C, Dell'Amore D, Vio A. Risk factors for lymph node metastases and their prognostic significance

in early gastric cancer (EEG) for the Italian Research Group for Gastric Cancer (IRGGC). *Jpn J Clin Oncol* 2001;31:495-499.

Fujii K, Isozaki H, Okajima K, Nomura E, Niki M, Sako S, Izumi N, Mabuchi H, Nishiguchi K, Tanigawa N. Clinical evaluation of lymph node metastasis in gastric cancer defined by the fifth edition of the TNM classification in comparison with the Japanese system. *Br J Surg* 1999;86:685-689.

Fujimoto S, Takahashi M, Mutou T, Kobayashi K, Toyosawa T, Isawa E, Sumida M, Ohkubo H. Improved mortality rate of gastric carcinoma patients with peritoneal carcinomatosis treated with intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion combined with surgery. *Cancer* 1997;79:884-889.

Fujimoto S, Takahashi M, Mutou T, Kobayashi K, Toyosawa T. Successful intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion for the prevention of postoperative peritoneal recurrence in patients with advanced gastric carcinoma. *Cancer* 1999;85:529-534.

Fujita T, Matai K, Kohno S, Itsubo K. Impact of splenectomy on circulating immunoglobulin levels and the development of postoperative infection following total gastrectomy for gastric cancer. *Br J Surg* 2000;135:831-835.

Gambús G, DeBolós C, Andreu D, Francí C, Egea G, Real FX. Detection of the MUC2 apomucin tandem repeat with a mouse monoclonal antibody. *Gastroenterology* 1993;104:93-102.

Gendler SJ, Lancaster CA, Taylor-Papadimitriou J, Duhig J, Peat T, Burchell J. Molecular cloning and expression of human tumor-associated polymorphic epithelial mucin. *J Biol Chem* 1990;265:15286-15293.

Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol* 1995;57:607-634.

Gleeson CM, Sloam JM, McGuigan JA, Ritchie AJ, Weber JL, Russel SE. Widespread microsatellite instability occurs infrequently in adenocarcinoma of the gastric cardia. *Oncogene* 1996;12:1653-1662.

Gleeson CM, Sloam JM, McManus DT, Maxwell P, Arthur K, McGuigan JA, Ritchie AJ, Russel SE. Comparison of p53 and DNA content abnormalities in the adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *Br J Cancer* 1998;77:277-286.

Golematis B, Tzardis P, Hatzikostas P, Papadimitriou K, Haritopoulos N. Changing pattern of distribution of carcinoma of the stomach. *Br J Surg* 1990;77:63-64.

Gouveia A, Pinto de Sousa J, Pimenta A, David L. The influence of venous invasion in cardia carcinoma prognosis. *Recent Advances in Diseases of the Esophagus*. Pinotti HW, Ceconello I, Felix VN, Oliveira MA (Editors), Bologna, Monduzzi Editore, 303-307, 2001.

Graham AJ, Finley RJ, Clifton JC, Evans KG, Fradet G. Surgical management of adenocarcinomas of the cardia. *Am J Surg* 1998;175(5):418-21.

Gray JR, Coldman AJ, MacDonald WC. Cigarette and alcohol use in patients with adenocarcinoma of gastric cardia or lower esophagus. *Cancer* 1993;69:2227-2231.

Gum JR, Byrd JC, Hicks JW, Toribara NW, Lamport DTA, Kim YS. Molecular cloning of human intestinal mucin cDNAs. *J Biol Chem* 1989;264: 6480-6487.

Gum JR, Hicks JW, Swallow DM, Lagace RE, Byrd JC, Lamport DT, Siddiki B, Kim YS. Molecular cloning of cDNAs derived from a novel human intestinal mucin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;171: 407-415.

Gurel S, Dolar E, Yerci O, Samli B, Ozturk H, Nak SG, Gulden M and Memik F. The relationship between c-erb B-2 expression and clinicopathological factors in gastric cancer. *J Int Med Res* 1999;27: 74-78.

Bibliografia

Guyonnet-Duperat V, Audie JP, Debailleul V, Laine A, Buisine MP, Galiegue-Zouitina S, Pigny P, Degand P, Aubert JP, Porchet N. Characterization of the human mucin gene MUC5AC: a consensus cysteine-rich domain for 11p15 mucin genes? *Biochem J* 1995;305:211-219.

Hagen JA, Peters JH, DeMeester TR. Superiority of extended en bloc esophagogastrectomy for carcinoma of the lower esophagus and cardia. *J Thor Card Surg* 1993;106:850-859.

Hallissey MJ, Allum WH, Jewkes AJ, Ellis DJ, Fielding JW. Early detection of gastric cancer. *B M J* 1990;301:513-515.

Hamazoe R, Maeta M, Kaibara N. Intraperitoneal thermochemotherapy for prevention of peritoneal recurrence of gastric cancer. *Cancer* 1994;74:189-197.

Hanski C, Hofmeier M, Schmitt-Graff A, Riede E, Hanski ML, Borchard F, Sieber E, Niedobitek F, Foss HD, Stein H, Riecken EO. Overexpression or ectopic expression of MUC2 is the common property of mucinous carcinomas of the colon, pancreas, breast, and ovary. *J Pathol* 1997;182:385-391.

Hansson LE, Sparén P, Nyrén O. Survival in stomach cancer is improving. Results of a nationwide population-based Swedish study. *Ann Surg* 1999;230:162-169.

Harrison JD, Fielding JL. Prognostic factors for gastric cancer influencing clinical practice. *World J Surg* 1995;19:496-500.

Hayden JD, Cawkwell L, Quirke P, Dixon MF, Goldstone AR, Sue-Ling H, Johnston D, Martin IG. Prognostic significance of microsatellite instability in patients with gastric carcinoma. *Eur J Cancer* 1997;33:2342-2346.

Heintz NH, Leslie KO, Rogers LA and Howard OL. Amplification of the c-erb B-2 oncogene and prognosis of breast adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114:160-163.

Hennessey TP, Keeling P. Adenocarcinoma of the esophagus and cardia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;94:64-68.

Hermanek P, Sobin LH editors. TNM classification of malignant tumours. International Union Against Cancer. 4th edition. 2nd revision. Berlin: Springer, 1992.

Hermanek P, Henson DE, Hutter RUP, Sobin LH, editors. TNM supplement, 1993. A commentary on uniform use. International Union Against Cancer. Berlin: Springer, 1993.

Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan Ps, Cheritz DL, Gumm ET, Dahiya R, Kim YS. Heterogeneity of mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium. *Cancer Res* 1993;53:641-651.

Ho SB, Shekels LL, Toribara NW, Kim YS, Lyftogt C, Cherwitz DL, Niehans GA. Mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium. *Cancer Res* 1995;55:2681-2690.

Holmes WE, Sliwkowski MX, Akita RW, Henzel WJ, Lee J, Park JW, Yansura D, Abadi N, Raab H, Lewis GD. Identification of heregulin, a specific activator of p185erbB2. *Science* 1992;256:1205-1210.

Hsu S, Raine L, Fanger H. A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Amer J Clin Pathol* 1981;75:734-738.

Hundahl SA, Menck HR, Mansour EG, Winchester DP. The National Cancer Data Base report on gastric carcinoma. *Cancer* 1997;80:2333-2341.

- Hundahl SA, Philips JL, Menck HR. The National Cancer Data Base report on poor survival of gastric carcinoma patients treated with gastrectomy. Fifth edition American Joint Committee on Cancer Staging, proximal disease, and the "Different Disease" hypothesis. *Cancer* 2000;88:921-932.
- Husemann B. Cardia carcinoma considered as a distinct clinical entity. *Br J Surg* 1989;76:136-139.
- Ichikura T, Tomimatsu S, Uefuji K, Kimura M, Uchida T, Morita D, Mochizuki H. Evaluation of the new American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer classification of lymph node metastasis from gastric carcinoma in comparison with the Japanese classification. *Cancer* 1999;86:553-558.
- Ikeguchi M, Katano K, Oka A, Tsujitani S, Maeta M, Kaibara N. Relationship between hematogenic metastasis of gastric cancer and the maximum extent of venous invasion by cancer cells in the gastric wall. *Hepatogastroenterology* 1995;42:660-665.
- Ireland AP, Shibata DK, Chandrasoma P, Lord RVN, Peters JH, DeMeester TR. Clinical significance of p53 mutations in adenocarcinoma of the esophagus and cardia. *Ann Surg* 2000;231:179-187.
- Ishida K, Katsuyama T, Sugimachi A, Kawasaki S. Immunohistochemical evaluation of lymph node micrometastases from gastric carcinoma. *Cancer* 1997;79:1069-1076.
- Isozaki H, Okajima K, Yamada S, Nakata E, Nishimura J, Ichinona T, Tanimura M, Takeda Y. Proximal subtotal gastrectomy for the treatment of carcinoma of the upper third of the stomach: its indications based on lymph node metastasis and perigastric lymphatic flow. *Surg Today* 1995;25(1):21-26.
- Jatzko GR, Lisborg PH, Denk H, Klimpsfinger M, Stettner HM. A 10-year experience with Japanese-type radical lymph node dissection for gastric cancer outside of Japan. *Cancer* 1995;76:1302-12.
- Jeen YT, Yoon SY, Shin SW, Kim BS, Mok YJ, Kim CS, Hyun JH, Kim JS, Kim YH. Phase II trial of epirubicin, cisplatin, oral uracil and tegafur, and leucovorin in patients with advanced gastric carcinoma. *Cancer* 2001;91:2288-2293.
- Jessup JM, Posner M, Huberman M, LoCicero J, Stone M, Steele G Jr. Efficacy of multimodality therapy in gastric adenocarcinoma. *Sem Surg Oncol* 1993;9:19-26.
- Kabat GC, Ng SKC, Wynder EL. Tobacco, alcohol intake, and diet in relation to adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *Cancer Causes Control* 1993;4:123-132.
- Kameda T, Yasui W, Yoshida K, Tsujino T, Nakayama H, Ito M, Ito H, Tahara E. Expression of ERBB2 in human gastric carcinomas: relationship between p185^{ERBB2} expression and the gene amplification. *Cancer Res* 1990;50:8002-8009.
- Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958;53:457-481.
- Kajiyama Y, Tsurumaru M, Udagawa H, Tsutsumi K, Kinoshita Y, Ueno M, Akiyama H. Prognostic factors in adenocarcinoma of the gastric cardia: pathologic stage analysis and multivariate regression analysis. *J Clin Oncol* 1997;15:2015-2021.
- Kalish RJ, Clancy PE, Oringer MB, Appelman HD. Clinical, epidemiologic and morphologic comparison between adenocarcinomas arising in Barrett's esophageal mucosa and in the gastric cardia. *Gastroenterology* 1984;86:461-467.
- Karpeh MS, Kelsen DP, Tepper JE. Principles and practice of oncology on CD-ROM. Chapter 33.3: cancer of the stomach. 6th edition. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (editors), 2001.
- Katano M, Nakamura M, Fujimoto K, Miyazaki K, Morisaki T. Prognostic value of Platelet-derived Growth Factor-A (PDGF-A) in gastric carcinoma. *Ann Surg* 1998;227:365-271.

Bibliografia

- Kim JH, Uhm HD, Gong SJ, Shin DH, Choi JH, Lee HR, Nosh SH, Kim BS, Cho JY, Yoo NC, Chung HC, Roh JK, Min JS, Lee Ks and Kim BS. Relationship between p53 overexpression and gastric cancer progression. *Oncology* 1997; 54: 166-170.
- Kim JP, Kwon OJ, Oh ST, Yang HK. Results of surgery on 6589 gastric cancer patients and immunochemosurgery as the best treatment of advanced gastric cancer. *Ann Surg* 1992;216:269-279.
- Kim YH, Shin SW, Kim B, Kim JH, Kim JG, Mok JY, Kim CS, Rhyu HS, Hyun JH, Kim JS. Paclitaxel, 5-fluororacil, and cisplatin combination chemotherapy for the treatment of advanced gastric carcinoma. *Cancer* 1999;85:295-301.
- Kim YS, Gum J, Brockhausen I. Mucin glycoprotein in neoplasia. *Glycoconj J* 1996;13:693-707.
- Kim YS, Gum JR. Diversity of mucin genes, structure, function, and expression. *Gastroenterol* 1995;109:999-1001.
- King CR, Krauss MH and Aaronson SA. Amplification of a novel *v-erbB*-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 1985;229:974-976.
- Kitamura K, Nishida S, Ichikawa D, Taniguchi H, Hagiwara A, Yamaguchi T, Sawai K. No survival benefit from combined pancreaticosplenectomy and total gastrectomy for gastric cancer. *Br J Surg* 1999;86:119-122.
- Kitamura K, Nishida S, Yamamoto K, Ichikawa D, Okamoto K, Taniguchi H, Yamaguchi T, Sawai K, Takahashi T. Lymph node metastasis in gastric cancer in the upper third of the stomach - surgical treatment on the basis of the anatomical distribution of positive nodes. *Hepatogastroenterology* 1998;45:281-285.
- Korenaga D, Haraguchi M, Okamura T, Baba H, Saito A, Sugimachi K. DNA ploidy and tumor invasion in human gastric cancer. *Arch Surg* 1989;124:314-8.
- Kodama Y, Sugimachi K, Soejima K, Matsusaka T, Inokuchi K. Evaluation of extensive lymph node dissection for carcinoma of the stomach. *World J Surg* 1981;5:241-248.
- Koseki K, Takizawa T, Koike T, Ito M, Nihei Z, Sugihara K. Distinction of differentiated type early gastric carcinoma with gastric type mucin expression. *Cancer* 2000;89:724-732.
- Kyokane K, Ito H, Sato Y, Ina K, Kusugani K. Expression of Bcl-2 and p53 correlates with morphology of gastric neoplasia. *J Pathol* 1998;184: 382-389.
- Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren N, Nyren O. The role of tobacco, snuff and alcohol use in the aetiology of cancer of the oesophagus and gastric cardia. *Int J Cancer* 2000;85:340-346.
- Lagergren J, Bergstrom R, Nyren O. Association between body mass and adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *Ann Intern Med* 1999;130:883-890.
- Lan MS, Batra SK, Qi W-N, Metzgar RS, Hollingsworth MA. Cloning and sequencing of a human pancreatic tumor mucin cDNA. *J Biol Chem* 1990;265:15294-15299.
- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48:6-29.
- Lapensee L, Paquette Y, Bleau G. Allelic polymorphism and chromosomal localization of the human oviductin gene (MUC9). *Fertil Steril* 1997;68:702-708.
- Lardenoye JWH, Kappetein AP, Lagaay MB, Allema JH, Breslau P. Survival of Proximal Third Gastric Carcinoma. *J Surg Oncol* 1998;68:183-6.
- Laurén P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and the so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Path Microbiol Scand* 1965;64:31-49.

- Laurén PA, Nevalainen TJ. Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma: a time-trend study in Finland with comparison between studies from high- and low-risk areas. *Cancer* 1993;71:2926-2933.
- Lee HK, Yang HK, Kim WH, Lee KU, Choe KJ, Kim JP. Influence of the number of lymph nodes examined on staging of gastric cancer. *Br J Surg* 2001;88:1408-1412.
- Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH, MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas. Their roles as prognostic indicators. *Cancer* 2001;92:1427-1434.
- Lee WJ, Shun CT, Hong RL, Wu MS, Chang KJ, Chen KM. Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastric cancer. *Br J Surg* 1998;85:1138-1142.
- Lessuffleur T, Zweibaum A, real FX. Mucins in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. *Critical Rev Oncol/Hematol* 1994;17:153-180.
- Lokich JJ, Sonneborn H, Anderson NR, Bern MM, Coco FV, Dow E, Olynk P. Combined paclitaxel, cisplatin, and etoposide for patients with previously untreated esophageal and gastroesophageal carcinomas. *Cancer* 1999;85:2347-2351.
- Lowy AM, Mansfield PF, Leach SD, Pazdur R, Dumas P, Ajani JA. Response to neoadjuvant chemotherapy best predicts survival after curative resection of gastric cancer. *Ann Surg* 1999;229:303-308.
- Macdonald JS, Schnall SF: Adjuvant Treatment of gastric cancer. *World J Surg* 1995;19:221-225.
- Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, Haller DG, Ajani JA, Gunderson LL, Jessup JM, Martenson JA. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *New Eng J Med* 2001;345:725-730.
- Maehara Y, Kakeji Y, Watanabe A, Baba H, Kusumoto H, Kohnoe S, Sugimachi K. Clinical implications of serum anti-p53 antibodies for patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1999;85:302-308.
- Maehara Y, Moriguchi S, Kakeji Y, Orita H, Haraguchi M, Korenaga D, Sugimachi K. Prognostic factors in adenocarcinoma in the upper-third of the stomach. *Surg Gynecol Obstet* 1991;173:223-226.
- Maehara Y, Tomada M, Hasuda S, Kabashima A, Tokunaga E, Kakeji Y and Sugimachi K. Prognostic value of p53 protein expression for patients with gastric cancer – a univariate analysis. *Br J Cancer* 1999;79:1255-1261.
- Maerz LL, Deveney CW, Lopez RR. Role of computed tomographic scans in the staging of esophageal and proximal gastric malignances. *Am J Surg* 1993;165:558-560.
- Marubini E, Bonfanti G, Bozzetti f, Borracchi P, Amadori D, Folli S, Nanni O and Gennari L. A prognostic score for patients resected for gastric cancer. *Eur J Cancer* 1993;29A: 845-850.
- Maruyama K, Gunvén P, Okabayashi K, Sasako M, Kinoshita T. Lymph node metastases of gastric cancer. General pattern in 1931 patients. *Ann Surg* 1989;210:596-602.
- Mendes de Almeida JC, Limbert M, Mendes de Almeida JM. Does the new TNM classification (1997) improve prognostic stratification in gastric cancer submitted to R0 surgery? *Eur J Surg Oncol* 1999;25:280-283.
- Mendes de Almeida JC, Bettencourt A, Costa CS, Mendes de Almeida JM. Cirurgia paliativa por carcinoma do estômago. Estudo retrospectivo de 112 casos consecutivos. *Acta Médica Portuguesa* 1993;6: 55-58.
- Mettelin C. Epidemiologic studies in gastric adenocarcinoma. In: Douglass HJ, ed. *Gastric cancer*. New York: Churchill Livingstone, 1988:1.
- Ming SC. Gastric carcinoma: a pathobiological classification. *Cancer* 1977;39:2475-2485.

Bibliografia

- Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of c-erb B-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993;72: 2083-2088.
- Mokbel K and Hassanally D. From HER2 to herceptin. *Curr Med Res Opin* 2001;17:51-59
- Moutinho-Ribeiro M, Seixas M, Sobrinho-Simões M: Carcinoma do terço superior do estômago: uma entidade clínico-patológica? *Arq Med* 1987;1:297-308.
- Moutinho-Ribeiro M, Seixas M, Sobrinho-Simões M: Prognosis in gastric carcinoma: the preeminence of staging and the futility of histological classification. In: Watanabe S, Wolff M, Sommers S, editors, Vol. 1. *Digestive disease pathology*. Berlin: Springer; 1988; p.5168-5181.
- Msika S, Tazi MA, Benhamice AM, Couillault C, Harb M, Faivre J. Population-based study of diagnosis, treatment and prognosis of gastric cancer. *Br J Surg* 1997;84:1474-1478.
- Mueller JD, Stein HJ, Oyang T, Natsugoe S, Feith M, Werner M, Siewert JR. Frequency and clinical impact of lymph node micrometastasis and tumor cell microinvolvement in patients with adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Cancer* 2000;89:1874-1882.
- Muir CS, Harvey JC. Cancer of the stomach: overview. In *Gastric Cancer*, Sugimur T and Sasako M (editors) New York 1997.
- Murakami R, Tsukuma H, Ubukata T, Nakanishi K, Fujimoto I, Kawashima T, Yamazaki H, Oshima A. Estimation of validity of mass screening program for gastric cancer in Osaka, Japan. *Cancer* 1990;65:1255-1260.
- Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, Watanabe A, Tatsumi M, Yamashita J, Matsuda M, Sakaguchi T, Hirao T and Nakano H. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer* 1999;85:1894-1902.
- Nakajima T. Review of adjuvant chemotherapy for gastric cancer. *World J Surg* 1995;19:570-574.
- Nakamura M, Katano M, Fujimoto K, Morisaki T. A new prognostic strategy for gastric carcinoma. *Ann Surg* 1997;226:35-42.
- Nakane Y, Okamura S, Boku T, Okusa T, Tanaka K, Hioki K. Prognostic differences of adenocarcinoma arising from the cardia and the upper third of the stomach. *Am Surg* 1993; 59:423-9.
- Nakata B, Hirakawa H, Chung YS, Ogawa Y, Yanagawa K, Muguruma K, Inoue T, Yamahita Y, Onoda N, Maeda K, Sawada T, Sowa M. P53 protein overexpression as a predictor of the response to chemotherapy in gastric cancer. *Surg Today* 1998;28:595-598.
- Nakazato H, Koike A, Saji S, Ogawa N, Sakamoto J. Efficacy of immunochemotherapy as adjuvant treatment after curative resection of gastric cancer. *Lancet* 1994;343:1122-1126.
- Namieno T, Koito K, Higashi T, Sato N, Uchino J: General pattern of lymph node metastasis in early gastric carcinoma. *World J Surg* 1996;20:996-1000.
- Noda N, Sasako M, Yamaguchi N, Nakanishi Y. Ignoring small lymph nodes can be a major cause of staging error in gastric cancer. *Br J Surg* 1998;85:831-834.
- Noguchi M, Miyazaki I. Prognostic significance and surgical management of lymph node metastasis in gastric cancer. *Br J Surg* 1996;83:156-161.
- Noguchi Y, Imada T, Coit D, Brennan MF. Radical surgery for gastric cancer – review of the Japanese literature. *Cancer* 1991;64:2053-2062.

Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Motohashi H, Karpel MS, Brennan MF. Is gastric carcinoma different between Japan and the United States? A comparison of patient survival among three institutions. *Cancer* 2000;89:2237-2246.

Ochiai T, Sato H, Hayashi R, Asano T, Isono K, Nagata M, Enomoto K, Gunji Y, Okuyama K, Tanaka T. Randomly controlled study of chemotherapy versus chemoimmunotherapy in postoperative gastric cancer patients. *Cancer Res* 1983;43:3001-3007.

Ohta H, Noguchi Y, Takagi K, Nishi M, Kajitani T, Kato Y. Early gastric cancer with special reference to macroscopic classification. *Cancer* 1987;60:1099-1106.

Okusa Y, Ichikura T, Mochizuki H. Prognostic impact of stromal cell-derived urokinase-type plasminogen activator in gastric carcinoma. *Cancer* 1999;85:1033-1038.

Oliveira FJ. Linfadenectomia no carcinoma gástrico inicial? *Arq Port Cirurgia* 1999;8:145-148.

Orita H, Maehara Y, Emi Y, Kakeji V, Baba H, Korenaga D and Sugimachi K. c-erb B-2 expression is predictive for lymphatic spread of clinical gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1997;44: 294-298.

Ortolani CM, Sundblad AS. Gastric cancer. Clinico-pathological characteristics and expression of c-erb B-2 oncogene in 122 cases. *Medicina (B Aires)* 1993;53: 97-102.

Ota DM, Ajani JA, Mansfield P. Preoperative chemotherapy for gastric carcinoma. *Surg Oncol North Amer* 1993;2:493-497.

Otsuji E, Yamaguchi T, Sawai K, Hagiwara A, Taniguchi H, Takahashi T. Recent advances in surgical treatment have improved survival of patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1998;82:1233-1237.

Park JB, Rhim JS, Park SC, Kimm SW, Kraus MH. Amplification, overexpression, and rearrangement of the erb B-2 protooncogene in primary human stomach carcinomas. *Cancer Res* 1989;49:6605-6609.

Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993;54:594-606.

Percy C, Van Holten V, Muir C, editors. International classifications of diseases for oncology. 2nd edition. Geneva: World Health Organization, 1990.

Pereira A, Barbosa J, Pereira AD, Ramos U, Maciel J, Silva Leal A, Seixas M. Carcinoma gástrico inoperável e/ou irresssecável. *Arq Port Cirurgia* 1995;4:233-236.

Piccart MJ. Proposed treatment guidelines for HER2-positive metastatic breast cancer in Europe. *Ann Oncol* 2001;12:S89-S94.

Pinto de Sousa J, Maciel R, Queirós H, David L, Pimenta A. 232 carcinomas gástricos ressecados em 12 anos: a estabilização dos resultados ou a impotência da cirurgia. *Arq Port Cirurgia* 2000;9:153-159.

Pinto de Sousa J, David L, Seixas M, Pimenta A. Clinico-pathological profiles and prognosis of gastric carcinoma from the cardia, fundus/body and antrum. *Dig Surg* 2001;18:102-110(a).

Pinto de Sousa J, David L, Seixas M, Pimenta A. Should cardia carcinomas be distinguished from more distal lesions? Recent Advances in Diseases of the Esophagus. Pinotti HW, Ceconello I, Felix VN, Oliveira MA (Editors), Bologna, Monduzzi Editore,297-301,2001(b).

Polkowski W, van Sandick JW, Offerhaus GJ, ten Kate FJ, Mulder J, Obertop H, van Lanschot JJ. Prognostic value of Lauren classification and c-erb B-2 oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Ann Surg Oncol* 1999;6:290-297.

Popescu NC, King CR, Kraus MH. Localization of the human *erbB-2* gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12-21.32. *Genomics* 1989;4:362-366.

Bibliografia

- Porchet N, Van Cong N, Dufosse J, Audie JP, Guyonnet-Duperat V, Gross MS, Denis C, Degand P, Bernheim A, Aubert JP. Molecular cloning and chromosomal localization of a novel human tracheo-bronchial mucin cDNA containing tandemly repeated sequences of 48 base pairs. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175:414-422.
- Possik RA, Franco EL, Pires DR, Wohnrath DR, Ferreira EB. Sensitivity, specificity, and predictive value of laparoscopy for the staging of gastric cancer and for the detection of liver metastases. *Cancer* 1986;58:1-6.
- Powell J, McConkey CC. Increasing incidence of adenocarcinoma of the gastric cardia and adjacent sites. *Br J Cancer* 1990;62:440-443.
- Powell J, McConkey CC. The rising trend in oesophageal adenocarcinoma and gastric cardia. *Eur J Cancer Prev* 1992;1:265-269.
- Reis CA, David L, Nielsen PA, Clausen H, Mirgorodskaya K, Roepstorff P, Sobrinho-Simões M. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1997;74:112-121.
- Reis CA, David L, Seixas M, Burchell J, Sobrinho-Simões M. Expression of fully and under-glycosylated forms of MUC1 Mucin in gastric carcinoma. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1998;79:402-410(a).
- Reis CA, Sørensen , Mandel U, David L, Mirgorodskaya E, Roepstorff E, Kihlberg J, Hansen JS, Clausen H. Development and characterization of an antibody directed to an α -N-acetyl-D-galactosamine glycosylated MUC2 peptide. *Glucoconj J* 1998;15:51-62(b).
- Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, DeBolós C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Intestinal metaplasia of the human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6) expression. *Cancer Res* 1999; 59:1003-1007.
- Reis CA, David L, Carvalho F, Mandel U, Bolós C, Mirgorodskaya E, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Immunohistochemical study of the expression of MUC6 mucin and co-expression of other secreted mucins (MUC5AC and MUC2) in human gastric carcinomas. *J Histochemistry & Cytochemistry* 2000; 48:377-388.
- Roder JD, Böttcher K, Bush R, Wittekind C, Hermanek P, Siewert JR, for the German Gastric Cancer Study Group. Classification of regional lymph node metastasis from gastric carcinoma. *Cancer* 1998;82:621-631.
- Roder JD, Bonenkamp JJ, Craven J, van de Velde CJH, Sasako M, Böttcher K. Lymphadenectomy for gastric cancer in clinical trials: update. *World J Surg* 1995;19:546-553.
- Roder JD, Böttcher K, Siewert JR, Busch R, Hermanek P, Meyer HJ, and the German Gastric Cancer Study Group. Prognostic factors in gastric carcinoma. *Cancer* 1993;72:2089-2097.
- Rosen HR, Jatzko G, Repse S, Potrc S, Neudorfer H, Sandbichler P, Zachrel J, Rabl H, Holzberger P, Lisborg P, Czejka M. Adjuvant intraperitoneal chemotherapy with carbon-absorbed mitomycin in patients with gastric cancer: results of a randomized multicenter trial of the Australian Working Group for Surgical Oncology. *J Clin Oncol* 1998;16:2733-2738.
- Roviello F, Marrelli D, Vindigni C, De Stefano A, Spine D, Pinto E. p53 accumulation is a prognostic factor in intestinal-type gastric carcinoma but not in the diffuse type. *Ann Surg Oncol* 1999;6:739-745.
- Saito H, Tsujitani S, Katano K, Ikeguchi M, Maeta M and Kaibara N. Serum concentration of CD44 variant 6 and its relation to prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1998;83:1094-1101.
- Sánchez-Bueno F, Garcia-Marcillia JA, Perez-Flores D, Pérez-Abad JM, Cicente R, Aranda F, Ramirez P, Parrilla P. Prognostic factors in a series of 297 patients with gastric adenocarcinoma undergoing surgical resection. *Br J Surg* 1998;85:255-260.

- Sakamoto H, Yonezawa S, Utsunomiya T, Tanaka S, Kim YS, Sato E. Mucin antigen expression in gastric carcinomas of young and old adults. *Hum Pathol* 1997;28:1056-1065.
- Santos N, Seruca R, Constanca M, Seixas M, Sobrinho-Simões M. Microsatellite instability at multiple loci in gastric carcinoma: clinicopathological implications and prognosis. *Gastroenterology* 1996;110:38-44
- Sautner T, Hofbauer F, Depisch D, Schiessel R, Jakesz R. Adjuvant intraperitoneal cisplatin chemotherapy does not improve long-term survival after surgery for advanced gastric cancer. *J Clin Oncol* 1994;1994:12:970-974.
- Schechter AL, Hung MC, Vaidyanathan L, Weinberg RA, Yang-Feng TL, Francke U, Ullrich A, Coussen L. The neu gene: an erB-homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. *Science* 1985;229:976-978.
- Schlemper RJ, Itabashi M, Kato Y, Lewin KJ, Riddell RH, Shimada T, Sipponen P, Stolte M, Watanabe H, Takahashi H, Fujiti R. Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and Western pathologists. *Lancet* 1997;349:1725-1729.
- Schiessel R, Funovics J, Schick B, Bohming HJ, Depish D, Hofbauer F, Jakesz R. Adjuvant intraperitoneal cisplatin therapy in patients with operated gastric carcinoma: results of a randomized trial. *Acta Med Aust* 1989;16:68-69.
- Schumacher CP, Fink U, Becker K, Busch R, Dittler H, Mueller J, Siewert JR. Neoadjuvant therapy for patients with locally advanced gastric carcinoma with etoposide, doxorubicin, and cisplatin. Closing results after 5 years of follow-up. *Cancer* 2001;91:918-927.
- Sendler A, Dittler HJ, Feussner H, Nekarda H, Bollschweiller E, Fink U, Helmberger H, Hofler H, Siewert JR. Preoperative staging of gastric cancer as precondition for multimodal treatment. *World J Surg* 1995; 19:501-508.
- Seruca R, Santos NR, David L, Constância M, Barroca H, Carneiro F, Seixas M, Pelttomaki P, Lother R, Sobrinho-Simões M. Sporadic gastric carcinomas with microsatellite instability display a particular clinicopathologic profile. *Int J Cancer* 1995;64:32-36.
- Shankar V, Pichan P, Eddy JrRL, Tonk V, Nowak N, Sait SN, Shows TB, Schultz RE, Gotway G, Elkins RC, Gilmore MS, Sachdev GP. Chromosomal localization of a human mucin gene (MUC8) and cloning of the cDNA corresponding to the carboxy terminus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:232-241.
- Shimada K, Ajani JA. Adjuvant therapy for gastric carcinoma patients in the past 15 years. A review of western and oriental trials. *Cancer* 1999;86:1657-1668.
- Siewert JR, Böttcher K, Roder JD, Busch R. Prognostic relevance of systematic lymph node dissection in gastric cancer. *Br J Surg* 1993; 80:1015-1018.
- Siewert JR, Böttcher K, Stein HJ, Roder JD, Busch R. Problem of proximal third gastric carcinoma. *World J Surg* 1995;19:523-531.
- Siewert JR, Böttcher K, Stein HJ, Roder JD, and the German Gastric Carcinoma Study. Relevant prognostic factors in gastric cancer. Ten years results of the German Gastric Carcinoma Study Group. *Ann Surg* 1998;228:449-461.
- Siewert JR, Kestlmeier R, Busch R, Böttcher K, Roder JD, Müller J, Fellbaum C, Höfler. Benefits of D2 lymph node dissection for patients with gastric cancer and pN0 and pN1 lymph node metastases. *Br J Surg* 1996;83:1144-1147(a).
- Siewert JR, Stein HJ: Adenocarcinoma of the gastroesophageal junction: Classification, pathology and extent of resection. *Dis Esoph* 1996;9:173-182(b).

Bibliografia

- Siewert JR, Fink U, Sendler A. Gastric cancer. *Curr Probl Surg* 1997;43:837-937.
- Siewert JR, Stein HJ. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. *Br J Surg* 1998;85:1457-1459.
- Siewert JR, Sendler A. The current management of gastric cancer. *Advances in Surg* 1999;33:69-93(a).
- Siewert JR, Stein HJ, Sendler A, Fink U. Surgical resection for cancer of the cardia. *Sem Surg Oncol* 1999;17:125-131(b).
- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WY, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/*neu* oncogene. *Science* 1987;235:177-182.
- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A, Press MF. Studies of the HER-2/*neu* proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-712.
- Sobin LH, Wittekind Ch, (editors) (1997) TNM classification of malignant tumours. International Union Against Cancer. 5th edition. New York: John Wiley & Sons
- Songun I, van de Velde CJ, Blok P, Grond AJ, Offerhaus GJ, Hermans J, van Krieken JH: Classification of gastric carcinoma using the Goseki system provides prognostic information additional to TNM staging. *Cancer* 1999;85:2114-2118.
- Sousa JP, Pimenta A: Alguns aspectos epidemiológicos e clínicos do carcinoma do estômago. *Arq Port Cirurgia* 1997;6:223-230.
- Steele RJC, Thompson AM, Hall PA, Lane DP. The p53 tumour suppressor gene. *Br J Surg* 1998;85:1460-1467.
- Stell DA, Carter CR, Stewart I, Anderson JR. Prospective comparison of laparoscopy, ultrasonography and computed tomography in the staging of gastric cancer. *Br J Surg* 1996;83:1260-1262.
- Strous GJ, Dekker J. Mucin-type glycoproteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1992;27:57-92.
- Sugimachi K, Maehara Y, Ogawa M, Kakegawa T, Tomita M. Dose intensity of uracil and tegafur in postoperative chemotherapy for patients with poorly differentiated gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997;40:233-238.
- Taylor-Papadimitriou J, Peterson JA, Arklie J, Burchell J, Ceriani RL, Bodmer WF. Monoclonal antibodies to epithelium-specific components of the human milk fat globule membrane: production and reaction with cells in culture. *Int J Cancer* 1981;28:17-21.
- Taylor-Papadimitriou J, Gendler SJ. Molecular aspects of mucins. *Cancer Rev* 1998;11:11-24.
- Tervahauta A, Eskelinen M, Syrjanen S, Lipponen P, Pajarinen P, Syrjanen K. Immunohistochemical demonstration of c-erb B-2 oncoprotein expression in female breast cancer and its prognostic significance. *Anticancer Res* 1991;11:1677-1681.
- Toge T. Effectiveness of immunochemotherapy for gastric cancer: a review of the current status. *Sem Surg Oncol* 1999;17:139-143.
- Tolbert D, Fenoglio-Preiser C, Noffsinger A, De Voe G, MacDonald J, Benedetti J, Stemmermann GN. The relation of p53 gene mutations to gastric cancer subsite and phenotype. *Cancer Causes Control* 1999;10:227-31.
- Tominaga S, Kuroishi T, Aoki K (editors). Cancer mortality statistics in 33 countries: 1953-1992. UICC – International Union Against Cancer 1998.

Toribara NW, Robertson AM, Ho SB, Kuo WL, Gum E, Hicks JW, Gum JR, Byrd JC, Siddiki B. Human gastric mucin. Identification of a unique species by expression cloning. *J Biol Chem* 1993;268, 5879-5885.

Tsugawa K, Yonemura Y, Hirono Y, Fushida S, Kaji M, Miwa K, Miyazaki I, Yamamoto H. Amplification of the c-met, c-erb B-2 and epidermal growth factor gene in human gastric cancers: correlation to clinical features. *Oncology* 1998;55:475-481.

Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, Kinoshita T, Sasako M, Saito T, Kobayashi M, Hirobashi S. Overexpression of c-erb B-2 protein in gastric cancer Its correlation with long-term survival of patients. *Cancer* 1993;72:3179-3184.

Ulrich B, Aleksic M, Hennes N, Eickmann G. Definition of the position of surgery in the treatment of gastric carcinoma at a community hospital. *Dig Surg* 1997;14:371-380.

Utsunomiya T, Yonezawa S, Sakamoto H, Kitamura H, Hokita S, Aiko T, Tanaka S, Irimura T, Kim YS, Sato E. Expression of MUC1 and MUC2 mucins in gastric carcinomas: its relationship with the prognosis of the patients. *Clin Cancer Res* 1998;4:2605-2614.

Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele G Jr, Winchester D, Osteen R. Cancer of the stomach: a patient care study by the American College of Surgeons. *Ann Surg* 1993; 218:583-592.

Wang LS, Wu CW, Hsieh MJ, Fahn HJ, Huang MH, Chien KY. Lymph node metastasis in patients with adenocarcinoma of the gastric cardia. *Cancer* 1993;71:1948-1952.

Watanabe H, Jass JR, Sobin LH: Histological typing of oesophageal and gastric tumors (2nd ed.). WHO International Classification of Tumors. Berlin, Springer-Verlag, 1990

Watanabe ST, Watanabe A, Sawado H: Characteristics and clinical outcome of proximal-third gastric cancer. *J Am Coll Surg* 1998;187:352-7.

Whelen SL, Parkin DM, Masuyer E, editors. Trends in cancer incidence and mortality. IARC scientific publications 102, Lyon, France. IARC Scientific Publications 1993

Wijnhoven BPL, Siersema PD, Hop WCJ, van Dekken H, Tilanus on behalf of the Rotterdam Oesophageal Tumour Study Group: Adenocarcinomas of the distal oesophagus and gastric cardia are one clinical entity. *Br J Surg* 1999;86:529-535.

Wilke H, Stahl M, Fink U, Meyer HJ, Siewert JR. Preoperative Chemotherapy for Unresectable Gastric Cancer. *World J Surg* 1995;19:210-215.

Williams SJ, McGuckin MA, Gotley DC, Eyre HJ, Sutherland GR, Antalis TM. Two novel mucin genes down-regulated in colorectal cancer identified by differential display. *Cancer Res* 1999;59:4083-4089.

Wright CD, Mathisen DJ, Wain JC, Grillo HC, Hilgenberg AD, Moncure AC, Carey RW, Choi NC, Daly M, Logan D. Evolution of treatment strategies for adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Ann Thorac Surg* 1994;58:1574-1579.

Yokota J, Toyosima K, Sugimura T, Yamamoto T, Terada M, Battifora H, Cline MJ. Amplification of *c-erbB-2* oncogene in human adenocarcinomas *in vivo*. *Lancet* 1986;1:765-767.

Yokota J, Yamamoto T, Miyajima N, Toyoshima K, Nomura N, Sakamoto H, Yoshida T, Terada M and Sugimura T. Genetic alterations of the *c-erb B-2* oncogene occur frequently in tubular adenocarcinoma of the stomach and are often accompanied by amplification of the *v-erbA* homologue. *Oncogene* 1988;2:283-287.

Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Kimura H, Yamaguchi A, Fushida S, Kosaka T, Miwa K, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M and Sasaki T. Expression of c-erb B-2 oncoprotein in gastric carcinoma. *Cancer* 1991;67:2914-2918.

Bibliografia

Yonemura Y, Ninomiya I, Tsugawa K, Fushida S, Fujimura T, Miyazaki I, Uchibayashi T, Endou Y, Sasaki T. Prognostic significance of c-erb B-2 gene expression in the poorly differentiated type of adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Detect Prev* 1998;22:139-146.

Yonemura Y, Segawa M, Matsumoto H, Tsugawa K, Ninomiya I, Fonseca L, Fujimura T, Sugiyama K, Miwa K, Miyazaki I. Surgical results of performing R4 gastrectomy for gastric cancer located in the upper third of the stomach. *Surg Today* 1994;24:488-493.

Yoo CH, Noh SH, Kim H, Lee HY, Min JS. Prognostic significance of CD44 and nm23 expression in patients with stage II and stage IIIA gastric carcinoma. *J Surg Oncol* 1999;71: 22-28.

Younes Z, Johnson DA. Molecular and genetic advances in gastrointestinal cancer: state of the art. *Dig Dis* 1997;15:275-301.

Yu W, Choi GS, Whang I, Suh IS. Comparison of five systems for staging lymph node metastasis in gastric cancer. *Br J Surg* 1997;84:1305-1309.

Yu W, Whang I, Suh IS, Averbach A, Chang D, Sugarbaker PH. Prospective randomized trial of early postoperative intraperitoneal chemotherapy as an adjuvant to respectable gastric cancer. *Ann Surg* 1998;228:347-354.

Yu W, Whang I, Chung HY, Averbach A, Sugarbaker PH. Indications for early postoperative intraperitoneal chemotherapy of advanced gastric cancer: results of a prospective randomized trial. *World J Surg* 2001;25:985-990.