Fábio Yuji Hondo

Fatores preditivos para recidiva local e para ressecção incompleta do adenocarcinoma gástrico precoce tratado através da exérese endoscópica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Cirurgia do Aparelho Digestivo

Orientador: Prof. Dr. Fauze Maluf-Filho

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Hondo, Fábio Yuji
Fatores preditivos para recidiva local e para ressecção incompleta do adenocarcinoma gástrico precoce tratado através da exérese endoscópica / Fábio Yuji Hondo. -- São Paulo, 2007.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Gastroenterologia.
Área de concentração: Cirurgia do Aparelho Digestivo.
Orientador: Fauze Maluf Filho.

Descritores: 1.Neoplasias gástricas 2.Endoscopia gastrointestinal/métodos 3.Resultado de tratamento 4.Fatores de risco 5.Recidiva local de neoplasia 6.Imunohistoquímica

USP/FM/SBD-111/07

À minha querida Flaviana, companheira indispensável de todos os momentos, com todo amor lhe dedico este trabalho.

À minha filha, Mayumi, pelo sentido especial que traz em minha vida, com muito amor e carinho.

À minha adorada mãe, Tomika, pelo amor, dedicação, ensinamentos e força em todos os momentos.

Ao meu querido pai, Koshiti, conselheiro, professor em toda "nossa" caminhada, pela disponibilidade incondicional e cúmplice de todas as decisões.

Aos meus queridos irmãos, cunhados e sobrinhos pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao **PROF. DR. JOAQUIM GAMA-RODRIGUES**, toda minha gratidão, reconhecimento pela oportunidade e ajuda na formação universitária.

Ao **PROF. DR. FAUZE MALUF FILHO**, orientador desta tese, toda admiração pela dedicação, pelo profissional e professor, que me cativou e incentivou como exemplo na minha carreira profissional.

Ao **DR. KIYOSHI IRIYA**, seu vasto conhecimento médico é apenas superado pela imensidão de ajudar o próximo, meu eterno agradecimento pela ajuda e apoio.

Ao **PROF. DR. PAULO SAKAI**, pelos conselhos, formação profissional e acadêmica que nortearam este trabalho.

Ao **DR. SHINICHI ISHIOKA**, chefe e professor, sempre contribuindo e orientando na formação científico-profissional de minha carreira.

Ao **DR. HUMBERTO SETSUO KISHI**, amigo, médico-patologista de excelência, meu sincero agradecimento pela paciência, tempo e companherismo na realização deste trabalho.

Ao casal, **PROF. DR. ULYSSES RIBEIRO JÚNIOR** e **DRA. ADRIANA VAZ SAFATLE RIBEIRO,** pelo apoio e ajuda na realização deste trabalho, pelo tempo, paciência e diretrizes na explicação dos estudos imunohistoquímicos.

Ao **Dr. LUÍS MASUO MARUTA**, na ajuda e complementação dos dados desta tese, além do apoio de todo momento.

Ao **DR. NEWTON DJIN MORI**, primo, amigo e exemplo de profissional, responsável pela iniciação de minha formação acadêmica e o contentamento de minha curiosidade científica pela ciência médica.

Aos **DRS. FERNANDA RODRIGUES TEANI BARROSO, GUSTAVO OLIVEIRA LUZ**, **JOSÉ HUMBERTO GIORDANO NAPPI** e **THIAGO FERREIRA DE SOUZA,** mais que minha eterna gratidão pela ajuda incondicional na elaboração deste trabalho, o meu apoio e incentivo em suas carreiras.

Aos **COLEGAS**, **ESTAGIÁRIOS** e **FUNCIONÁRIOS** do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo tempo e prestatividade na realização deste trabalho.

À **CAMILA LESSIO**, enfermeira, pela ajuda constante durante todas as etapas deste trabalho e pela amizade inestimável de todo momento.

À **ADRIANA BRUSCATO**, estatística, pela paciência na realização dos estudos estatístico deste trabalho e pela disponibilidade e disposição em ajudar.

Ao **CARLOS EDUARDO LEMOS JÚNIOR**, pela paciência e ilustrações deste trabalho.

A todos os que, de alguma forma, prestaram auxílio e apoio ao longo da elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Gráficos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO 1
   1.1 Objetivos 4

2. REVISÃO DA LITERATURA 5
   2.1 Mucosectomia endoscópica 6
   2.2 Imunohistoquímica 11
   2.3 p53 12
   2.4 Ki-67 18
   2.5 Mucinas 20

3. MÉTODOS 24
   3.1 Pacientes 25
   3.2 Métodos 25
   3.3 Seguimento 32
   3.4 Análise histopatológica e perfil imunohistoquímico do adenocarcinoma gástrico 33
      3.4.1 Mucinas 34
      3.4.2 Avaliação da expressão das mucinas 37
      3.4.3 Expressão dos anticorpos monoclonais p53 e Ki-67 37
      3.4.4 Avaliação da expressão da proteína dos anticorpos monoclonais ... 39
   3.5 Analíse estatística 40

4. RESULTADOS 42

5. DISCUSSÃO 67

6. CONCLUSÕES 81

7. ANEXOS 83

8. REFERÊNCIAS 95

Apêndice

LISTA DE ABREVIATURAS

NBI	-	*Narrow Band Image*
CAPPesq	-	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
"EMR"	-	*Endoscopic Mucosal Resection*
"*IT-Knife*"	-	*Insulation Tipped Knife*
DEILO	-	"Double Endoscopic IntraLuminal Operation"
SV 40	-	antígeno T do vírus de símios
Mdm-2	-	*Muryne Double Minute-2*
DNA	-	Ácido Desoxiribonucléico
APAF-1	-	fator apoptótico ativador da protease-1
Cdk	-	quinases ciclina-dependentes
MUC	-	mucinas
AB	-	*alcian blue*
HID	-	*high iron diamine*
SM	-	submucosa
M	-	mucosa
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
"ESD"	-	*Endoscopic Submucosal Dissection*
INCA	-	Instituto Nacional do Câncer
HGM	-	human gastric mucin
OR	-	*odds ratio*
IR	-	intervalos de confiança
K	-	Kappa

LISTA DE SIGLAS

%	-	porcentagem
kD	-	quiloDalton
≤	-	menor ou igual
≥	-	maior ou igual
<	-	menor
>	-	maior
cm	-	centímetros
mm	-	milímetros
MHz	-	Megahertz
mM	-	miliMega
x	-	vezes
±	-	mais ou menos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Técnica endoscópica de mucosectomia tipo *strip-biopsy* ou levanta e corta. A. Injeção de solução salina em submucosa. B. Apreensão com alça de polipectomia. C. Variante da técnica com uso de aparelho duplo canal, com pinça de apreensão e alça de polipectomia. 6

Figura 2 – Técnica endoscópica de mucosectomia tipo *cap* ou aspira e corta. A. Uso do *cap* de ligadura elástica com alça de polipectomia. B. Adaptação da técnica com a o uso da banda elástica da ligadura e alça de polipectomia para resssecção. 7

Figura 3 – Técnica endoscópica de mucosectomia por dissecção da submucosa com uso de acessório tipo *IT-Knife*. A. Demarcação da lesão. B. Início da ressecção com utilização de estilete tipo *IT-Knife.* C. Dissecção circunferencial total. D. Ressecção em único fragmento da lesão gástrica por técnica de dissecção submucosa endoscópica. 9

Figura 4 – Tipos de acessórios utilizados para realização da técnica endoscópica por dissecção submucosa endoscópica. A. *IT-Knife.* B. *Hook Knife.* C *Flex Knife.* D. *Triangle Knife.* 9

Figura 7 – A. Endoscopia de controle com local de mucosectomia prévia sem recidiva aparente. B. Recidiva local de câncer gástrico precoce em endoscopia de controle após exérese endoscópica. 33

Figura 8 – Coloração de lâminas histológicas para os marcadores de mucinas. A. Expressão da mucina em tecido normal, coloração marrom no citoplasma das células. B. Demonstração de coloração da mucina em tecido normal (coloração marrom) e tecido com células cancerosas que não expressam o marcador de mucina (coloração roxa). C. Tecido com células cancerosas em aumento de 40x sem expressão de marcador de mucina..... 34

Figura 9 – Coloração citoplasmática de células cancerosas gástricas com expressão do marcador Muc2 em aumento de 40X. 35

Figura 10 – Coloração citoplasmática de células cancerosas gástricas com expressão do marcador Muc5a em aumento de 40X. 35

Figura 11 – Coloração em borda de escova das células cancerosas gástricas demonstrando a expressão do marcador mucínico CD-10 em aumento de 40X. 36

Figura 12 – Coloração positiva do marcador p53 em aumento de 40X..... 38

Figura 13 – Coloração positiva para o marcador Ki-67 em aumento de 40X. 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação fenotípica dos adenocarcinomas bem diferenciados a partir dos marcadores para mucina e do CD-10 37

Tabela 2 – Localização do câncer gástrico precoce 47

Tabela 3 – Comparação do achado ecoendoscópico com o nível histopatológico de invasão parietal 48

Tabela 4 – Correlação do número de fragmentos com a técnica de mucosectomia e com o tamanho da lesão ressecada 49

Tabela 5 – Correlação da localização da lesão e número de fragmentos ressecados (relação da ressecção *en bloc* : *piecemeal* e porcentagem de ressecção completa em cada localidade em parênteses) 50

Tabela 6 – Correlação da técnica de mucosectomia empregada com a localização da lesão (relação de cada técnica *cap* : *stip-biopsy* : *IT-knife* em cada localização) 50

Tabela 7 – Resultado final da ressecção realizada 51

Tabela 8 – Dados demográficos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta 52

Tabela 9 – Localização do câncer gástrico precoce ressecado e taxa de ressecção completa com a mucosectomia endoscópica (relação de ressecção completa : incompleta com a taxa percentual de ressecção completa em parênteses) 52

Tabela 10 – Dados endoscópicos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta..... 53

Tabela 11 – Dados histopatológicos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta 53

Tabela 12 – Características dos pacientes com ressecção incompleta 55

Tabela 13 – Correlação do número de fragmentos ressecados com o tamanho da lesão no grupo ressecção incompleta 56

Tabela 14 – Correlação entre número de fragmentos com a técnica endoscópica empregada e o tamanho da lesão no grupo de ressecção completa..... 57

Tabela 15 – Localização da lesão em relação ao número de fragmentos ressecados (relação de ressecção *en bloc* : *piecemeal* com a taxa percentual de ressecção *en bloc*)..... 58

Tabela 16 – Correlação da técnica endoscópica empregada e a sua localização (relação das técnicas *cap* : *strip-biopsy* : *IT-knife* em cada localização) 58

Tabela 17 – Seguimento dos pacientes com ressecção completa com e sem recidiva local 59

Tabela 18 – Dados demográficos entre os subgrupos sem e com recidiva 59

Tabela 19 – Dados endoscópicos entre os subgrupos sem e com recidiva 60

Tabela 20 – Localização do câncer gástrico precoce ressecado em sua totalidade e taxa de recidiva (relação de recidiva : sem recidiva com a taxa percentual de recidiva em cada localidade) 60

Tabela 21 – Dados histopatológicos entre os subgrupos sem e com recidiva..... 61

Tabela 22 – Relação dos parâmetros numéricos com os grupos..... 62

Tabela 23 – Dados demográficos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura..... 63

Tabela 24 – Dados endoscópicos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura..... 64

Tabela 25 – Dados histopatológicos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura..... 65

Tabela 26 – Relação dos parâmetros numéricos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura 65

Tabela 27 – Expressão de mucinas, p53 e Ki-67 em tumores intramucosos com e sem recidiva..... 66

Tabela 28 – Distribuição dos tipos fenotípicos dos adenocarcinomas bem diferenciados entres os subgrupos sem e com recidiva..... 66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição dos pacientes em relação a idade 44

Gráfico 2 – Distribuição dos pacientes segundo a raça 44

Gráfico 3 – Distribuição geral do tipo histológico..... 45

Gráfico 4 – Tamanho das lesões ressecadas 45

Gráfico 5 – Distribuição Geral quanto ao nível de invasão do tumor..... 46

Gráfico 6 – Distribuição do tipo macroscópico das lesões gástricas detectadas à endoscopia..... 46

Gráfico 7 – Distribuição da técnica endoscópica empregada para ressecção da lesão gástrica 48

Gráfico 8 – Distribuição dos números de fragmentos ressecados pela mucosectomia..... 49

Gráfico 9 – Correlação entre a localização da lesão no grupo ressecção incompleta e o número de fragmentos ressecados (○ "en bloc" e ● maior ou igual a dois fragmentos)..... 56

Gráfico 10 – Localização dos cânceres gástricos precoces ressecados com alta probabilidade cura com e sem recidiva. (A) Localização dos casos que acometem pequena ou grande curvatura nos segmentos superior, médio e inferior do estômago. (B) Localização nos segmentos superior, médio e inferior nas paredes anterior ou posterior. ● Caso sem recidiva e ○ com recidiva..... 64

RESUMO

Hondo FY. *Fatores preditivos para recidiva local e para ressecção incompleta do adenocarcinoma gástrico precoce tratado através da exérese endoscópica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 117p.

O câncer gástrico precoce é definido como adenocarcinoma que não ultrapassa a camada submucosa, independentemente o acometimento linfonodal. O diagnóstico é feito através do exame de endoscopia digestiva alta e da avaliação histopatológica. Pode ser tratado através de mucosectomia endoscópica, sendo reconhecidos vários fatores que influenciam a chance de cura após a ressecção. Quando o adenocarcinoma gástrico precoce bem diferenciado está à restrito a mucosa, com margens de ressecção livres de neoplasia, sem ulceração histológica, invasão linfática ou venosa é alta a chance de cura após a ressecção endoscópica. A freqüência de recidiva local nestes casos varia de 2,8% a 5,7%. Por outro lado, a expressão de antígenos por células tumorais detectadas através da imunohistoquímica pode indicar o comportamento biológico dos tumores. O carcinoma gástrico precoce tipo diferenciado pode apresentar propriedades fenotípicas diferentes que se correlacionam com a expressão de mucinas. Através da expressão de mucinas é possível estratificar o adenocarcinoma diferenciado em tipo intestinal, gástrico, misto ou indeterminado. O objetivo deste estudo foi avaliar os fatores preditivos para a ressecção incompleta e recidiva local do câncer gástrico precoce tratado através de mucosectomia endoscópica e com acompanhamento superior a um ano. De junho de 1994 a dezembro de 2005, avaliaram-se 46 pacientes com câncer gástrico precoce submetidos a 47 mucosectomias endoscópicas. Através da análise de dados de prontuário, identificaram-se possíveis fatores preditivos para a ressecção endoscópica incompleta e para a recidiva local. Vinte e dois pacientes com critérios para alta probabilidade de cura foram avaliados prospectivamente em relação aos fatores para recidiva e submetidos a perfil imunohistoquímico das lesões ressecadas. Houve recuperação de peças ressecadas em 18 (81,8%) casos. Neste grupo, houve recidiva local em cinco (27,7%) casos. Assim, os pacientes foram avaliados pelos dados demográficos, endoscópicos e histopatológicos. As mucosectomias endoscópicas foram consideradas como ressecção completa ou incompleta. No grupo ressecção completa, os pacientes foram divididos nos subgrupos com ou sem recidiva. Os pacientes com critérios de alta probabilidade para cura foram divididos nos grupos com ou sem recidiva e comparados pelos dados demográficos, endoscópicos, e histopatológicos e imunohistoquímico. As peças ressecadas foram avaliadas quanto à expressão dos marcadores Muc-2, Muc-5a, CD-10, p-53 e Ki-67. O tempo médio de seguimento foi de 69,4 meses ± 36,5 meses. Sobrevida em cinco anos foi de 84,78%. Observaram-se sete (15,21%) óbitos. Houve ressecção completa em 36 casos (76,6%). Foram fatores preditivos de ressecção incompleta, as localizações em parede posterior de terço superior e inferior do estômago (p= 0,035), o tipo histológico indiferenciado (p=0,021), o tamanho da lesão maior que dois centímetros (p= 0,022) e o número de fragmentos maiores ou iguais a dois fragmentos (p= 0,013). Em análise estatística multivariada, o tipo histológico indiferenciado (OR= 0,8; IC (95%)= 0,036-0.897) e números de fragmentos (OR=7,34; IC (95%) = 1.266-42.629) foram fatores preditivos independentes para ressecção incompleta. No grupo

ressecção completa, observou-se que quanto maior o tamanho da lesão, maior o número de fragmentos ressecados (p=0,018). Houve recidiva local em 9 casos (25%). Como fator preditivo para recidiva local, destaca-se a técnica tipo *cap* com 5/7 casos (71,4%) (p=0,006). Na análise dos pacientes com critérios de alta probabilidade de cura, os dados demográficos (sexo, idade e raça), endoscópicos (tipo macroscópico, localização, número de fragmentos ressecados, técnica de ressecção empregada) e histopatológico (tamanho da lesão e nível de invasão) não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos sem ou com recidiva. A análise imunohistoquímica revelou que o marcador Muc-5a esteve presente em 4/5 (80%) dos casos do grupo com recidiva (p=0,026) e quando se estratificaram os casos pela expressão de mucinas, observou-se que o tipo misto se apresentou em 4/5 (80%) casos no grupo com recidiva e o tipo intestinal em 10/13(76,9%) casos no grupo sem recidiva (p=0,004). O adenocarcinoma indiferenciado e números de fragmentos são fatores preditores para ressecção incompleta. O tamanho e a localização da lesão também foram fatores preditores de ressecção incompleta, porém, não de forma independente. A recidiva local teve como fator preditivo o tipo de técnica. O estudo imunohistoquímico se mostrou importante na presunção de recidiva local, nos casos em que os critérios para alta probabilidade de cura foram respeitados. O adenocarcinoma gástrico com expressão das mucinas para o fenótipo do tipo misto se mostrou como fator preditivo para recidiva local do câncer gástrico precoce.

Descritores: 1. Neoplasias gástricas 2. Endoscopia gastrointestinal/métodos 3. Resultado de tratamento 4.Fatores de risco 5. Recidiva local de neoplasia 6. Imunohistoquímica

SUMMARY

Hondo FY. *Predictive factors for local recurrence and incomplete resection of early gastric cancer treated by endoscopic resection* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 117p.

Endoscopic mucosal resection (EMR) has recently become an accepted treatment for early gastric cancer. The histopathologic criteria that are used to define curative endoscopic resection include: intramucosal well-differentiated adenocarcinoma, lateral and deep margins free of tumor, no histologic ulceration, and lastly, no venous or lymphatic emboli. These criteria were defined by a large series of EMR from Japanese centers. Local neoplastic recurrence has been described in up to 6% of cases even when all of the above mentioned criteria are met. On the other hand, the antigen expression of neoplastic cells is related to the biologic behavior of several tumors. The aim of this study was evaluate the factors that predict incomplete resection and local recurrence of early gastric cancer treated by EMR followed up for at least one year in a Western tertiary referral center. It was also evaluated the role of different type of mucins, p53 and ki-67 expression as predictive factors of recurrence even when the standard histopathologic criteria for cure were met. The patients were evaluated retrospectively from June 1994 to December 2005. Forty six patients (23 female and 23 male; mean age 69 ± 14.1y) with early gastric cancer were submitted to EMR. Twenty-two patients with a diagnosis of early gastric cancer were considered cured by EMR were evaluated prospectively for local reccurrence. Local recurrences occurred in five (22.7%) of them. It was possible to perform immunohistochemistry panel in 18 (81.8%) resected specimens. Demographic data (gender, age and race), endoscopic (macroscopic classification, localization, number of resected fragments and technique employed) were retrospectively collected. Histopathologic data (size of tumor, depth of invasion and adenocarcinoma classification) were prospectively assessed by one senior pathologist blinded to the previous diagnosis. Resection was considered incomplete when the lateral or deep margins of the specimen proved positive for tumor. In the complete resection group, patients were followed up, and at the end of this study were divided into two groups: patients recurrence with and without local recurrence. The patients with histopathologic criteria for cure were divided into two groups: with local recurrence and without local recurrence. These were then compared by demographic, endoscopic, histologic and immunohistochemistry profiles. Expression of Muc-2, Muc-5a, CD-10, p-53 and ki-67 were analyzed. Mucin expression allowed a re-classification of the well- differentiated gastric cancer in intestinal, gastric, mixed or null phenotypes. The mean follow up was 69.4 months ± 36.5 months. Five-year survival was 84.78%. Seven (15.21%) patients died from other diseases not related to the gastric lesion. Complete resection was possible in 36 cases (76,6%). Predictive factors for incomplete resection were localization (p= 0,035), histologic type (p=0,021), size of the lesion (p= 0,022) and number of fragments resected (p= 0,013). In the multivariate statistical analysis, the undifferentiated histologic type (OR= 0,8; IC (95%)= 0,036-0.897) and piece-meal resection (OR=7,34; IC (95%) = 1.266-42.629) were independent risk factors for incomplete resection. On the other hand, in the complete resection group, it was noted that lesions >2cm were more

frequently resected in piece-meal fashion (p=0,018). Local recurrence occured in 9 cases (group I) (25%). The cap technique was the only predictive factor for local recurrence (5/7 cases - 71,4%, p=0,006). In the group of patients with histopathologic criteria for cure, the demographic (gender, age and race), endoscopic (macroscopic classification, localization, total number of resected fragments, EMR technique) and histopathologic findings (size of the tumor and depth of invasion-m1,m2,m3), p-53 and ki-67 expressions did not correlate with neoplastic recurrence. Muc-5a marker was expressed in 80%(4/5) of the cases in group I and in 15.4% (12/13) of the cases in group II (p=0,026). The mixed phenotype (Muc-2 and Muc-5a positive) was found in 80%(4/5) of the cases of group I and the intestinal type (Muc-2 positive and Muc-5a negative) in 76.9% (10/13) of group II (p=0,004). In conclusion, the undifferentiated adenocarcinoma and piece-meal resection were independent risk factors for incomplete resection. The cap technique for EMR was related to local recurrence after complete resection. Larger lesions are usually resected in more than one fragment. The expression of Muc-5a and the mixed phenotype of well-differentiated adenocarcinoma were related to a higher probability of local recurrence after EMR of early gastric lesions considered cured by the endoscopic intervention.

Descriptors: 1.Stomach neoplasms 2.Gastrointestinal Endoscopy/methods 3.Treatment outcome 4.Risk factors 5.Local neoplasm recurrence 6.Immunohistochemistry

1. INTRODUÇÃO

O conceito e a classificação de câncer gástrico precoce foram estabelecidos pela Sociedade Japonesa de Endoscopia Gastroenterológica em 1962 (TASAKA, 1962). Trata-se do adenocarcinoma que não ultrapassa a camada submucosa, sem levar em conta o envolvimento linfonodal (ONODERA et al., 2004).

No ocidente, os casos de câncer gástrico em fase precoce são diagnosticados em cerca de 7 a 15% de todos os casos de adenocarcinoma daquele órgão (COHEN et al., 1994). Resultados semelhantes foram encontrados na Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde esta cifra atingiu 13,8%, quando analisados 104 casos durante 24 anos (GAMA-RODRIGUES et al., 1995). O prognóstico dos pacientes com câncer gástrico precoce foi melhor em comparação com aquele das lesões avançadas, em países como Japão, Inglaterra, Alemanha e Itália (FIELDING et al., 1980; SUE-LING et al., 1993; ECKARDT et al., 1999), onde o tratamento cirúrgico resultou na taxa de sobrevida de 72% em cinco anos. Por outro lado, mesmo com o avanço tecnológico nas áreas cirúrgica e oncológica, o índice de cura do câncer avançado do estômago pouco se alterou nos últimos 40 anos e o índice de sobrevida em cinco anos não ultrapassou o valor médio de 15% (MUIR et al., 1995).

O diagnóstico de câncer gástrico precoce é feito através da minuciosa observação endoscópica de alterações de relevo e cor da mucosa, seguida da avaliação histopatológica da biópsia endoscópica (YASUDA et al., 2002). O uso de corantes de

relevo durante o exame endoscópico, tal como o índigo-carmim, é útil para a detecção destas lesões. Com a melhoria dos sistemas de imagem, destacam-se a magnificação (KUDO et al., 1996), tecnologia de banda estreita (*NBI- Narrow Band Image*) (TAJIRI et al., 2002) e microendoscopia *confocal* induzida por laser (INOUE et al, 200) que também têm auxiliado na detecção do câncer gástrico precoce.

A neoplasia gástrica com profundidade de invasão restrita à camada mucosa, sem componente ulceroso ou cicatricial, demonstra, em sua maioria, ausência de envolvimento linfonodal (SANO et al., 1992), sendo possível o tratamento curativo através de ressecção local por via endoscópica, amplamente conhecida pela denominação de mucosectomia.

A taxa de recidiva local após ressecção endoscópica do adenocarcinoma gástrico varia de 2 a 35% (TANABE et al., 2002; GOTODA et al., 2006), desde que respeitados os critérios de indicação para mucosectomia: lesões do tipo superficialmente elevada (IIa) e/ou plana (IIb), de diâmetro menor que dois centímetros, com invasão estimada até a camada mucosa, sem sinais de ulceração ou depressão e exame histopatológico demonstrando adenocarcionoma bem diferenciado; lesão tipo deprimida (IIc) de diâmetro menor que um centímetro, com invasão estimada até a mucosa, sem úlcera ou cicatriz intramural ou convergência de pregas, do tipo histológico adenocarcinoma bem diferenciado (TADA et al., 1984; MITSUNAGA et al., 1992; SANO et al., 1992; TADA et al., 1993; KOJIMA et al., 1998; MALUF-FILHO et al., 1999). Desta maneira, vários são os fatores que parecem influenciar a chance de cura após mucosectomia, tais como o tamanho do tumor, o tipo histológico e número de fragmentos ressecados. Este último pode ser controlado através da aplicação da técnica de mucosectomia mais apropriada para cada tipo e localização de lesão.

Por outro lado, a expressão de antígenos por células neoplásicas detectados através da imunohistoquímica ou da análise molecular parece se relacionar com o comportamento biológico dos tumores. De fato, o carcinoma gástrico tipo diferenciado (tipo intestinal de Laurén) pode mostrar propriedades fenotípicas diferentes quando precoce e que são demonstradas pela expressão de mucinas (KOSEKI et al., 2000). Assim, tem sido sugerido que o carcinoma gástrico bem diferenciado pode ser subclassificado nos tipos gástrico, intestinal, misto ou indeterminado. Os tipos gástrico e misto parecem apresentar comportamento mais agressivo, com potencial aumentado de invasão e metástases já na fase incipiente, comportamento este similar ao carcinoma gástrico do tipo indiferenciado (CHONAN et al., 1998; MACHADO et al., 2000; SAITO et al., 2001; SHIBATA et al., 2003; SUGAI et al., 2004).

1.1 Objetivos

Avaliar os fatores preditivos para recidiva local e para ressecção incompleta do câncer gástrico precoce em pacientes submetidos a tratamento através de mucosectomia endoscópica e com acompanhamento superior a um ano após o procedimento ou até o seu óbito.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mucosectomia endoscópica

A técnica clássica de mucosectomia para ressecção de lesões sésseis do cólon descrita em 1955 por Rosemberg e modificada em 1973 por DEYHLE et al. (1973), foi adaptada para o tratamento de lesões gástricas e difundida por TADA et al. (1993). Tratou-se de técnica de ressecção mucosa endoscópica ("EMR"-*Endoscopic Mucosal Resection*), chamada *strip-biopsy* (Figura 1), primeiramente descrita em 1984 (TADA et al., 1984). Este tratamento se revelou como método terapêutico eficaz no tratamento curativo do câncer gástrico precoce. Utilizando-se desta técnica, TAKEKOSHI et al. (1994) descreveram ressecção completa em 74%, em um único fragmento em 86,3%, sem recidiva num seguimento de dez anos. KOJIMA et al. (1998) realizaram 185 mucosectomias, com ressecção completa em 78,9%, com retirada em um fragmento em 53,5%, com recidiva de 1,6%, num seguimento de cinco anos.

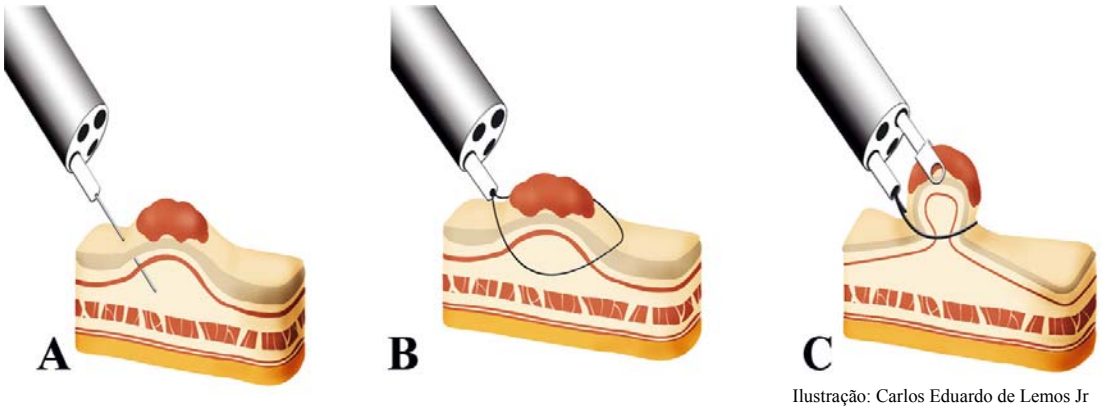


Figura 1 – Técnica endoscópica de mucosectomia tipo *strip-biopsy* ou levanta e corta. A. Injeção de solução salina em submucosa. B. Apreensão com alça de polipectomia. C. Variante da técnica com uso de aparelho duplo canal, com pinça de apreensão e alça de polipectomia.

Posteriormente, seguiram-se inovações técnicas. O método de ressecção com auxílio de *cap* foi desenvolvido em 1992 (INOUE et al., 1993). Alguns autores (AKIYAMA et al., 1997; TANABE et al., 2002) utilizaram a técnica de mucosectomia com *cap* (Figura 2A), descrevendo ressecção completa em um único fragmento em todos os casos com lesões menores que 12 mm. CHONAN et al. (1998) utilizaram a mesma técnica e obtiveram 85% de ressecção completa. MASUDA et al. (1993) adaptaram esta técnica utilizando o dispositivo de ligadura elástica de varizes esofágicas (Figura 2B), tornando a lesão um pólipo e ressecando-a acima ou abaixo da banda elástica. SAKAI et al. (1996) utilizaram-se desta técnica em seis pacientes com lesões de até 20 mm de extensão. Não houve recidiva em período de seguimento de 16 meses. Entretanto, o emprego dessas técnicas não é aconselhado para a remoção de lesões maiores do que 15 mm, uma vez que implica na ressecção do tumor em vários fragmentos (*piecemeal*), dificultando o exame histopatológico do espécime e aumentando o risco de recidiva (TANABE et al. 2002; EGUCHI et al., 2003).

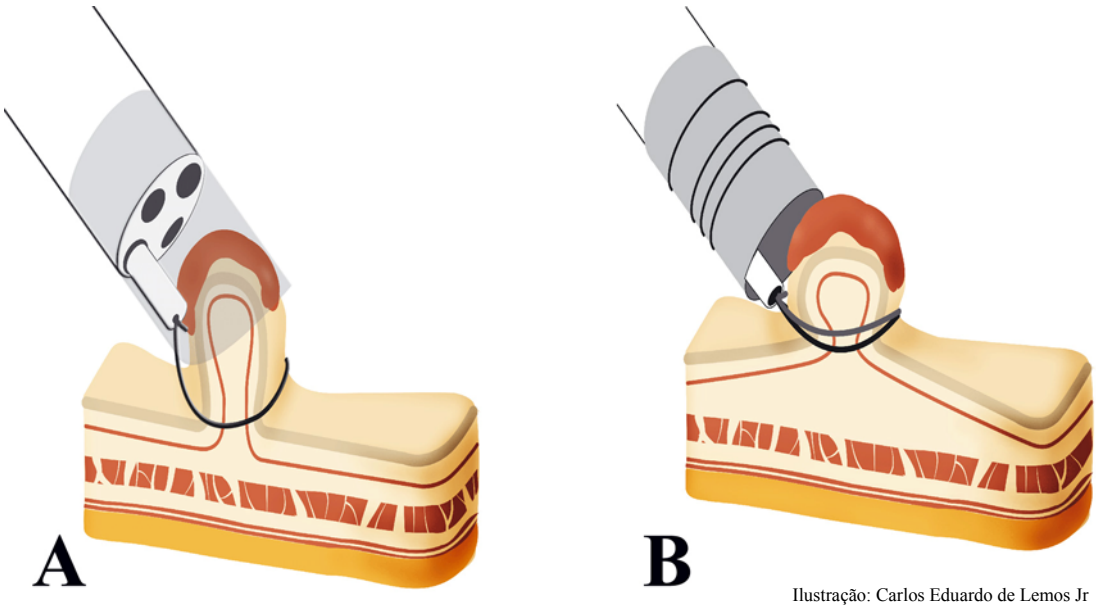


Figura 2 – Técnica endoscópica de mucosectomia tipo *cap* ou aspira e corta. A. Uso do *cap* de ligadura elástica com alça de polipectomia. B. Adaptação da técnica com a o uso da banda elástica da ligadura e alça de polipectomia para resssecção.

Assim, no intuito de ressecar as lesões em um único bloco (*en bloc resection*), foi desenvolvida técnica de dissecção endoscópica da submucosa ("ESD" – *Endoscopic Submucosal Dissection*) (ONO et al, 2001) (Figura 3). O uso de estilete com a ponta isolada ("*IT-Knife*" – *Insulation Tipped Knife*) (Figura 4A) foi a primeira de tais técnicas de ressecção submucosa (HOSOKAWA et al., 1998; GOTODA et al., 1999). Outros acessórios endoscópicos foram descritos para este fim, tais como o *hook-knife* (OYAMA et al. 2002) (Figura 4B), *flex-knife* (YAHAGI et al., 2004) (Figura 4C) e um estilete em um pequeno *cap* (YAMAMOTO et al. 2003). SASAKI et al. (2003) observaram taxa de sucesso de ressecção *en bloc* de 91,4% em 33 pacientes, enquanto com o método *strip-biopsy* foi de 47,4% em 198 pacientes (p=0,01), com tempo médio de 84,4 e 46,5 minutos, respectivamente. Ono realizou 488 mucosectomias através da técnica "IT-knife" com ressecção em um único fragmento em 471 (96%) pacientes e sem recidiva durante seguimento de dois anos (ONO et al., 2005).

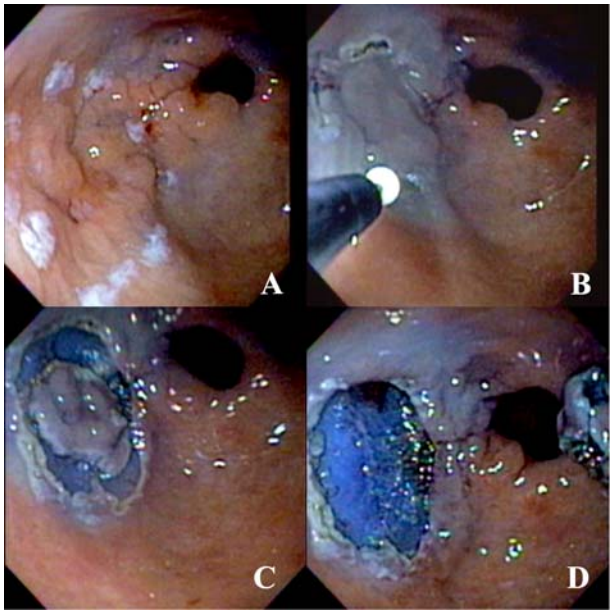


Figura 3 – Técnica endoscópica de mucosectomia por dissecção da submucosa com uso de acessório tipo *IT-Knife*. A. Demarcação da lesão. B. Início da ressecção com utilização de estilete tipo *IT-Knife.* C. Dissecção circunferencial total. D. Ressecção em único fragmento da lesão gástrica por técnica de dissecção submucosa endoscópica.

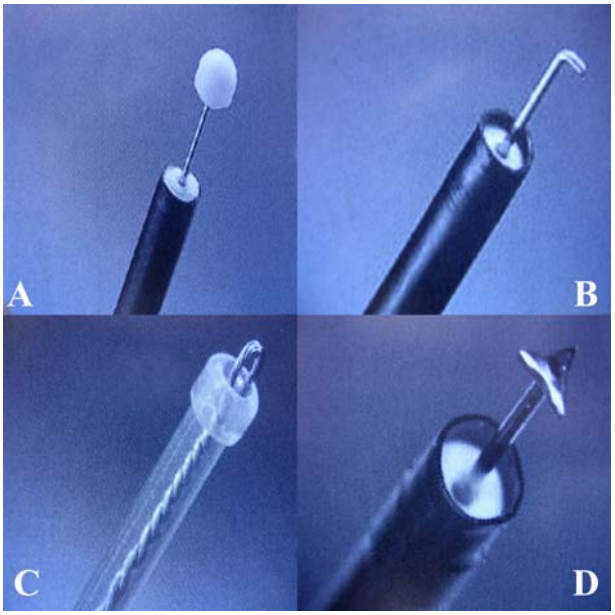


Figura 4 – Tipos de acessórios utilizados para realização da técnica endoscópica por dissecção submucosa endoscópica. A. *IT-Knife.* B. *Hook Knife.* C *Flex Knife.* D. *Triangle Knife.*

Observa-se que certas particularidades, como a localização da lesão no estômago, levam a maiores dificuldades técnicas para a ressecção *en bloc*. Lesões localizadas na pequena curvatura e parede posterior do corpo gástrico, na cárdia e grande curvatura de antro distal são de difícil ressecção devido à impossibilidade de visibilização frontal das mesmas, sendo maior o índice de margens comprometidas e ressecções incompletas (HASHIMOTO et al., 2001). Assim, desenvolveu-se endoscópio com duas curvaturas, ao invés de uma, na sua parte distal chamado de "multibending-scope", com o propósito de facilitar a visibilização das lesões com localização desfavorável (HAMANAKA et al., 2005). Deve-se lembrar que na dissecção submucosa endoscópica (*ESD*) a contra-tração é etapa importante para que a ressecção ocorra sem complicação. Então, KONDO et al. (2004) relataram tração percutânea assistida pela laparoscopia através da introdução de um trocater dentro do estômago. Por outro lado, KOBAYASHI et al. (2004) fizeram uso de clipe ancorado a lesão, tracionando-se através de uma fonte magnética posicionada fora do paciente. Ainda, KUWANO et al. (2004) utilizaram dois endoscópios para ressecção de 17 lesões gástricas, medindo entre 8 a 30 mm, em um único fragmento e com margens laterais livres, chamando esta técnica de *DEILO* ("Double Endoscopic IntraLuminal Operation"). Com isso, o progresso contínuo no campo da ressecção endoscópica nos proverá de melhores resultados e técnicas mais simplificadas.

2.2 Imunohistoquímica

Os recentes avanços ocorridos na área da biologia molecular apresentam-se hoje como importante fonte de estudos, baseados em especial na associação da análise de resultados clínicos com a observação de exames laboratoriais capazes de detectar alterações moleculares em tecidos obtidos através de procedimentos cirúrgicos. Neste sentido, destaca-se a imunohistoquímica como ferramenta de grande relevância por permitir a obtenção de informações através de procedimento de custo relativamente baixo e disponíveis na maior parte dos laboratórios de anatomia patológica.

A imunohistoquímica é definida como a localização histoquímica de substâncias imunorreativas utilizando anticorpos marcados como reagentes. Pode-se, assim, observar no corte histológico convencional a presença das proteínas presentes naquele tecido. Sendo estas proteínas os fatores determinantes do comportamento biológico tecidual, seja ele tumoral ou não, pode-se então estabelecer correlação entre a análise imunohistoquímica e as características da doença em questão.

O princípio da imunohistoquímica se baseia na capacidade de desenvolver anticorpos específicos para proteínas estranhas ao organismo, às quais irão se ligar visando sua posterior destruição, representando este a base da defesa imunológica. Em conseqüência de sua ação altamente específica para cada proteína são estes anticorpos denominados como monoclonais. A obtenção de anticorpos monoclonais contra nossas próprias proteínas é possível através da inoculação destas em cobaias como ratos ou coelhos, sendo estes anticorpos posteriormente isolados do sangue destes animais.

Durante o exame de imunohistoquímica estes anticorpos monoclonais são adicionados ao tecido contido em corte histológico fixado em lâmina, no qual irão identificar e se fixar às moléculas da proteína em questão. Para que tais complexos anticorpo-proteína sejam visibilizados são ainda adicionados corantes com a capacidade de se ligarem a estes. Como resultado, demonstra-se, à microscopia óptica a coloração de imunocomplexos, seja na membrana celular, citoplasma ou núcleo.

Em vista dos dados da literatura, dar-se-á ênfase em especial para os marcadores p53, Ki-67 e as mucinas (MUC2, MUC5A e CD-10).

2.3 p53

O gene p53 foi primeiramente identificado em 1979 como proteína que se ligava ao antígeno T do vírus de símios (SV 40) e que se acumulava no núcleo de células neoplásicas malignas. Durante boa parte da década de 80, o gene p53 foi considerado como um proto-oncogene e, a partir do início da década de 90, como supressor tumoral, comumente perdido ou mutado em cerca de 50% de todos os cânceres, quando se presenciou aumento substancial de pesquisas quanto à função do gene p53 e seu papel na tumorigênese (MISHIMA et al., 2002; HOFSETH et al., 2004).

O gene supressor p53 está localizado no cromossomo 17 (17 p) e codifica proteína de 53 kD, sendo o mais comumente envolvido em carcinogênese (FINLAY et al., 1989; HOLLSTEIN et al., 1991). Os exons 5 e 8 são os que sofrem maior número de mutações, já que compreendem regiões altamente conservadas durante a evolução dos vertebrados, indicando alto grau de importância funcional. A proteína p53,

selvagem ou normal tem efeito inibitório na proliferação e transformação celular, mantendo as células em repouso na fase G1 do ciclo celular (FINLAY et al., 1989).

A proteína p53 geralmente tem meia-vida curta, em torno de 20 minutos, em células não expostas a estresse genético, devido a sua associação com proteína codificada pelo gene Mdm-2 (*Muryne Double Minute-2),* que degrada a proteína p53 (LIU et al., 2005).

A função do gene p53 sobre a paralisação e controle do ciclo celular está associada a sua ação em determinados pontos de checagens (*checkpoints)* onde é verificada a ordem seqüencial ideal dos eventos que antecedem a fase S da replicação do DNA, especialmente nas fases G1 e, em menor proporção na fase G2, garantindo a estabilidade genética durante a divisão celular. Ainda não há um entendimento completo sobre o mecanismo pelo qual o gene p53 detecta o dano, embora existam evidências de que as quinases dos pontos de checagem (*checkpoints)* do ciclo celular quando em contato com o DNA danificado, adquirem uma forma ativada e fosforilam o gene p53 nos resíduos serina 20, resultando em disjunção do complexo p53/MDM-2 (MOLL et al., 2001; HAN et al., 2002, VOUSDEN, 2002).

Na presença da forma selvagem da p53, há paralisação do ciclo celular na fase G1, pois estudos experimentais com as quinases inativadas em camundongos *knockout* mostraram uma inabilidade da célula em exibir uma resposta do gene p53 ocasionando uma interrupção no ciclo celular (geralmente na transição entre as fases G 1 e S), induzindo ao reparo do material genético e, uma vez finalizado este reparo, a célula volta ao seu ciclo normal (BOUCK, 1996; GROSCH et al., 2005).

A ativação do gene p53 resulta em uma transcrição aumentada de diversos genes envolvidos no reparo do DNA, paralisação do ciclo celular na fase G1 e

apoptose. Os eventos que abrangem os dois últimos eventos são os melhor compreendidos (ROSE et al., 2000).

Embora os mecanismos bioquímicos que regem as respostas apoptóticas dependentes do gene p53 permaneçam parcialmente caracterizados, sabe-se que a proteína p53 está envolvida tanto na via apoptótica intrínseca, agindo através da despolarização mitocondrial e sensibilizando as células indutores de apoptose. Por exemplo, a proteína p53 aumenta a expressão de receptores para morte celular, e estimula a infra-estrutura apoptótica através da elevação do fator apoptótico ativador da protease-1 (APAF-1), um componente crucial do apoptossomo (VOUSDEN et al., 2002; HOFSETH et al., 2004).

Mutações no gene p53 são encontradas em mais de 70% dos tumores malignos, exibindo quantidade ampla de alvos para mutagênese, já que existem mutações registradas em 222 dos seus 393 códons (BOUCK, 1996; PFEIFER et al., 1997). É também relatado que, virtualmente, todos os tipos de tumores malignos apresentam defeitos em genes *upstream* ou *downstream* às funções do p53 (MOLL et al., 2001).

As alterações na proteína p53, decorrentes de mutações "*missense*" ou, menos freqüentemente, da perda da proteína p53 devido a mutações "*nonsense*" ou mutações no quadro de leitura aberta, proporcionam vantagem seletiva para a expansão clonal de células neoplásicas e pré-neoplásicas (HOFSETH et al., 2004).

As mutações no gene p53 em cânceres humanos são geralmente "*missense*", ou seja, por substituição de aminoácidos e afetam o domínio central de ligação a seqüências específicas de DNA, comprometendo sua atividade transcricional e afetando, por exemplo, a ativação de genes relacionados à

apoptose. Mutações de ponto ou deleções no gene p53 são observadas em cerca de 50% das doenças malignas, embora a freqüência de tais danos dependa do tipo de tumor (ROSE et al., 2000; SWAMY et al., 2003; HOFSETH et al., 2004; CRESSEY et al., 2005).

A proteína resultante da expressão de um gene p53 mutante com freqüência é metabolicamente estável e exibe meia-vida prolongada. A proteína expressa pelo gene p53 selvagem possue uma meia-vida curta. A proteína expressa pelo gene p53 selvagem possue uma meia-vida que varia entre 6 a 60 minutos, fazendo com que não seja freqüente o acúmulo desta proteína a um nível suficiente para detecção pela técnica imunohistoquímica ou pelo *Western Blot*, contrariamente ao gene mutado. Desta maneira, o aumento dos níveis de proteína p53 usualmente são interpretados como um indicador de mutação, embora ainda existam divergências sobre este ponto (ROSE et al., 2000; CRESSEY et al., 2005).

Função importante da proteína p53 é regular a proliferação celular após o dano ao DNA (KASTAN et al., 1991). Após a lesão do DNA, ocorre indução da expressão do gene p53 (FRISTSCHE et al., 1993), acarretando em repouso no ciclo celular na fase G 1 (DULIC et al., 1994) ou em alguns casos, em apoptose, também denominada de morte celular programada (CLARKE et al., 1993; OREN, 1994). A conseqüente reparação do mesmo reduz a probabilidade destas células adquirirem mutações, sendo por isto, denominado “guardião do genoma” .

Outra via de ação do gene p53 consiste em sua atividade regulatória entre os produtos dos genes Bcl-2 e Bax, que constituem, respectivamente, genes anti-apoptóticos e pró-apoptóticos. As proteínas codificadas por estes genes se localizam na superfície da membrana mitocondrial, e o balanço entre elas regula a

liberação do citocromo C mitocondrial e cálcio, poderoso desencadeador do processo de apoptose.

O gene p53 participa da ativação de três outros genes, o p21, Gadd45 e ciclina G que codificam proteínas implicadas no controle do crescimento celular. O p21 codifica uma proteína inibidora das quinases ciclina-dependentes (Cdk), podendo regular a transição de G 1 para a fase S, bloqueando a atividade da quinase do complexo ciclina/Cdk (ELLEDGE et al., 1994). O p21 também se liga ao PCNA, componente normal do complexo Cdk e subunidade reguladora do DNA polimerase-delta. Desta maneira, o p21 pode bloquear a replicação de DNA e participar do reparo do mesmo. Gadd45 corresponde a gene induzido pelo repouso do crescimento celular e pelo dano ao DNA. A proteína Gadd45 também se liga ao PCNA, estimula o reparo do DNA. Ciclina G também parece ser induzida pelo dano do DNA de maneira p53-dependente, podendo influenciar na progressão do ciclo celular através da modulação da atividade das quinases ciclina-dependentes (ELLEDGE et al., 1994; RULEY 1996).

O câncer representa processo contínuo que, dependendo da somatória de alterações gênicas, se caracteriza de maneira clínica. As mutações do p53 aparecem em etapas específicas durante a transformação maligna (VOGELSTEIN et al., 1988; VOGELSTEIN, 1990; RULEY, 1996). Mutações do gene p 53, geralmente coincidem com o aparecimento de carcinoma *in situ* a partir de lesões pré-malignas do cólon, da mama e da bexiga. Em alguns casos, a perda do p53 coincide com emergência de tumores biologicamente agressivos e perda da diferenciação celular, como tumor anaplásico de Wilms, tumor de tireóide, glioma maligno ou anaplásico, melanoma metastático e câncer de próstata (RULEY, 1996).

Nos tumores gástricos, perda de alelo e mutação do p53 ocorre em mais de 60% dos casos (JOYPAUL et al., 1993; SHIAO et al., 1994). Além disto, a proteína é detectada em 30% dos adenomas e em 10% a 40% das metaplasias intestinais (YOKOZAKI et al., 1992; JOYPAUL et al., 1993; SHIAO et al., 1994).

Avaliação da detecção imunohistoquímica do gene p53 como marcador prognóstico tem resultados conflitantes (SCHNEIDER et al., 1994; DANESI et al., 2000; LIU et al., 2001; RIBEIRO et al., 2006). Alguns estudos (SETALA et al., 1998; SHIAO et al., 2001) sugerem que tumores com níveis intermediários de expressão do gene p53 apresentam os menores riscos de metástases, enquanto tumores com reação fortemente positiva ou negativa parecem metastatizar. Um fator que a maioria dos estudos parece concordar é que a mutação do gene p53 são mais comuns quando oriundos do cárdia do que do antro (GLEESON et al., 1998; FLEJOU et al., 1999; RUGGE et al., 2000).

Há poucos estudos que correlacionam os estágios precoce e avançado do câncer gástrico, comparando com um grupo controle em relação ao polimorfismo do gene p53. Um deste estudo (YI et al., 2006) mostrou que o polimorfimo do gene p53 associou-se com maior susceptibilidade no câncer gástrico quando no estágio avançado. Assim, SHUN et al. (1997) mostraram maior relação do gene p53 com tumores avançados e quando em cárdia do tipo diferenciado. Por outro lado, STARZYNSKA et al. (1996) e TANG et al. (1997) demonstraram maior positividade da gene p53 em tumores indiferenciados do que diferenciados, sem relação com a profundidade de invasão da lesão.

2.4 Ki-67

O Ki-67 foi descrito em 1983 por GERDES et al. (1984). O Ki-67 é anticorpo monoclonal que identifica o antígeno nuclear associado com o ciclo celular (BROWN et al., 1990). Detalhadas análises mostram que o antígeno Ki-67 é expressa em G1, S, G2 e na fase M do contínuo ciclo celular, porém ausente no Go. Assim o Ki-67 prevê e mensura o imunoestadiamento da fração proliferativa dos tumores (GERDES et al., 1984; BARNARD et al., 1987).

Desta maneira, com a ajuda do anticorpo monoclonal Ki-67, é possível a rápida e simples determinação da fração de crescimento celular.

É de particular interesse a análise da taxa de proliferação dos tumores malignos. A exata determinação da proporção da proliferação celular em neoplasias tem valor prognóstico importante para a escolha de terapia apropriada (HALL et al., 1990).

O epítope reconhecido pelo Ki-67 não sobrevive à fixação com formalina e embebição em parafina. Assim, se faz necessário tecido fresco, e com a crio-secção o obstáculo é maior para o uso rotineiro do Ki-67 (BARNARD et al, 1987).

CATTORETTI et al. (1992), usando partes recombinantes do Ki-67, descobriram anticorpo monoclonal (MIB-1 e MIB-3) a partir do antígeno Ki-67. Adicionalmente, pela descoberta deste antígeno, as técnicas de secção de tecidos com calefação imersos em soluções de citrato com fornos de microondas foram reutilizadas. Estes novos anticorpos podem ser corados através da imunohistoquímica em secções de tecidos formalizados embebidos em parafina.

Em revisão de SCHIPPER et al. (1998), foram avaliados vários métodos para determinação de proliferação celular. Cada uma das técnicas descritas tem

limitações. Idealmente cada método deve ser simples, econômico e reprodutível. Para ser difundido seu uso é necessário que seja aplicável aos processos de preparação histológica e citológica convencionais. Uma vantagem importante do uso do MIB-1 para a determinação da proliferação celular é que este método e muito simples e pode ser aplicado de rotina em qualquer laboratório de histopatologia. Entretanto, o prognóstico deste fator em câncer gástrico ainda não está claro.

Embora a natureza do antígeno Ki-67 não seja conhecida, muitos estudos demonstram que a fração de crescimento do Ki-67 é valioso parâmetro para caracterização dos tumores malignos (LELLE et al., 1990; ENDOH et al., 1999; SHIBATA et al., 2003). A proliferação celular pode ser reforço ao subestadiamento da classificação histológica do tumor. Grande variedade de neoplasias malignas tem uma significante correlação entre atividade proliferativa, metástases potenciais, recorrências e prognóstico. Nos últimos anos, vários estudos têm pesquisado o prognóstico da atividade da proliferação celular no câncer gástrico.

YOUNG et al. (1987) concluíram que o crescimento e a progressão do câncer depende da alta taxa de progressão celular e baixa taxa de apoptoses. O Ki-67 é um marcador de proliferação celular, que com freqüência está correlacionado com prognóstico do câncer gástrico.

Até agora, pouca atenção tem sido relacionada entre a proliferação celular e a resposta ao tratamento. As hipóteses da avaliação de proliferação celular durante e depois do tratamento pode ser clinicamente bem sucedido especialmente nos pacientes tratados com drogas citostáticas. Outros estudos devem ser realizados para pesquisar o valor do mesmo.

2.5 Mucinas

Nos últimos anos, houve significativo aumento e interesse no estudo da estrutura protéica, permitindo a análise de detalhes subestruturais das mucinas, fornecendo parâmetros para determinação de seu papel em situações normais e na doença. Objetivam determinar se desempenham funções apenas na proteção e lubrificação intestinal ou apresentam funções na adesão celular e tumoral e relação com resposta imunológica (GENDLER et al., 1995).

A utilização da imunohistoquímica identificando o tipo de mucina presente em determinado tecido e em alterações patológicas do mesmo, vem sendo largamente utilizada para orientar e conduzir o tratamento dos pacientes (GLICKMAN et al., 2003).

A fisiopatogenia do câncer gástrico é multifatorial, envolvendo aspectos ambientais e fatores genéticos do paciente, ambos desempenhando significativo papel. É aceita a relação da infecção pelo *Helicobacter pylori* e o desenvolvimento de adenocarcinoma, passando pelos estágios de gastrite, gastrite atrófica e metaplasia intestinal. Há dados recentes que sugerem que o câncer e a metaplasia intestinal surgem de diferentes linhagens celulares e desta forma a metaplasia não seria um precursor do câncer, mas sim marcador da possibilidade de sua ocorrência (SHIOTANI et al., 2006).

A produção de mucinas ocorre no epitélio colunar e nas células caliciformes. O epitélio cilíndrico produz mucinas neutras, semelhantes àquelas produzidas no estômago, podendo haver a produção de mucinas ácidas típicas do epitélio intestinal (FLEJOU, 2005).

Três tipos principais de corantes são utilizados para distinguir o tipo de mucina produzida em determinado tecido, sendo eles, o azul alciano (AB), *high iron-diamine* (HID), e o reagente periódico de Schiff. Estes corantes são específicos para carboidratos e seus derivados, mas não possuem a propriedade de revelar identidade molecular das mucinas expressadas (REID et al., 1998; FLEJOU, 2005).

As mucinas Muc2, Muc5a, Muc5b e Muc6 são produzidas em grandes quantidades pelo epitélio do trato gastrointestinal sendo responsáveis pela formação do gel de muco. A identificação destas mucinas baseia-se em reação de anticorpo específico, policlonal com a mucina produzida em cada epitélio.

A metaplasia intestinal se caracteriza pela expressão AB (células caliciformes) na superfície mucosa e freqüentemente associada com as glândulas mais profundas do epitélio (VAN DE BOVENKAMP et al., 2003; GLICKMAN et al., 2003).

A Muc2 se associa especificamente às células caliciformes na metaplasia intestinal e se apresenta na superfície mucosa. Consiste na mucina típica do epitélio intestinal com células caliciformes. Contudo, sua expressão em tecido sem processo inflamatório é baixa quando comparada a tecidos que apresentam graus de displasia. A presença da Muc2 está associada com risco aumentado de desenvolvimento de adenocarcinoma (REID et al., 1998; GLICKMAN et al., 2003).

EGASHIRA et al. (1999), estudando 56 adenocarcinomas bem diferenciados e intramucosos, com diâmetro máximo inferior a 5mm, observaram que, em 41,1% dos casos, a expressão imunohistoquímica foi do padrão gástrico, e estabeleceram relação entre o tamanho da lesão e o número de casos de expressão do tipo intestinal (28,6%). Os demais casos apresentavam o padrão gástrico e intestinal (28,6%).

Sugere-se, portanto, que os casos de adenocarcinoma diferenciados surjam inicialmente das glândulas gástricas sem metaplasia.

Metaplasia intestinal gástrica é classificada como completa (tipo I), semelhante ao intestino delgado e incompleta ou colônica (tipo II e III). O tipo I é o mais comum com presença de células de Paneth e células caliciformes produtoras de sialomucinas. O subtipo II e III secretam sialomucinas e/ou sulfomucinas. Embora diversos estudos tenham sugerido que paciente com metaplasia tipo III têm risco aumentado para adenocarcinoma, permanece incerta a influência dos subtipos I e II.

As mucinas são glicoproteínas que formam o principal componete do gel de muco, protetor da camada mucosa. Foram identificados 14 tipos de mucinas. Na mucosa gástrica normal há expressão da Muc1, Muc5a e Muc6, e não há expressão da Muc2. Alterações na expressão de mucinas podem ser identificadas em pacientes com metaplasia intestinal e câncer. Em estudos retrospectivos, a metaplasia intestinal tipo III foi encontrada em 75-90% dos casos do adenocarcinoma tipo intestinal, submetidos à ressecção cirúrgica. A presença de metaplasia intestinal tipo III também está associada ao desenvolvimento de neoplasia gástrica precoce, mas não com o subtipo difuso.

A perda da expressão da Muc5A e aumento da heterogenicidade das mucinas são verificados na presença de câncer gástrico. A subexpressão da Muc1, Muc5a e Muc6 e a primo expressão da Muc2 estão associadas à metaplasia intestinal. Desta forma, agrupa-se a metaplasia intestinal em dois grupos: gástrico e intestinal. A Muc5a, Muc6 e galactose são marcadores do fenótipo gástrico e a Muc2 e CD-10 do subtipo intestinal (REIS et al., 1999; WADA et al., 2005).

Utilizando-se a expressão de mucinas para melhor entendimento do comportamento biológico tumoral do câncer gástrico se estabeleceu subclassificação do câncer do tipo diferenciado em fenótipos (TYTGAT et al., 1994; SATO et al., 1996; AJIOKA et al., 1997; ENDOHa et al., 1999; YAO et al., 1999; KABASHIMA et al., 2000). Assim, o câncer do tipo intestinal expressa os fenótipos mucínicos do tipo gástrico, intestinal, gastrointestinal (misto) ou indeterminado (GOTODA et al., 2000; SHIBATA et al., 2003).

Com os resultados conseguidos pelos estudos imunohistoquímicos sobre o câncer gástrico diferenciado, obteve-se melhor entendimento da carcinogênese dos tumores gástricos, notando-se que o adenocarcinoma diferenciado com fenótipo gástrico apresentou resultados semelhantes ao indiferenciado quanto a prognóstico e comportamento biológico do tumor (KOSEKI et al. 2000; TAJIMA et al., 2001; SHIBATA et al., 2003).

3. MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 11 de abril de 2005 e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) em 13 de julho de 2005.

3.1 Pacientes

De junho de 1994 a dezembro de 2005, coletaram-se dados dos prontuários de 53 pacientes com diagnóstico de câncer gástrico precoce, submetidos a tratamento endoscópico por mucosectomia.

O critério de inclusão foi o diagnóstico de câncer gástrico precoce tratado através de mucosectomia endoscópica e com acompanhamento superior a um ano.

Foram excluídos sete pacientes devido à perda de seguimento após o tratamento endoscópico.

3.2 Métodos

Os pacientes selecionados foram avaliados através dos prontuários e entrevista com os mesmos ou familiares. Os seguintes dados demográficos, endoscópicos e histopatológicos foram extraídos dos prontuários:

- Sexo
- Idade
- Raça
- Tipo histológico
- Tamanho da lesão
- Nível de invasão
- Tipo macroscópico
- Localização da lesão
- Avaliação ecoendoscópica
- Técnica endoscópica empregada para a ressecção
- Número de fragmentos ressecados durante a mucosectomia

- Sexo

Os pacientes foram alocados segundo o sexo masculino ou feminino.

- Idade

Os pacientes foram divididos em grupos com idade menor que 60 anos e maior ou igual a 60 anos no momento da ressecção endoscópica.

- Raça

Os pacientes foram divididos para diferenciação biológica através do tipo de cor de pele segundo as raças brancos, negros e amarelos.

- Tipo histológico

Todas as peças ressecadas por mucosectomia endoscópica e das biópsias obtidas em exames endoscópicos de controle foram reavaliadas prospectivamente por dois médicos patologistas, sem conhecimento prévio dos dados histopatológicos e de evolução constantes no prontuário.

A classificação anatomopatológica utilizada foi aquela definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1990 (JASS et al., 1990):

- Carcinoma tubular ou túbulo-papilífero (tipo bem diferenciado de Nakamura ou tipo intestinal de Laurén ou tipo expansivo de Ming)
- Carcinoma microtubular ou anel de sinete (tipo indiferenciado de Nakamura ou tipo difuso de Laurén ou tipo infiltrativo de Ming)

- Tamanho da lesão

As lesões foram classificadas pelo seu tamanho e agrupadas em até 2 cm e maior do que 2 cm.

Para definir o tamanho da lesão, utilizou-se a medida feita pelo exame macroscópico da peça ressecada definida pelo patologista, para os casos de um único fragmento. Nos casos com dois ou mais fragmentos também se utilizaram a medida dos fragmentos feita pelo patologista. Na impossibilidade de reconstituir a lesão, utilizou-se a medida empregada pelo endoscopista.

- Tipo macroscópico

O tipo macroscópico utilizado foi a classificação japonesa estabelecida pela Sociedade Japonesa de Pesquisa do Câncer Gástrico (NISHI et al., 1995) (Apêndice 1). Esta classificação inclui lesões que apresentam alterações discretas no relevo da mucosa, que podem ser avaliadas em exame endoscópico.

- Localização da lesão

De acordo com a Associação Japonesa de Câncer Gástrico (1998), a localização das lesões foi classificada em estômago superior, médio e inferior, e, circunferencialmente, em grande curvatura, pequena curvatura, parede anterior e parede posterior.

- Avaliação ecoendoscópica

Foram extraídos dos prontuários os resultados dos exames ecoendoscópicos realizados para estádio das lesões. Comparou-se o nível de profundidade da neoplasia determinado pelo exame ecoendoscópico com o estudo anátomopatológico da peça ressecada endoscopicamente.

Os exames foram realizados conforme solicitação do médico assistente responsável pelo caso. Utilizaram-se o ecoendoscópico radial marca Olympus, modelo GFUM-20 e sondas miniaturizadas marca Olympus, modelos UM-2R e UM-3R, de 12 a 20 MHz, respectivamente. Os exames foram realizados sob sedação endovenosa e anestesia tópica de orofaringe. Procurou-se criar janela acústica colocando água da cavidade gástrica ou preenchendo-se o balão na ponta do ecoendoscópico com água. A sonda ecográfica foi mantida a cerca de 3 mm da lesão, tentando-se fazer com que a incidência do feixe sonoro sobre a mesma fosse perpendicular. Com isto, identificou-se a terceira camada hiperecóica que corresponde à submucosa, permitindo assim avaliar a relação do tumor com a mesma. Quando se notou afilamento, rotura ou irregularidade desta camada, ficou registrada a invasão da submucosa. Caso contrário, a lesão foi considerada intramucosa.

- Técnicas endoscópicas empregadas para a ressecção

Foram extraídas dos prontuários as informações referentes à técnica empregada para ressecção endoscópica.

Foram utilizados os aparelhos endoscópicos padrão e duplo canal para realização da ressecção do câncer gástrico precoce. A escolha do aparelho dependeu da técnica de mucosectomia empregada, incluindo-se:

- *Strip-Biopsy* ou *lift-and-cut* ou levanta e corta (Figura 1): usado corante (índigo-carmim) para evidenciar as margens laterais da lesão, que foram demarcadas com o cautério elétrico monopolar, com margem recomendada de pelo menos 5 mm; com cateter injetor, solução salina foi injetada em camada submucosa, em volume suficiente para elevar a lesão, formando um "coxim" e descartando um envolvimento mais profundo da lesão; com o uso do aparelho de duplo canal, foi passada alça de polipectomia em um canal e no outro, uma pinça de apreensão; esta fez a suspensão da lesão e com a alça laçou-se a mesma, e, usando-se o eletrocautério com corrente mista, fez-se a resseção.
- *Suck-and-cut* ou aspira e corta ou *cap* (Figura 2): descrita por INOUE et al. (1993) e modificado por TORII et al., 1995, a lesão foi localizada com auxílio de corante e com eletrocautério se fez a marcação das margens laterais; com aparelho tipo padrão, injetou-se solução salina na camada submucosa; adaptou-se o cilindro (*cap*) na extremidade distal do aparelho; introduziu-se a alça de polipectomia e encaixou-se em anteparo interno do cilindro; aspirou-se a lesão para dentro do cilindro;

apreendeu-se a alça de polipectomia para laçar a lesão e ressecou-se a mesma com corrente tipo mista; utilizou-se o próprio *cap* para o resgate da lesão.

- Técnica de "ESD" – *Endoscopic Submucosal Dissection* – utilizando "IT-knife" (Insulation Tipped-knife) (Figura 3): descrita por HOSOKAWA & YOSHIDA (1998). O uso de corante auxilia na localização e demarcação da lesão a ser ressecada; injeção de solução salina também se faz necessária, dissecção da lesão com o estilete de ponta de cerâmica, que a isola térmica e eletricamente, oferecendo a vantagem de se ressecar lesões maiores de dois centímetros em uma única peça.

Independente da técnica aplicada, o fragmento ressecado foi esticado sobre superfície de cortiça com auxílio de alfinetes.

- Número de fragmentos ressecados durante a mucosectomia

As lesões foram agrupadas em ressecção em fragmento único (*en bloc resection*) (Figura 5) e dois ou mais fragmentos (*piecemeal resection*) (Figura 6).

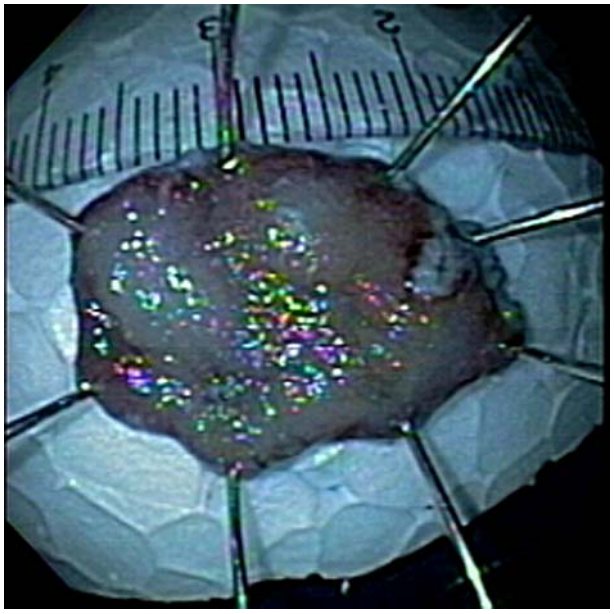


Figura 5 – Ressecção endoscópica em fragmento único.

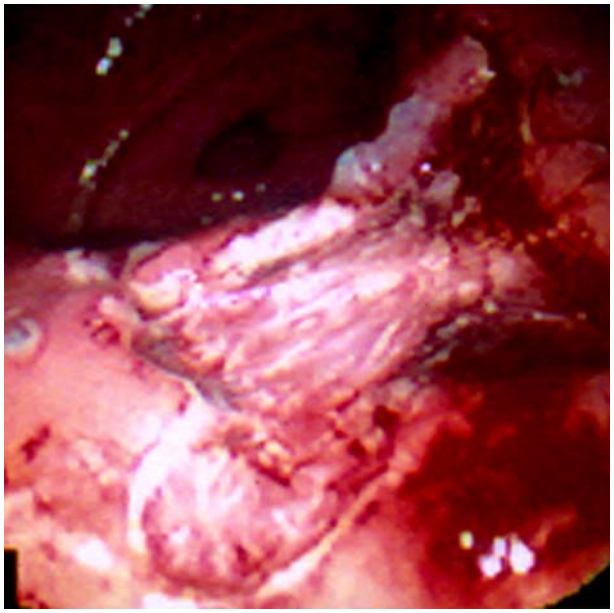


Figura 6 – Ressecção endoscópica em *piecemeal*.

3.3 Seguimento

Considerou-se ressecção completa quando as margens laterais ou profundas estivessem endoscópica e histopatologicamente livres de neoplasia. Caso contrário, considaram-se ressecções incompletas.

Os pacientes submetidos a ressecções incompletas foram encaminhados para tratamento cirúrgico ou à terapêutica endoscópica complementar na dependência das condições clínicas, tipo histológico do câncer e opção do paciente.

Os espécimes ressecados na primeira intervenção foram considerados como alta probabilidade de cura quando confirmados os seguintes critérios (JAPANESE GASTRIC CANCER ASSOCIATION, 1998):

1. Câncer intramucoso;
2. Adenocarcinoma bem ou moderadamente diferenciado;
3. Sem ulcerações histológicas;
4. Sem invasão linfática ou venosa;
5. Margens laterais sem invasão tumoral.

Os pacientes considerados como ressecções completas foram submetidos a seguimento endoscópico com biópsias da cicatriz, trimestralmente no primeiro ano, semestralmente no segundo ano e anualmente a partir de então.

Na eventualidade de apresentarem, exame endoscópico de controle, a recidiva local do câncer, os pacientes foram incluídos no grupo recidiva (Figura 7).

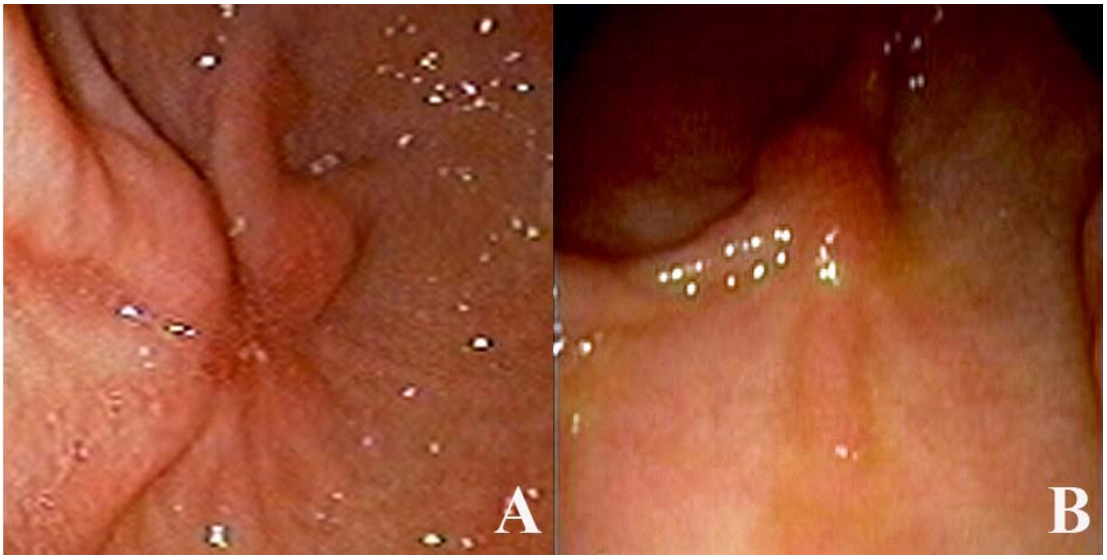


Figura 7 – A. Endoscopia de controle com local de mucosectomia prévia sem recidiva aparente. B. Recidiva local de câncer gástrico precoce em endoscopia de controle após exérese endoscópica.

3.4 Análise histopatológica e perfil imunohistoquímico do adenocarcinoma gástrico

A análise histopatológica de todas as peças de ressecção endoscópica ou cirúrgica foram **prospectivamente** revistas por dois patologistas.

Os espécimes ressecados que apresentaram os critérios para alta probabilidade de cura foram submetidos à avaliação de perfil imunohistoquímico **prospectivamente**.

O perfil imunohistoquímico empregado foi composto pela expressão das mucinas (Figura 8) Muc5A, Muc2 e CD-10 e dos marcadores p53 e Ki-67.

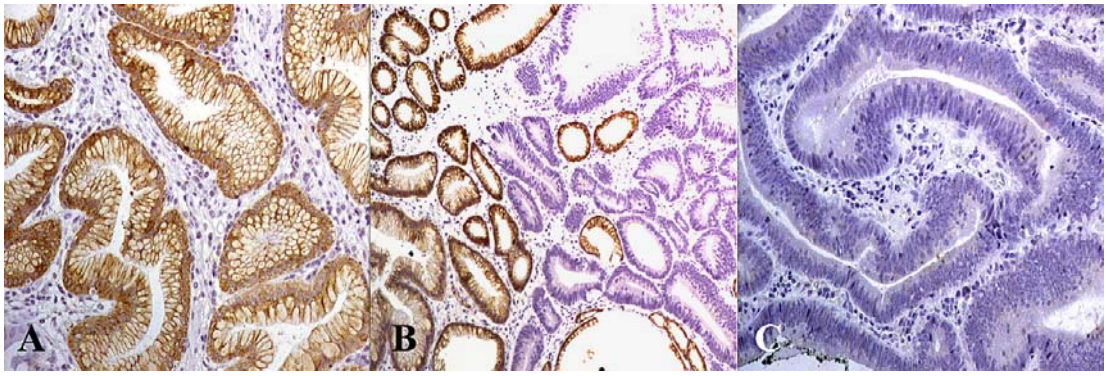


Figura 8 – Coloração de lâminas histológicas para os marcadores de mucinas. A. Expressão da mucina em tecido normal, coloração marrom no citoplasma das células. B. Demonstração de coloração da mucina em tecido normal (coloração marrom) e tecido com células cancerosas que não expressam o marcador de mucina (coloração roxa). C. Tecido com células cancerosas em aumento de 40x sem expressão de marcador de mucina.

3.4.1 Mucinas

Utilizou-se o método Streptvidina – Biotina-Peroxidase (DAKO) em cortes de 4µm de espécimes emblocados em parafina para o estudo imunohistoquímico de Muc-2 (Ccp58, Novocastra Laboratories, Título 1:100, Newcastle, Reino Unido), Muc-5A (CLH2, Novocastra Laboratories, Título 1:200) e CD-10 (56C6, Novocastra Laboratories, Título 1:500).

Para recuperação antigênica, utilizou-se aquecimento em panela de pressão por 2 minutos tamponado com ácido cítrico 10mM pH 6,0.

Procurou-se a coloração para Muc-2 (Figura 9) e Muc-5a (Figura 10)no citoplasma das células neoplásicas.

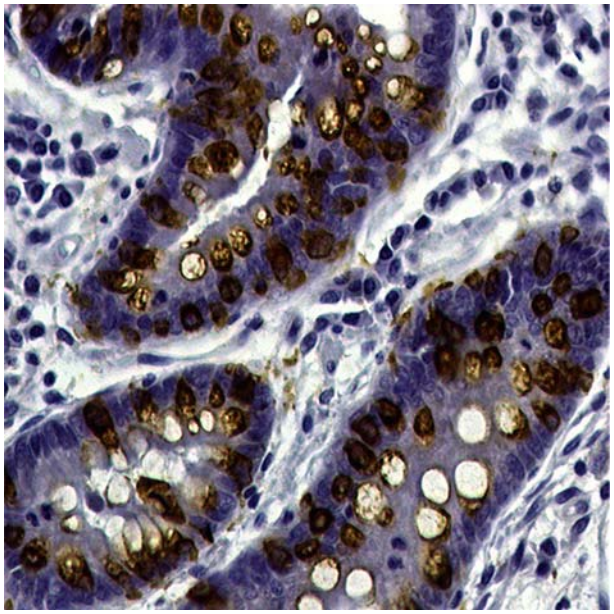


Figura 9 – Coloração citoplasmática de células cancerosas gástricas com expressão do marcador Muc2 em aumento de 40X.

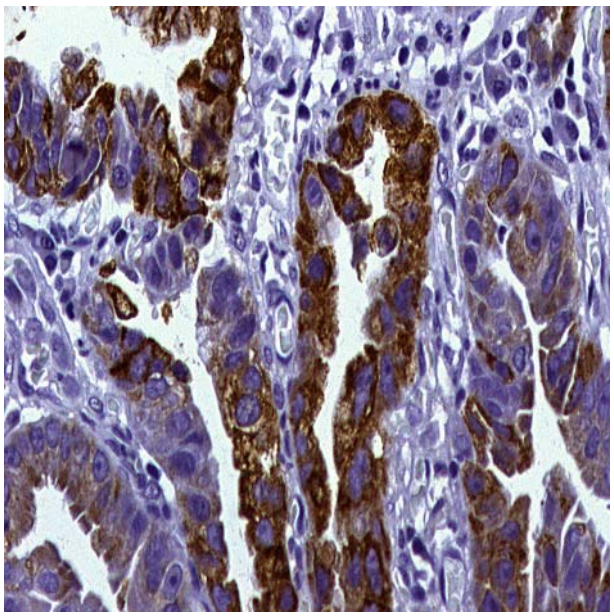


Figura 10 – Coloração citoplasmática de células cancerosas gástricas com expressão do marcador Muc5a em aumento de 40X.

O marcador CD-10 (Figura 11) foi considerado positivo quando se observou coloração com padrão de borda em escova na superfície luminal.

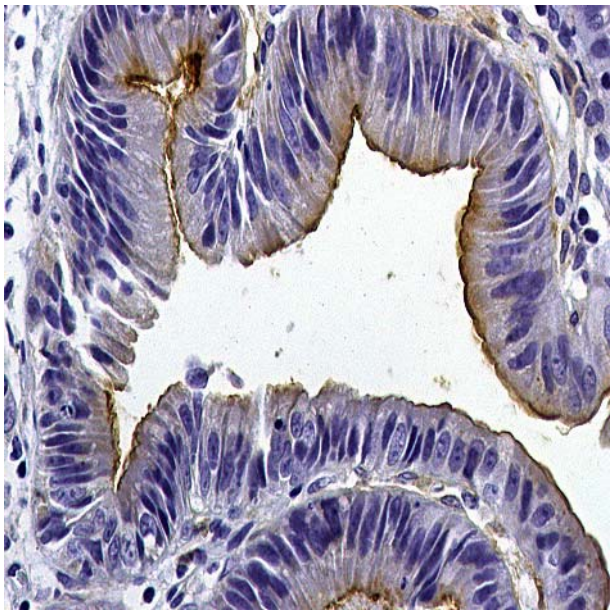


Figura 11 – Coloração em borda de escova das células cancerosas gástricas demonstrando a expressão do marcador mucínico CD-10 em aumento de 40X.

Expressão celular para mucina foi considerada positiva quando, no mínimo, 5% das células neoplásicas expressaram o marcador por campo de maior aumento (40X).

3.4.2 Avaliação da expressão das mucinas

Com base nestes marcadores, as neoplasias foram classificadas em padrões gástrico, intestinal, misto e indeterminado (Tabela 1).

Tabela 1 – Classificação fenotípica dos adenocarcinomas bem diferenciados a partir dos marcadores para mucina e do CD-10

Fenótipo	Muc2	Muc5A	CD-10
Gástrico	-	+	-
Intestinal*	+	-	+
Misto**	+	+	+
Indeterminado	-	-	-

* O fenótipo intestinal apresenta o marcador Muc2 positivo ou CD-10 positivo, não sendo necessária a expressão de ambos.
** O fenótipo misto apresenta positividade de Muc2 e/ou positividade de CD-10 associada a positividade de Muc5A.

3.4.3 Expressão dos anticorpos monoclonais p53 e Ki-67

LSAB+ (DAKO) foi o método de amplificação utilizado em cortes de 4μm de espécimes emblocados em parafina para recuperação antigênica. Os cortes foram aquecidos em panela de pressão por 3,5 minutos, em banho de solução de ácido cítrico 10mM pH6,0. A contracoloração foi feita com hematoxilina de Harris.

A positividade nuclear do marcador p53 (Figura 12) foi classificada para intensidade e distribuição, enquanto o marcador Ki-67 (Figura 13) foi classificado para distribuição.

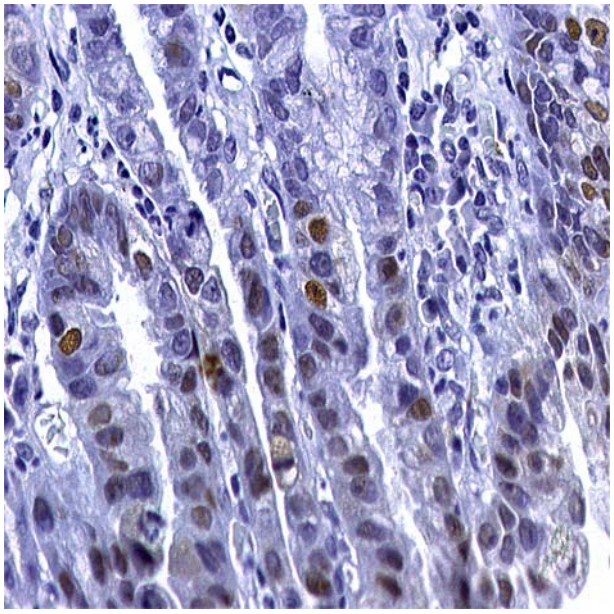


Figura 12 – Coloração positiva do marcador p53 em aumento de 40X.

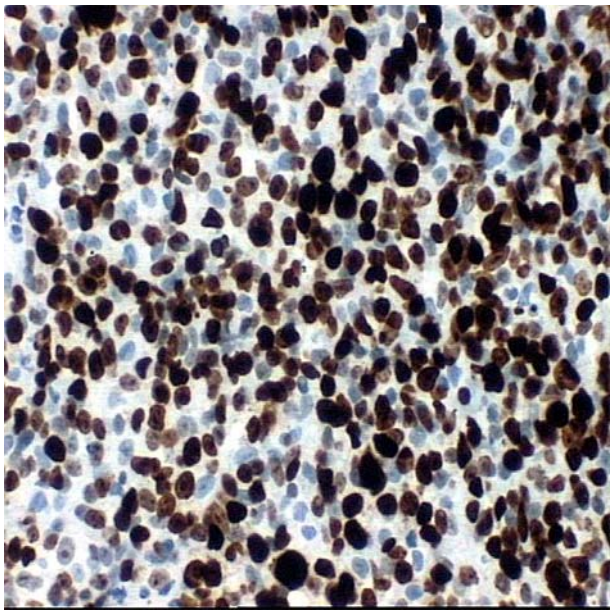


Figura 13 – Coloração positiva para o marcador Ki-67 em aumento de 40X.

A intensidade do marcador p53 foi estratificado em:

0 – ausência de coloração;

1 – coloração dificilmente visível;

2 – facilmente visível;

3 – intensa em menor grau que o controle;

4 – intensa tanto quanto o controle.

A positividade nuclear de p53 e Ki-67 quanto a sua distribuição foi avaliada em:

0 - negativo

1- raras células (menor que 2%);

2- pequena quantidade (2 a 20%);

3- moderada quantidade (20 a 75%);

4- intensa quantidade (maior que 75%).

3.4.4 Avaliação da expressão da proteína dos anticorpos monoclonais

Considerou-se positiva a expressão do p53 quando se estratificou a positividade nuclear em grau 3 ou 4, tanto para intensidade e distribuição. Para o marcador Ki-67, as intensidade graus 3 ou 4 caracterizaram a positividade do teste.

3.5 Analíse estatística

Os resultados foram referidos como média e desvio-padrão.

O teste do qui-quadrado foi utilizado para verificar se o número de fragmentos variou com a técnica endoscópica, com o tamanho da lesão e sua localização. Também foi usado para identificar se a localização da neoplasia influenciou a escolha da técnica endoscópica. O mesmo teste foi utilizado para saber se idade, sexo, tipo histológico, tamanho da lesão, nível de invasão, tipo macroscópico, localização da lesão, técnica endoscópica e número de fragmentos se relacionaram com a ressecção completa ou incompleta da lesão, e com a chance de recidiva. Utilizou-se também o teste para a comparação do subgrupo composto pelos casos que respeitavam os critérios de alta probabilidade de cura, sendo utilizado os mesmo parâmetros referidos anteriormente e, também, os marcadores imuno-histoquímico (Muc5A, Muc2, CD-10, p53 e Ki-67).

Quando os valores foram numéricos, como idade, tamanho da lesão e número de fragmentos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para as comparações.

Para a correlação do tempo de acompanhamento com os subgrupos com e sem recidiva utilizou-se o teste *t-student*.

A significância estatística para os testes utilizados ficou estabelecida como nível de p menor do que 0,05. Na observância de diferença estatística entre os parâmetros dos grupos ou subgrupos em comparação, foi realizada análise multivariada através do teste de regressão logística, calculando-se a razão de chances (*odds ratio* -OR) e intervalos de confiança (IR), para averiguar a interferência de outros fatores ou a independência do parâmetro em comparação.

Para medir a concordância da ecoendoscopia com o nível histopatológico de invasão neoplásica na parede gástrica, foi calculado o valor de Kappa (LANDIS et al., 1977) (K), com intervalo de confiança de 95%. A interpretação convencional dos valores K foi a seguinte:

- 0,00-0,20 = concordância ruim
- 0,21-0,40 = concordância regular
- 0,41-0,60 = concordância moderada
- 0,61-0,80 = concordância boa
- 0,81-1,00 = concordância muito boa

4. RESULTADOS

Identificaram-se 46 pacientes com diagnóstico de câncer gástrico precoce submetidos à ressecção endoscópica que foram acompanhados por, no mínimo, um ano. Foram submetidos a 47 procedimentos de mucosectomia endoscópica entre junho de 1.994 a novembro de 2.004. Vinte e três (50%) pacientes eram do sexo feminino, com média de idade de 69 anos ± 14,1 anos, variando de 21 a 102 anos. A idade foi menor que 60 anos em 10 pacientes (21,74%) e superior e igual a 60 anos em 36 pacientes (78,26%) (Gráfico 1). Em relação à raça, notou-se do tipo branco em 34 pacientes (73,9%), negro em 4 pacientes (8,7%) e amarelo em 8 pacientes (17,4%) (Gráfico 2).

Gráfico 1 – Distribuição dos pacientes em relação a idade

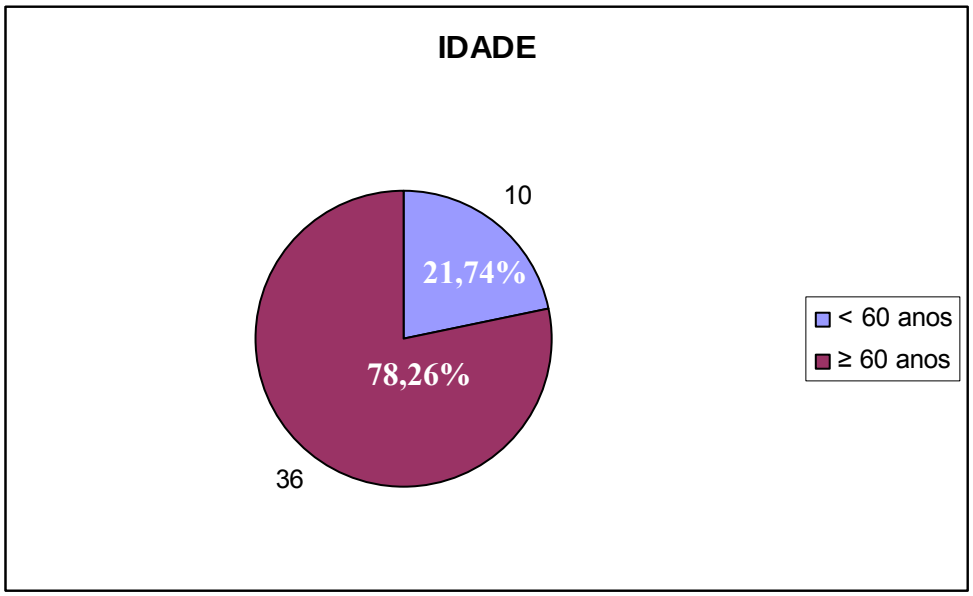
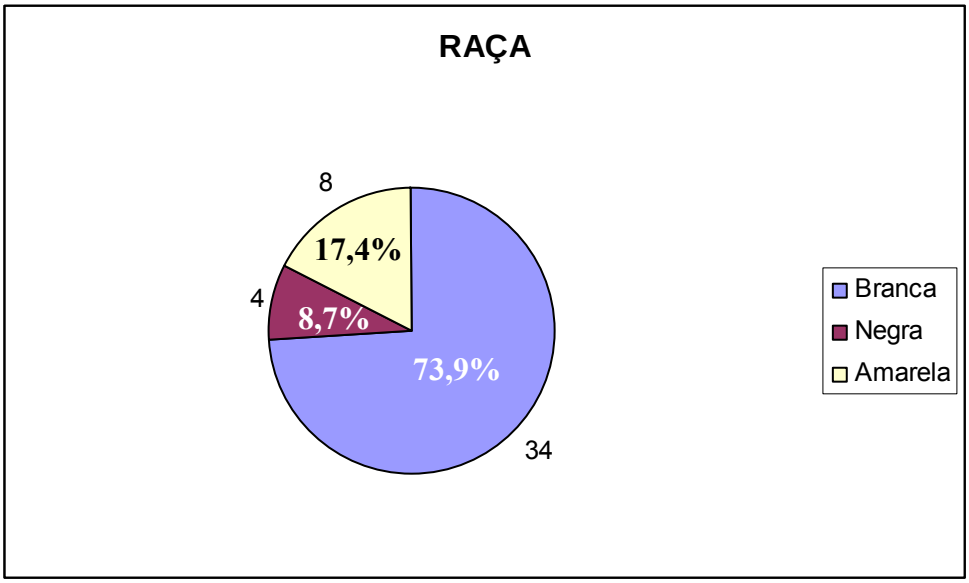


Gráfico 2 – Distribuição dos pacientes segundo a raça



Quanto ao diagnóstico anatomopatológico, foram encontrados adenocarcinoma do tipo bem diferenciado em 28 casos (59,58%), e indiferenciado em 19 casos (40,42%) (Gráfico 3). Em relação ao tamanho, 34 (72,3%) tumores se apresentaram com até 2 cm e 13 (27,7%) com tamanho superior a 2 cm (Gráfico 4).

Acometendo a camada mucosa em 34 casos (72,3%), sendo M1 em 5 casos (10,6%), M2 em 11 casos (23,4%) e M3 em 18 casos (38,3%). A invasão da submucosa ocorreu em 13 casos (27,7%) e, sendo em SM1 em 10 casos (21,3%) e SM2 em 3 casos (6,4%) (Gráfico 5).

Gráfico 3 – Distribuição geral do tipo histológico

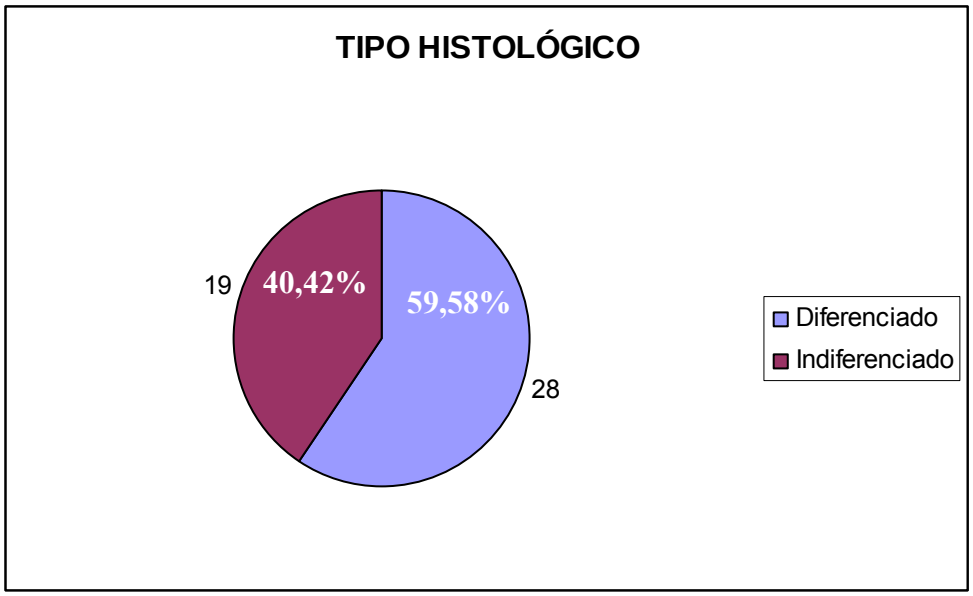


Gráfico 4 – Tamanho das lesões ressecadas

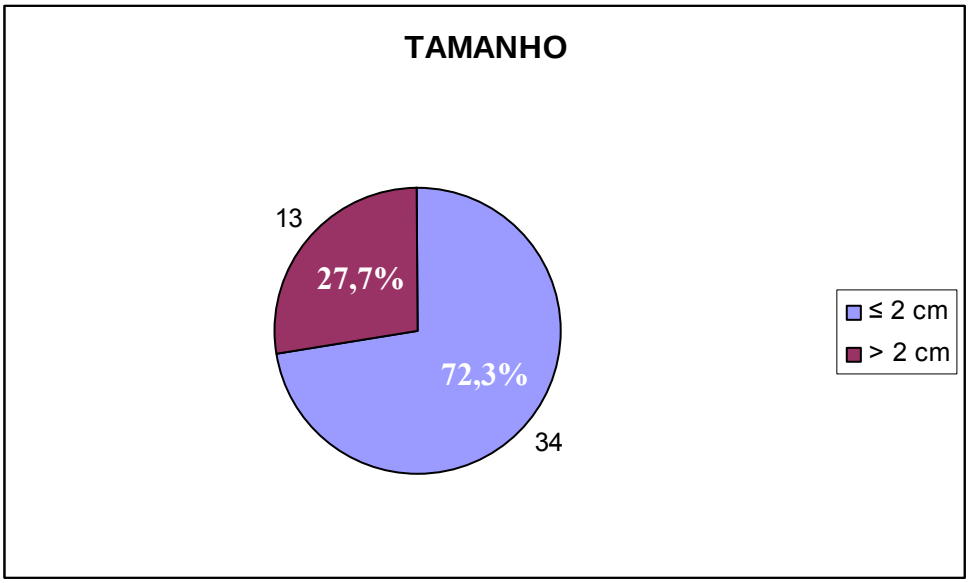
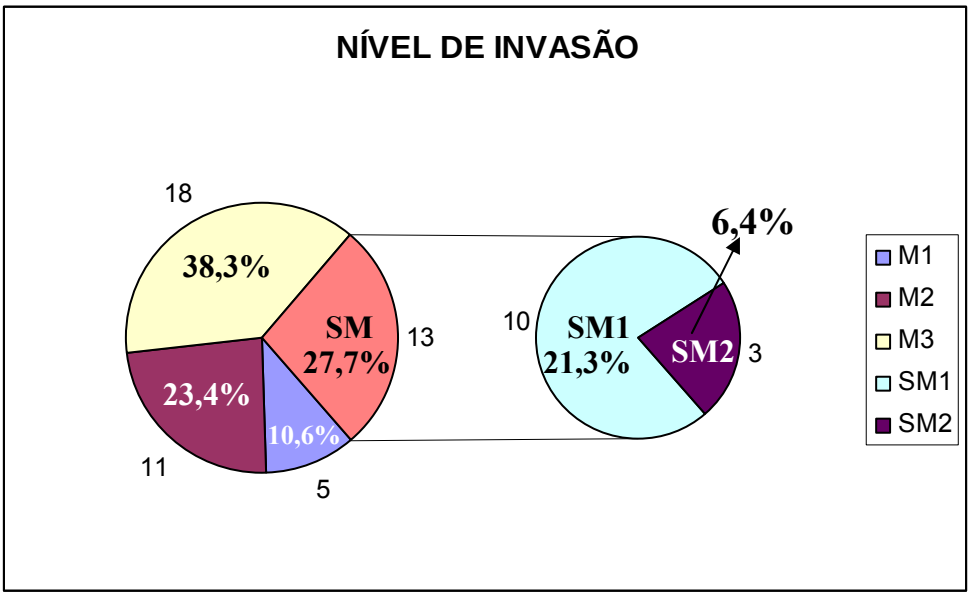
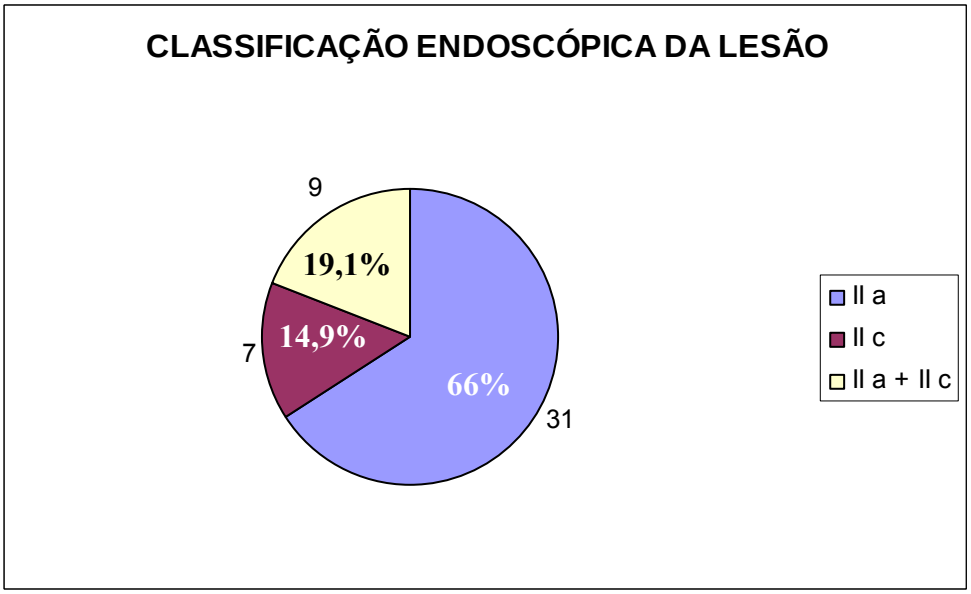


Gráfico 5 – Distribuição Geral quanto ao nível de invasão do tumor



À endoscopia foram diagnosticadas 47 lesões gástricas. O tipo macroscópico foi classificado segundo a classificação japonesa em: tipo IIa em 31 (66%), IIc em 7 (14,9%) e IIa+IIc em 9 (19,1%) (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Distribuição do tipo macroscópico das lesões gástricas detectadas à endoscopia



A localização da lesão foi determinada pela associação do segmento do estômago por extensão (superior, médio e inferior) e o local circunferencialmente acometido (parede anterior, posterior, grande curvatura e pequena curvatura) (Tabela 2). Assim, a localização mais amiúde foi o estômago médio com 26 (55,3%) casos e o local circunferencial de maior freqüência foi a grande curvatura com 20 (42,5%) casos. Finalmente, a grande curvatura do estômago médio foi o local de maior envolvimento tumoral com 14 (29,8%) casos identificados.

Tabela 2 – Localização do câncer gástrico precoce

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	3 (6,4%)	1 (2,1%)	3 (6,4%)	7 (14,9%)
	MÉDIO	4 (8,5%)	6 (12,7%)	14 (29,8%)	2 (4,3%)	26 (55,3%)
	INFERIOR	3 (6,4%)	2 (4,3%)	5 (10,6%)	4 (8,5%)	14 (29,8%)
	TOTAL	7 (14,9%)	11 (23,4%)	20 (42,5%)	9 (19,2%)	47 (100%)

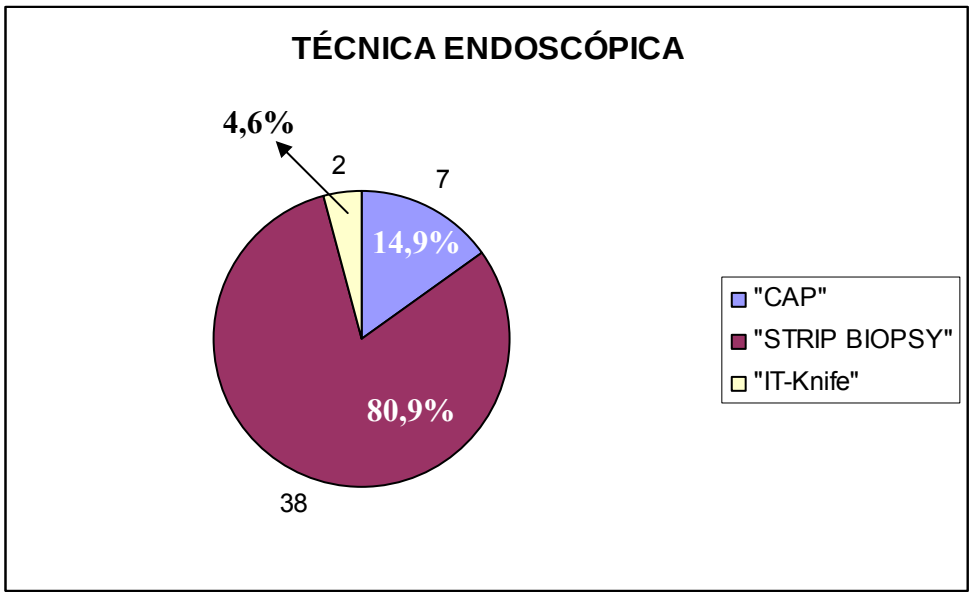
O exame ecoendoscópico foi realizado em 19 casos previamente à ressecção endoscópica e atingiu acurácia de 78,9% e índice Kappa de 0,6. Para a detecção da lesão confinada à mucosa, o exame apresentou sensibilidade de 90%, especificidade de 66,7%, valor preditivo positivo de 75% e valor preditivo negativo de 85,7% (Tabela 3). Nos três casos em que o exame subestimou a profundidade da lesão, as neoplasias estavam localizadas na pequena curvatura da cárdia e no antro, na pequena e grande curvatura. No único caso em que o exame ecoendoscópico superestimou a profundidade de lesão sua localização foi a grande curvatura do corpo.

Tabela 3 – Comparação do achado ecoendoscópico com o nível histopatológico de invasão parietal

		ACHADO HISTOPATOLÓGICO	
		MUCOSA n = 10	SUBMUCOSA n = 09
ACHADO ECOENDOSCÓPICO	MUCOSA n = 12	09 (90%)	03 (33,3%)
	SUBMUCOSA n = 7	01 (10%)	06 (66,7%)

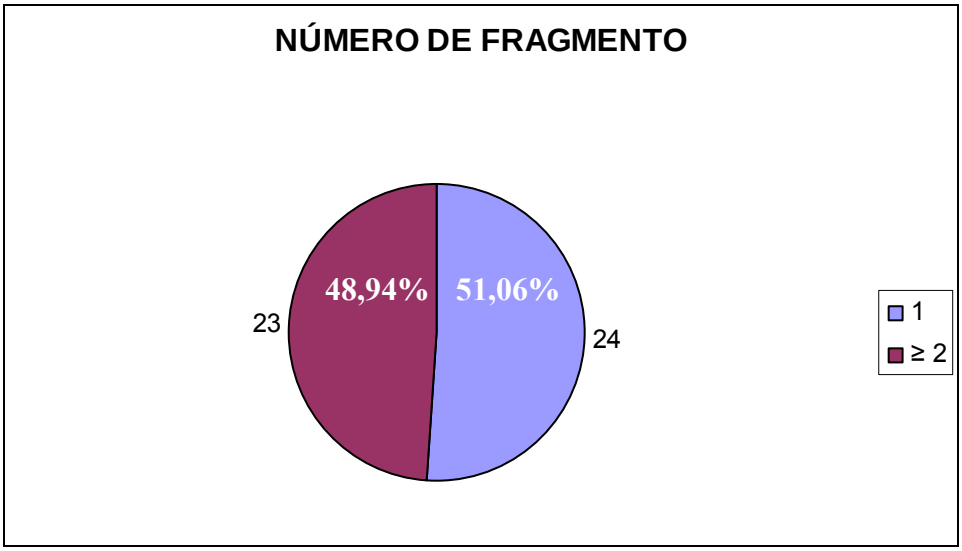
As técnicas de ressecção endoscópica utilizadas foram "aspira e corta" ou *cap* em 7 casos (14,9%), "levanta e corta" ou *strip-biopsy* em 38 casos (80,9%) e *IT-knife* em 2 casos (4,3%) (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Distribuição da técnica endoscópica empregada para ressecção da lesão gástrica



Em relação ao número de fragmentos, em 24 casos (51,06%), as ressecções foram feitas em um único fragmento e em mais de um fragmento nos demais 23 casos (48,94%) (Gráfico 8).

Gráfico 8 – Distribuição dos números de fragmentos ressecados pela mucosectomia



Ao se associar o número de fragmentos ressecados com o tamanho do tumor, observa-se que quanto maior a lesão, maior o número de fragmentos e vice-versa (Tabela 4). Ao se associar o número de fragmentos com a técnica utilizada e, com a localização, não houve diferença estatística (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 – Correlação do número de fragmentos com a técnica de mucosectomia e com o tamanho da lesão ressecada

		Número de Fragmentos		**p**
		1	**≥ 2**	
Técnica	"CAP"	4 (57,1%)	3 (42,9%)	0,328
	"STRIP-BIOPSY"	18 (47,4%)	20 (52,6%)	
	"IT-Knife"	2 (100%)	0	
Tamanho	≤ 2 cm	21 (61,8%)	13 (38,2%)	**0,018**
	> 2 cm	3 (23,1%)	10 (76,9%)	

Tabela 5 – Correlação da localização da lesão e número de fragmentos ressecados* (relação da ressecção *en bloc* : *piecemeal* e porcentagem de ressecção completa em cada localidade em parênteses)

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	1:2 (33%)	0:1 (0%)	3:0 (100%)	4:3 (57%)
	MÉDIO	0:4 (0%)	3:3 (50%)	9:5 (64%)	1:1 (50%)	13:13 (50%)
	INFERIOR	1:2 (33%)	0:2 (0%)	2:3 (40%)	4:0 (100%)	7:7 (50%)
	TOTAL	1:6 (14,2%)	4:7 (36,3%)	11:9 (55%)	8:1 (88,8%)	24:23 (51%)

Realizou-se a correlação da técnica de mucosectomia empregada com a localização da lesão, não se observando diferença (p=0,650) (Tabela 6).

Tabela 6 – Correlação da técnica de mucosectomia empregada com a localização da lesão (relação de cada técnica *cap* : *stip-biopsy* : *IT-knife* em cada localização)

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	0:3:0	0:1:0	2:1:0	2:5:0
	MÉDIO	0:4:0	1:5:0	3:10:1	0:2:0	4:21:1
	INFERIOR	1:2:0	0:2:0	0:5:0	0:3:1	1:12:1
	TOTAL	1:6:0	1:10:0	3:16:1	2:6:1	7:38:2

* p = 0,100

Houve seguimento com média de 69,4 meses ± 36,5 meses, variando entre seis a 136 meses. A sobrevida em cinco anos foi de 84,78%. Observaram-se sete (15,21%) casos de óbitos, no qual nenhum teve como causa o câncer gástrico. Deles, um paciente apresentou evidência de adenocarcinoma por ocasião da evolução fatal.

Os pacientes foram divididos de acordo com o tipo de ressecção em ressecção completa e incompleta. Observamos que houve mucosectomia com margens livres em 36 ressecções (76,6%) (Tabela 7).

Tabela 7 – Resultado final da ressecção realizada

Ressecção	**n**
Incompleta	11 (23,4%)
Completa	36 (76,6%)
TOTAL	47 (100%)

Comparando-se o grupo ressecção incompleta com ressecção completa, observamos que os dados demográficos, sexo, idade e raça, não influenciaram estas ocorrências (Tabela 8).

Tabela 8 – Dados demográficos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta

Fator Demográfico		Ressecção Completa	Ressecção Incompleta	P
Sexo	Feminino	18 (50%)	05 (45,4%)	0,792
	Masculino	18 (50%)	06 (54,6%)	
Idade	< 60 anos	07 (19,4%)	03 (27,3%)	0,579
	≥ 60 anos	29 (81,6%)	08 (72,7%)	
Raça	Branca	25 (71,5%)	09 (81,8%)	0,250
	Negra	02 (5,7%)	02 (18,2%)	
	Amarela	08 (22,8%)	0	

A localização do câncer foi fator preditivo para remoção incompleta do tumor (p=0,035) (Tabela 9). Observou-se que para as lesões localizadas no terço superior do estômago, houve menor taxa de ressecção completa (43%). A parede posterior foi a localização de maior dificuldade para ressecção (63%). Por outro lado, no segmento médio da parede posterior, foi possível a ressecção de todas as seis lesões.

Tabela 9 – Localização do câncer gástrico precoce ressecado e taxa de ressecção completa com a mucosectomia endoscópica (relação de ressecção completa : incompleta com a taxa percentual de ressecção completa em parênteses)

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	1:2 (33%)	0:1 (0%)	2:1 (66%)	3:4 (43%)
	MÉDIO	3:1 (75%)	6:0 (100%)	13:1 (75%)	1:1 (50%)	23:3 (88%)
	INFERIOR	2:1 (66%)	0:2 (0%)	5:0 (100%)	3:1 (75%)	10:4 (71%)
	TOTAL	5:2 (71%)	7:4 (63%)	18:2 (90%)	6:3 (66%)	36:11 (76,6%)

O número de fragmentos ressecados também, foi fator preditivo de ressecção incompleta (Tabela 10).

Tabela 10 – Dados endoscópicos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta

Fator Endoscópico		**Ressecção Completa**	**Ressecção Incompleta**	**P**
Técnica	"CAP"	07 (19,4%)	0	0,183
	"STRIP BIOPSY"	27 (75%)	11 (100%)	
	"It-Knife"	02 (5,6%)	0	
Tipo Macroscópico	IIa	24 (66,6%)	07 (63,7%)	0,660
	IIc	06 (16,7%)	01 (9%)	
	IIa+IIc	06 (16,7%)	03 (27,3%)	
Número de Fragmentos	1	22 (61,1%)	02 (18%)	**0,013**
	≥2	14 (38,9%)	09 (82%)	

Os dados histopatológicos, como tipo histológico e tamanho provaram ser fatores preditivos para remoção incompleta do tumor (Tabela 11).

Tabela 11 – Dados histopatológicos na comparação dos grupos ressecção completa e incompleta

Fator Histopatológico		**Ressecção Completa**	**Ressecção Incompleta**	**P**
Tipo Histológico	Indiferenciado	12 (33,3%)	08 (72,7%)	**0,021**
	Diferenciado	24 (66,7%)	03 (27,3%)	
Tamanho	≤ 2 cm	33 (91,7%)	07 (63,6%)	**0,022**
	> 2 cm	03 (8,3%)	04 (36,4%)	
Nível de Invasão	Mucosa	27 (75%)	07 (63,6%)	0,461
	Submucosa	09 (25%)	04 (36,4%)	

Através da análise multivariada, observa-se que o tipo histológico e o número de fragmentos foram fatores independentes para a ressecção completa da lesão, ou seja, quando o câncer foi do tipo histológico indiferenciado houve maior chance de ressecção incompleta da lesão (OR = 0,18; IC (95%) = 0.036 – 0.897). Assim como ressecções em dois ou mais fragmentos, o risco de ressecção incompleta foi cerca de sete vezes e meia maior (OR = 7,34; IC (95%) = 1,266 – 42,629).

No grupo de ressecção incompleta, a idade média foi de 67,63 anos ± 21,97 anos, variando entre 21 a 88 anos, sendo cinco (45,4%) pacientes do sexo feminino. Quanto ao tipo histológico, dois pacientes apresentaram adenocarcinoma diferenciado (18,1%) e tamanho médio de 2 cm ± 1,01 cm, variando entre 0,5 a 4,5 cm. Observou-se nível de invasão em mucosa em sete (63,6%) casos e o restante em submucosa. O tipo macroscópico da lesão foi IIa em sete (63,6%) casos, IIc em um (9%) caso e IIa + IIc em três (27,4%) casos. Para todas as lesões, foi utilizada a técnica endoscópica *strip-biopsy*, com número médio de fragmentos de 2,63 ± 1,36, variando de 1 a 5. Quanto ao seguimento, o tempo médio foi de 67,63 ± 21,97 meses, variando de 21 a 88 meses, com seis pacientes encaminhados para gastrectomia. Um deles apresentou óbito seis meses após o procedimento. Os outros foram submetidos à complementação com argônio, dos quais três faleceram, sem relação com o câncer gástrico. Todos foram do tipo histológico indiferenciado (Tabela 12).

Tabela 12 – Características dos pacientes com ressecção incompleta

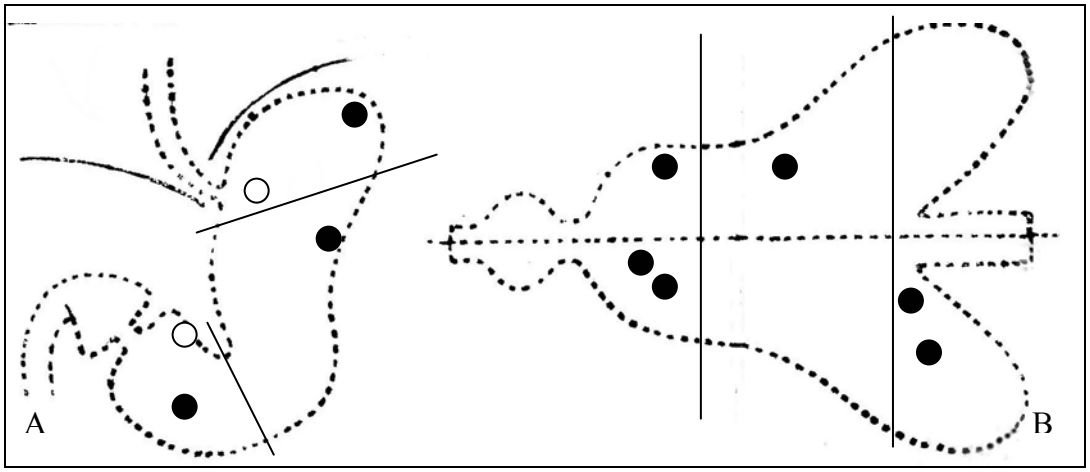
Paciente	Idade (anos)	Sexo	Tipo Histológico	Tamanho (cm)	Acompanhamento (meses)	Conduta	Óbito
1	65	F	INDIFERENCIADO	4,5	56	GASTRECTOMIA	NÃO
2	79	M	DIFERENCIADO	2,3	64	GASTRECTOMIA	NÃO
3	84	F	INDIFERENCIADO	2,0	58	GASTRECTOMIA	NÃO
4	88	M	INDIFERENCIADO	0,5	6	GASTRECTOMIA	SIM
5	86	F	INDIFERENCIADO	1,5	95	GASTRECTOMIA	NÃO
6	86	F	INDIFERENCIADO	1,9	24	ARGÔNIO	SIM
7	40	F	INDIFERENCIADO	1,3	110	GASTRECTOMIA	NÃO
8	77	M	INDIFERENCIADO	1,5	28	ARGÔNIO	SIM
9	50	M	INDIFERENCIADO	2,5	36	ARGÔNIO	SIM
10	68	M	INDIFERENCIADO	1,5	78	ARGÔNIO	NÃO
11	21	M	DIFERENCIADO	2,5	43	ARGÔNIO	NÃO

Ao correlacionar o número de fragmentos ressecados com o tamanho da lesão no grupo ressecção incompleta não se observou diferença (Tabela 13). O mesmo ocorreu ao correlacionar número de fragmentos com a sua localização (p = 0,202) (Gráfico 9).

Tabela 13 – Correlação do número de fragmentos ressecados com o tamanho da lesão no grupo ressecção incompleta

		Número de Fragmentos		**P**
		1	**≥ 2**	
Tamanho	≤ 2 cm	1 (16,7%)	5 (83,3%)	0,887
	> 2 cm	1 (20%)	5 (80%)	

Gráfico 9 – Correlação entre a localização da lesão no grupo ressecção incompleta e o número de fragmentos ressecados (○ "en bloc" e ● maior ou igual a dois fragmentos)



No grupo ressecção completa, a idade média foi de 69,41 anos ± 11,17 anos, variando de 42 a 102 anos, sendo 18 (51,42%) pacientes do sexo feminino. O tipo histológico adenocarcinoma bem diferenciado ocorreu em 24 (66,6%) pacientes, o

tamanho médio da lesão foi de 1,35 cm ± 0,54 cm, variando de 0,6 cm a 2,7 cm. O nível de invasão do tumor apresentou 27 (75%) casos em mucosa e o restante em submucosa. O tipo macroscópico da lesão foi IIa em 24 (66,6%) casos, IIc e IIa+IIc em 6 (16,7%) casos cada respectivamente. A técnica de mucosectomia utilizada ficou estratificada em *cap* com sete (19,4%) casos, *strip-biopsy* com 27 (75%) e *IT-knife* com dois (5,6%). O número de fragmentos ressecados apresentou média de 1,83 ± 1,4, variando de 1 a 5. O tempo médio de acompanhamento deste grupo foi de 69,77 meses ± 37,88 meses, variando de 6 a 136 meses.

Neste grupo, observou-se que quanto maior a lesão, maior o número de fragmentos ressecados (p=0,018) (Tabela 14). Porém, ao se correlacionar o número de fragmentos com a técnica endoscópica empregada (Tabela 14) e com a localização da lesão (Tabela 15), não se observou diferença. O mesmo se observou para a técnica endoscópica empregada e a localização da lesão (Tabela 16).

Tabela 14 – Correlação entre número de fragmentos com a técnica endoscópica empregada e o tamanho da lesão no grupo de ressecção completa

		Número de Fragmentos		**p**
		1	**≥ 2**	
Técnica	"CAP"	4 (57,1%)	3 (42,9%)	0,507
	"STRIP-BIOPSY"	16 (59,3%)	11 (40,7%)	
	"IT-Knife"	2 (100%)	0	
Tamanho	≤ 2 cm	20 (71,4%)	8 (28,6%)	**0,018**
	> 2 cm	2 (25%)	6 (75%)	

Tabela 15 – Localização da lesão em relação ao número de fragmentos ressecados* (relação de ressecção *en bloc* : *piecemeal* com a taxa percentual de ressecção *en bloc*)

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	1:0 (100%)	0	2:0 (100%)	3:0 (100%)
	MÉDIO	0:3 (0%)	3:3 (50%)	9:4 (69,2%)	1:0 (100%)	13:6 (68,4%)
	INFERIOR	1:1 (50%)	0	2:3 (40%)	3:0 (100%)	6:1 (50%)
	TOTAL	1:4 (20%)	4:3 (57,1%)	11:7 (61,1%)	6:0 (100%)	22:14 (61,1%)

Tabela 16 – Correlação da técnica endoscópica empregada e a sua localização** (relação das técnicas *cap* : *strip-biopsy* : *IT-knife* em cada localização)

"CAP":"STRIP-BIOPSY":"IT-Knife"

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	0:1:0	0	2:0:0	2:1:0
	MÉDIO	0:3:0	1:5:0	3:9:1	0:1:0	4:18:1
	INFERIOR	1:1:0	0	0:5:0	0:2:1	1:8:1
	TOTAL	1:4:0	1:6:0	3:14:1	2:3:1	7:27:2

* p = 0,163
** p = 0,253

Os pacientes do grupo ressecção completa foram subdivididos nos subgrupos com ou sem recidiva (Tabela 17). Pode-se notar que houve recidiva local em nove casos (25%).

Tabela 17 – Seguimento dos pacientes com ressecção completa com e sem recidiva local

Seguimento	n
Sem Recidiva	27 (75%)
Com Recidiva	09 (25%)
TOTAL	36 (100%)

Ao se comparar os subgrupos com e sem recidiva, observou-se que os dados demográficos (Tabela 18) não foram fatores preditivos para recidiva local.

Tabela 18 – Dados demográficos entre os subgrupos sem e com recidiva

FATOR DEMOGRÁFICO		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	p
Sexo	Feminino	12 (44,4%)	06 (66,7%)	0,248
	Masculino	15 (55,6%)	03 (33,3%)	
Idade	< 60 anos	05 (18,5%)	02 (22,2%)	0,808
	≥ 60 anos	22 (81,5%)	07 (77,8%)	
Raça	Branca	19 (73,1%)	06 (66,7%)	0,519
	Negra	02 (7,7%)	0	
	Amarela	05 (19,2%)	03(33,3%)	

Houve diferença significativa nos dados endoscópicos, em relação à técnica utilizada, no qual o tipo "aspira e corta" (*cap*) foi utilizada em cinco (55,5%) casos de recidiva. No subgrupo sem recidiva, aplicou-se esta técnica em apenas dois (7,4%) casos (Tabelas 19 e 20).

Tabela 19 – Dados endoscópicos entre os subgrupos sem e com recidiva

FATOR ENDOSCÓPICO		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	p
Técnica	"CAP"	02 (7,4%)	05 (55,5%)	**0,006**
	"STRIP BIOPSY"	23 (85,2%)	04 (44,5%)	
	"It-Knife"	02 (7,4%)	0	
Tipo Macroscópico	IIa	19 (70,3%)	05 (55,5%)	0,295
	IIc	05 (18,5%)	01 (11,2%)	
	IIa+IIc	03 (11,2%)	03 (33,3%)	
Número de Fragmentos	1	17 (62,9%)	05 (55,5%)	0,643
	≥2	10 (37,1%)	04 (44,5%)	

Tabela 20 – Localização do câncer gástrico precoce ressecado em sua totalidade e taxa de recidiva* (relação de recidiva : sem recidiva com a taxa percentual de recidiva em cada localidade)

		LATITUDE (CIRCUNFERENCIAL)				
		Anterior	**Posterior**	**Grande Curvatura**	**Pequena Curvatura**	**Total**
LONGITUDINAL (EXTENSÃO)	SUPERIOR	0	0:1 (0%)	0	1:1 (50%)	1:2 (33%)
	MÉDIO	0:3 (0%)	1:5 (16,6%)	5:8 (38,4%)	1:0 (100%)	7:16 (30,4%)
	INFERIOR	0:2 (0%)	0	1:4 (20%)	0:3 (0%)	1:9 (10%)
	TOTAL	0:5 (0%)	1:6 (14,2%)	6:12 (33,3%)	2:4 (33,3%)	9:27 (25%)

* p = 0,433

Dos nove casos com invasão da submucosa (SM) houve três (33,3%) recidivas locais. Entretanto, no subgrupo M (mucosa), houve seis (66,7%) casos de recidiva, dos quais cinco foram do tipo histológico bem diferenciado, ou seja, apresentavam alta probabilidade de cura (Tabela 21).

Tabela 21 – Dados histopatológicos entre os subgrupos sem e com recidiva

FATOR		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	p
Tipo Histológico	Indiferenciado	09 (33,3%)	03 (33,3%)	1,0
	Diferenciado	18 (66,7%)	06 (66,7%)	
Tamanho	≤ 2 cm	24 (88,8%)	09 (100%)	0,296
	> 2 cm	03 (11,2%)	0	
Nível de Invasão	Mucosa	21 (77,7%)	06 (66,7%)	0,505
	Submucosa	06 (22,3%)	03 (33,3%)	

Observou-se que o subgrupo sem recidiva apresentou média de acompanhamento de 68,11 meses ± 34,92 meses e o com grupo recidiva, média de 74,77 meses ± 47,73 meses (p = 0,707).

Na análise multivariada dos fatores utilizados na comparação dos subgrupos sem e com recidiva, não se demonstrou variável preditiva de recidiva local.

Procurando-se confirmar os resultados, analisaram-se os fatores idade, tempo de acompanhamento, número de fragmento e tamanho da lesão como parâmetros numéricos contínuos e não intervalos, confirmando-se que o número de fragmentos e o tamanho da lesão foram fatores preditivos para ressecção incompleta (Tabela 22).

Tabela 22 – Relação dos parâmetros numéricos com os grupos

FATOR		Mínimo	Máximo	Média	Desvio-Padrão	p
Idade (anos)		21	102	69	14,16	0,640
Acompanhamento (meses)		06	136	69,46	36,54	0,893
Número de Fragmentos	Ressecção Incompleta	1	4	2,54	1,21	**0,029**
	Ressecção Completa	1	6	1,83	1,40	
	Recidiva	1	3	1,55	0,72	0,091
	Sem Recidiva	1	6	1,92	1,56	
Tamanho (cm)	Ressecção Incompleta	0,5	4,5	2,0	1,01	**0,027**
	Ressecção Completa	0,6	2,7	1,35	0,53	
	Recidiva	0,7	1,5	1,1	0,26	0,416
	Sem Recidiva	0,6	2,7	1,4	0,58	

Agrupando-se pacientes com alta probabilidade de cura através da ressecção endoscópica, chegou-se a 22 casos com tipo histológico diferenciado, ressecção completa, sem invasão linfática ou venosa e invasão tumoral restrita à camada mucosa. Deles, cinco (22,7%) apresentaram recidiva local no período médio de 5,8 ± 4,16 meses , variando de 1 a 18 meses.

Onze (61,1%) pacientes foram do sexo feminino, com idade média de 72,56 ± 12,31 anos (50 a 102 anos). Segundo o tipo macroscópico, as lesões foram IIa em 11 (61,1%) casos, IIa+IIc em cinco (27,9%) casos e IIc em dois (11%) casos. As técnicas de ressecção utilizadas foram a “strip-biopsy” em 15 (83,4%) casos e “cap” em três (16,6%) casos, com tamanho médio das lesões de 1,32 ± 0,61 cm (0,6 a 2,7 cm). O número médio de fragmentos ressecados foi de 1,66 ± 1,13 (um a cinco fragmentos). O nível de invasão observado foi M1 em dois (11%) casos e M2 e M3

em oito (44,4%) casos cada, respectivamente. O tempo médio de acompanhamento desse grupo foi de 64,27 meses ± 33,75 meses e ao correlacionar os tempos médios de acompanhamentos dos subgrupos sem recidiva (67 meses ± 31,73 meses) e com recidiva (57,2 meses ± 41,64 meses) não se observou diferença (p=0,651).

Foram realizados estudos imunohistoquímico em 18 (78,2%) peças ressecadas, não sendo possível esta análise no restante por perda do material ressecado. Assim, os 18 pacientes foram estratificados em sem ou com recidiva e pareados quanto aos dados demográficos (sexo e idade) (Tabela 23), endoscópicos (técnica endoscópica empregada para ressecção, tipo macroscópico, número de fragmentos ressecados e localização) (Tabelas 24) (Gráfico 10) e dados histopatológicos (Tabela 25), não se observando diferença estatística para os fatores em questão.

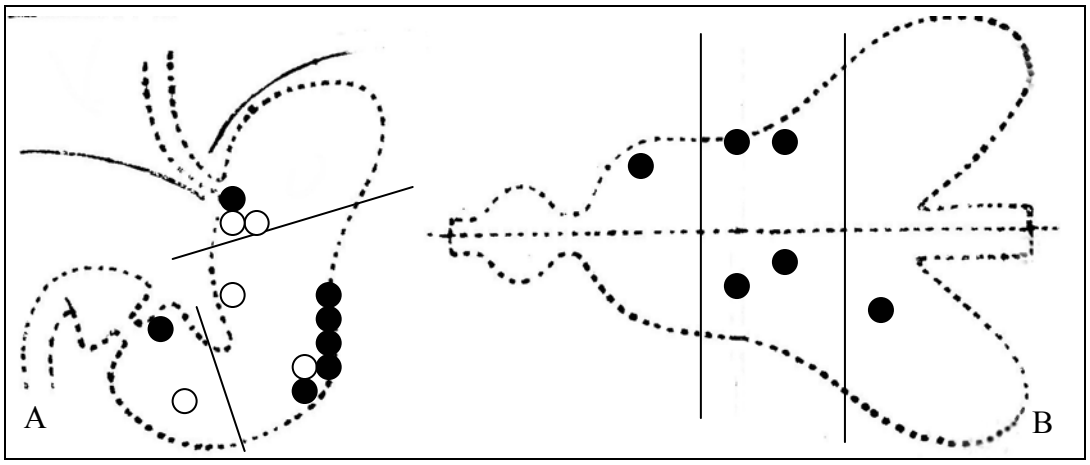
Tabela 23 – Dados demográficos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura

FATOR DEMOGRÁFICO		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	P
Sexo	Feminino	02 (15,4%)	01 (20%)	0,308
	Masculino	11 (84,6%)	04 (80%)	
Idade	< 60 anos	07 (53,8%)	04 (80%)	0,814
	≥ 60 anos	06 (46,2%)	02 (20%)	
Raça	Branca	09 (69,2%)	02 (40%)	0,145
	Negra	02 (15,4%)	0	
	Amarela	02 (15,4%)	03 (60%)	

Tabela 24 – Dados endoscópicos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura

FATOR		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	P
Técnica	"CAP"	01 (7,7%%)	02 (40%)	0,099
	"STRIP BIOSPY"	12 (92,3%)	03 (60%)	
Tipo Macroscópico	IIa	09 (69,2%)	02 (40%)	0,145
	IIc	02 (15,4%)	03 (60%)	
	IIa+IIc	02 (15,4%)	0	
Número de Fragmentos	1	08 (61,5%)	03 (60%)	0,767
	≥2	05 (38,5%)	02 (40%)	

Gráfico 10 – Localização dos cânceres gástricos precoces ressecados com alta probabilidade cura com e sem recidiva. (A) Localização dos casos que acometem pequena ou grande curvatura nos segmentos superior, médio e inferior do estômago. (B) Localização nos segmentos superior, médio e inferior nas paredes anterior ou posterior*. ● Caso sem recidiva e ○ com recidiva



* p = 0,230

Tabela 25 – Dados histopatológicos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura

FATOR		SEM RECIDIVA	RECIDIVA	P
Tamanho	≤ 2 cm	09 (%)	05 (100%)	0,160
	> 2 cm	04 (%)	0	
Nível de Invasão	M1	01 (7,7%)	01 (20%)	0,758
	M2	06 (46,2%)	02 (40%)	
	M3	06 (46,2%)	02 (40%)	

Quando analisados os fatores idade, tempo de acompanhamento, número de fragmento e tamanho da lesão como parâmetros numéricos contínuos e não intervalos, confirmou-se que não houve diferença estatística (Tabela 26).

Tabela 26 – Relação dos parâmetros numéricos dos subgrupos sem e com recidiva dos pacientes com alta probabilidade de cura

FATOR		Mínimo	Máximo	Média	Desvio-Padrão	P
Idade (anos)	Recidiva	50	81	64,8	11,09	0,114
	Sem Recidiva	55	102	75,5	11,78	
Acompanhamento (meses)	Recidiva	6	115	57,2	41,64	0,657
	Sem Recidiva	24	117	67,0	31,7	
Número de Fragmentos	Recidiva	1	2	1,40	0,54	0,865
	Sem Recidiva	1	5	1,76	1,30	
Tamanho (cm)	Recidiva	0,6	1,2	0,92	1,00	0,074
	Sem Recidiva	0,6	2,7	1,47	0,64	

O estudo imunohistoquímico revelou que a expressão da mucina do tipo Muc5A se correlacionou com risco maior de recidiva (Tabela 27).

Tabela 27 – Expressão de mucinas, p53 e Ki-67 em tumores intramucosos com e sem recidiva

Marcadores	Sem Recidiva (n=13)	Recidiva (n=5)	p
Muc2	10 (76,9%)	5 (100%)	0,239
Muc5A	2 (15,4%)	4 (80%)	**0,026**
CD10	3 (23%)	0	0,239
p53	2 (15,4%)	2 (40%)	0,261
Ki-67	5 (38,4%)	2 (40%)	0,952

Do grupo de pacientes com recidiva, quatro (80%) foram casos do tipo misto e um (20%) do tipo intestinal. No grupo sem recidiva, não houve nenhum caso do tipo misto, mas 10 (76,9%) casos do tipo intestinal, um (7,7%) do tipo indeterminado e dois (11,1%) do tipo gástrico (Tabela 28).

Tabela 28 – Distribuição dos tipos fenotípicos dos adenocarcinomas bem diferenciados entres os subgrupos sem e com recidiva

Fenótipo	Sem Recidiva (n = 13)	Recidiva (n = 5)	p
Gástrico	02 (15,4%)	0	
Intestinal	10 (76,9%)	01 (20%)	**0,004***
Misto	0	04 (80%)	
Indeterminado	01 (7,7%)	0	

* Diferença Estatística relacionada à comparação do fenótipo intestinal com o misto entre os grupos sem e com recidiva. Não houve diferença entre os outros fenótipos

5. DISCUSSÃO

O câncer gástrico é a quarta causa mais comum de câncer no mundo. Aproximadamente 600.000 novos casos são diagnosticados cada ano. Quase dois terços desses indivíduos morrerão em decorrência desta doença (FERLAY et al. 2004). Estima-se que 65 a 75% dos casos de câncer gástrico ocorram em países desenvolvidos (FERLAY et al., 2004). Os países com as maiores incidências, chegando a 40 novos casos por 100.000 indivíduos, são Coréia, Japão, Chile, China e Costa Rica. A incidência do câncer gástrico vem caindo nos últimos 60 anos. Nos Estados Unidos esta taxa passou de 11,7 em 1975 para 8,8 por 100.000 em 2002 (RIES et al., 2005). Neste país, há maior incidência da doença no Havaí, refletindo, possivelmente diferenças de fatores etiopatogênicos (CORELLA et al., 2001; PARKIN et al., 2005). No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), houve, em 2006, maior incidência em homens: 14,9 casos por 100.000 versus 8,2 casos por 100.000. A incidência em imigrantes asiáticos no Havaí e no estado de São Paulo é menor quando comparada com aquela apresentada pela geração nativa do país (TSUGANE et al., 1990; STERMMERMANN, 1977), sugerindo que o fator ambiental é relevante para a etiopogênese da doença.

No presente estudo, observou-se idade média de 69 anos ± 14,1 anos, variando de 21 a 102 anos, com incidência igual entre homens e mulheres. Quando se estratificou a idade em menor de 60 anos e maior ou igual a 60 anos, notou-se maior acometimento em pacientes com idade maior ou igual a 60 anos (78,26%).

Deve-se lembrar que quanto maior a idade, maiores as comorbidades e doenças associadas. De fato, dos cinco óbitos apresentados três (60%) ocorreram em pacientes acima de 60 anos, lembrando que a causa dos óbitos não foi o câncer gástrico. Alguns autores (YOO et al., 2000; D´ANGELICA et al., 2004) também estratificaram a idade e não observaram relação com a recidiva, assim como este estudo. Entretanto, chamaram a atenção para os pacientes jovens (menores de 60 anos) em que a recidiva acometeu mais o peritôneo, com o tipo histológico difuso sendo o predominante, enquanto os pacientes com mais de 60 anos apresentaram maior chance de recidiva local, tamanho tumoral maior e quando infiltrativo acometeram às porções proximais do estômago. Quando a idade foi avaliada como uma variável contínua, notaram que quanto maior a idade maior o risco de óbito.

Neste estudo, não houve prevalência do sexo masculino na incidência do câncer gástrico. Entre os homens, a raça branca apresentou maior incidência, com 20 dos 23 (86,95%) pacientes e nas mulheres, a raça branca também apresentou maior incidência, com 14 dos 23 (60,86%) pacientes. Entretanto, nas raças amarela e negra, a incidência de câncer gástrico precoce foi maior nas mulheres em relação aos homens, 6:2 e 3:1, respectivamente.

Mesmo com o avanço tecnológico nas áreas cirúrgica e oncológica, o índice de cura do câncer avançado do estômago pouco se alterou nos últimos 40 anos e o índice de sobrevida em cinco anos não ultrapassou o valor médio de 15% (MUIR et al., 1995). No Japão, a taxa média de sobrevida de cinco anos em pacientes com lesões precoces tratadas nessa fase da doença foi maior que 90% (YAMAZAKI et al., 1989; SUE-LING et al., 1992). Na Inglaterra, Alemanha e Itália (FIELDING et al., 1980; SUE-LING et al., 1993; ECKARDT et al., 1999) esta cifra foi de 72% em

cinco anos. No Ocidente, apenas cerca de 7 a 15% de todos os casos de adenocarcinoma gástrico são detectados na fase inicial (COHEN et al., 1994). Resultados semelhantes foram encontrados na Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde esta cifra atingiu 13,8%, quando analisados 104 pacientes atendidos durante 24 anos (GAMA-RODRIGUES et al., 1995).

O fator que mais influencia a sobrevida do paciente com câncer gástrico precoce é a metástase linfonodal (MAEHARA et al., 1993; KIM et al., 1995; MIWA et al., 1995; ISOZAKI et al., 1999; KUNISAKI et al., 2001). A neoplasia gástrica com profundidade de invasão restrita à camada mucosa, sem componente ulceroso ou cicatricial, demonstra acometimento linfonodal em cerca de 1 a 3% e quando há invasão de camada de submucosa o envolvimento linfodonal é de cerca de 11 a 20% (SUE-LING et al., 1992; YAMAO et al., 1996; KOFUJI et al., 1997; KURIHARA et al., 1998; NAMIENO et al., 1998; NAKAMURA et al., 1999; YASUDA et al., 1999; GOTODA et al., 2000; KUNISAKI et al., 2001; YAMADA et al., 2001). Embora a profundidade da invasão tumoral esteja associada com a sobrevida, análise multivariada demostrou que não é fator prognóstico independente (INOUE et al., 1991). Os achados de êmbolos linfáticos, ulceração e tumor maior que três centímetros se mostraram como fatores independentes para acometimento linfonodal. Na ausência deles, observou-se risco de 0,23% de linfonodos malignizados (YAMAO et al., 1996).

Utilizando-se os conceitos de baixa probabilidade de acometimento linfonodal do câncer gástrico restrito à mucosa e à submucosa, o tratamento curativo através de ressecção local por via endoscópica, amplamente conhecida pela

denominação de mucosectomia, foi introduzido (DEYHKE et al., 1973; TADA et al., 1993). A ressecção endoscópica do câncer gástrico precoce mostrou-se similar à cirúrgica quanto à eficácia, além de ser minimamente invasiva e apresentar menor custo na sua realização (LUDWIG et al., 2005).

O desenvolvimento tecnológico dos endoscópios e acessórios permitiram a ressecção de lesões maiores em um único fragmento, de forma mais segura, expandindo as indicações do tratamento endoscópico do câncer gástrico precoce (GOTODA et al., 2000; GOTODA et al., 2006). Ainda assim, o tipo histológico é fator preditivo do resultado da ressecção endoscópica (TAKEKOSHI et al., 1994; NODA et al., 1997), do ponto de vista oncológico.

As indicações para mucosectomia endoscópica para câncer gástrico precoce geralmente aceitas são as seguintes (TADA et al., 1993; FUJINO et al., 1994; TAKEKOSHI et al., 1994; HIKI et al., 1995; HAMADA et al., 1997; KORENAGA et al., 1997; NODA et al., 1997; HIRAGA et al., 1998):

- Adenocarcinoma diferenciado
- Câncer do tipo elevado não excedendo 20 mm
- Câncer tipo plano ou depressivo sem ulceração e não maior que 10 mm

Com estes critérios, procura-se a exclusão de casos com metástases linfonodal ou invasão submucosa (OHTA et al., 1987; SANO et al. 1992). Apesar disto, as taxas de ressecções completa pela mucosectomia endoscópica para o câncer gástrico precoce é menor do que a cirúrgica (MIYATA et al., 2000). Outros estudos (LUDWIG et al., 2005; GOTODA et al., 2006) demonstraram eficácia similar à cirúrgica, porém com a vantagem de ser minimamente invasiva e com menor custo

para sua realização. São relatadas taxas de ressecção completa de 53,8% a 91,3% para a mucosectomia endoscópica, enquanto aquela atinge cifras de 100% (FUJINO et al., 1994; TAKEKOSHI et al., 1994; HIKI et al., 1995,; KORENAGA et al., 1997; NODA et al., 1997; HIRAGA et al., 1998; YOSHIDA 1998). Por outro lado, a mucosectomia endoscópica é superior à biópsia no diagnóstico convencional de tumores gastrointestinais superficiais (HULL et al., 2006).

No presente estudo, demonstrou-se taxa de ressecção completa pela endoscopia de 76,6%, com recidiva local desses pacientes em 25%. Na literatura, encontramos cifras de recidiva local após mucosectomia endoscópica variando entre 2% a 35% (GOTODA et al. 2006).

Dentre os fatores para a recidiva local, ressalta-se a ressecção em dois ou mais fragmentos (MIYATA et al., 2000). No estudo de MIYATA et al., 2000 observou-se que quanto maior o tamanho da lesão maior o número de fragmentos ressecados, com diferença significativa, porém, sem relação com a localização da lesão. Outros estudos (TAKESHITA et al., 1997; GOTODA et al., 2006) mostraram que maior o tamanho da lesão, menor a taxa de ressecção em um único bloco, mesmo com diferentes técnicas, porém com taxas de recidiva local próximas, 1,7% e 2,3%.

O desenvolvimento tecnológico permitiu o aparecimento de novos acessórios como "IT-Knife" – *Insulation Tipped Knife* (HOSOKAWA & YOSHIDA et al.,1998; GOTODA et al., 1998). Assim, desenvolvendo nova técnica de mucosectomia denominada "ESD" – *Endoscopic Submucosal Dissection* (ONO et al., 2001) apresentaram-se taxas de ressecção em único bloco de 98% a 100% para lesões menores que 2 cm (OYAMA et al, 2002; YAMAMOTO et al., 2003; HAMANAKA et al., 2005;) e 79% a 97% quando maiores que 2 cm (OYAMA et

al., 2002; YAMAMOTO et al., 2003; HAMANAKA et al., 2005; GOTODA et al. 2006), com taxas de recidiva local de zero a 1 % (YAMAMOTO et al., 2003; GOTODA et al., 2006).

Neste estudo, a maioria das lesões foi menor de 2,0 cm (72,3%), destes 23/34 (67,6%) casos foram ressecados em um único bloco. A taxa global de ressecção *en bloc* foi de 51,06%. Assim, na correlação do número de fragmentos e tamanho da lesão, observou-se que quanto maior a lesão, maior a chance de ressecção em mais de um fragmento, conforme já demonstrado em outros estudos (ONO et al., 2001; GOTODA et al. 2006).

Além do mais, na pareação dos grupos ressecção completa e incompleta, notou-se que os dois parâmetros anteriores contribuíram para o sucesso ou não da ressecção, assim como o tipo histológico indiferenciado foi fator para a ressecção incompleta da lesão gástrica, em análise univariada. Ao se submeter estes grupos e seus parâmetros à análise multivariada, obteve-se que o número de fragmentos e o tipo histológico são fatores independentes para ressecabilidade da lesão.

Quanto à histologia, está bem estabelecido que o câncer gástrico pode ser dividido em duas grandes categorias com histogêneses e comportamento biológico diferentes (LAUREN, 1965; NAKAMURA et al., 1968; MING et al., 1977). Conhecidos como tipo intestinal, expansivo ou diferenciado, e o outro como tipo difuso, infiltrativo ou indiferenciado. O primeiro, caracterizado pelo crescimento expansivo e metástase hepáticas, acomentendo pacientes idosos do sexo masculino. O segundo apresenta crescimento infiltrativo e disseminação peritoneal, com maior incidência em mulheres jovens (NODA et al., 1980). Em relação à carcinogênese, o tipo diferenciado tem origem da mucosa gástrica atrófica com metaplasia intestinal e

o tipo indiferenciado, da mucosa gástrica trófica (LAUREN, 1965; NAKAMURA et al., 1968; SAITO et al., 1986; TAHARA et al., 1995). O carcinoma indiferenciado pode se estender para submucosa com o aumento do seu tamanho, além de apresentar um maior risco de metástases para linfonodos (TSUJITANI et al., 1999). O carcinoma gástrico diferenciado apresenta sobrevida de cinco anos maior em relação aos pacientes com carcinoma gástrico indiferenciado, sendo fator prognóstico independente (ADACHI et al., 2000; KUNISAKI et al., 2001). Entretanto, reconhece-se que pacientes com tumores diferenciados sem acometimento da serosa, porém com metástases linfonodais, apresentam pior prognóstico em relação aos pacientes com tumores indiferenciados (ADACHI et al., 2000). Assim, freqüentemente se identificam situações onde a histogênese e o comportamento biológico não estão de acordo com esta classificação (NAKAMURA et al., 1968; NAGAYO, 1975; NAKAMURA, 1978).

Adicionalmente, notam-se casos de carcinomas do tipo diferenciado com pronunciada tendência a invasão e metástases, mesmo em estágio precoce (GOTODA et al., 2000). Nestes casos, a realização de ressecção endoscópica fica prejudicada pela chance de recidiva local ou metástase. No intuito de explicar este comportamento biológico inesperado, avaliações imunohistoquímicas se destacam.

O gene TP53, um importante gene supressor tumoral, codifica a proteína p53 (LANE et al., 1979). Estima-se que até 50% dos cânceres humanos apresentem alguma mutação do gene p53 (LANE et al., 1992; BRACHMANN, 2004). Esta alteração parece estar envolvida com a carcinogênese do câncer gástrico, porém não de modo independente (RHYU et al., 1994). Alguns autores (SAFATLE-RIBEIRO et al., 1996; IGARASHI et al., 1999; FORONES et al., 2005) sugerem sua relação com eventos

tardios do câncer gástrico. Por outro lado, o Ki-67 é um marcador de proliferação celular, parece estar relacionado com prognóstico do câncer gástrico (YOUNG et al., 1987). Altas taxas do marcador Ki-67 associado com p53 se mostrou como útil indicadores para metástase linfonodal em pacientes com carcinoma gástrico precoce (SASAKI et al. 1999). Assim, como o p53, o marcador de proliferação, Ki-67, estão mais fortemente expressos no câncer gástrico avançado em comparação ao precoce (IGARASHI et al., 1999).

No presente estudo, os marcadores p53 e Ki-67 não se mostraram relacionados com os pacientes com recidiva local. Apresentando incidência de 22,2% em pacientes com o marcador p53 e 38,8% para o marcador Ki-67. Enquanto SASAKI et al. (1999) apresentou cifra global para Ki-67 de 21,9%, com menor incidência em pacientes sem acometimento linfonodal (37,4%). Em contrapartida, a mutação do p53 esteve presente em 75% dos pacientes com acometimento linfonodal. A mutação do p53 pode ocorrer no carcinoma gástrico de zero a 77% (FENOGLIO-PREISER et al., 2003).

Outros marcadores têm sido empregados para o entendimento do comportamento biológico tumoral, destacando-se a expressão de mucinas, através das quais se estabeleceu subclassificação do câncer do tipo diferenciado em fenótipos (TYTGAT et al., 1994; SATO et al., 1996; AJIOKA et al., 1997; ENDOHa et al., 1999;YAO et al., 1999; KABASHIMA et al., 2000). Assim, o câncer do tipo intestinal expressa os fenótipos mucínicos do tipo gástrico, intestinal, gastrointestinal (misto) ou indeterminado (GOTODA et al., 2000; SHIBATA et al., 2003).

Sabe-se que a maioria dos adenocarcinoma diferenciados provém de metaplasia intestinal, apresentando o fenótipo conhecido como intestinal (LAURÉN

et al., 1965; NAKAMURA et al., 1968; ENDOHa et al., 1999). Contudo, alguns têm origem da mucosa gástrica sem metaplasia intestinal e foram denominados como fenótipo gástrico. Alguns estudos mostraram que este fenótipo determina maior potencial de invasão e metástase do que o tipo intestinal, levando a pior prognóstico (KOZEKI et al., 2000; TAJIMA et al., 2001; SHIBATA et al., 2003). Mesmo o câncer com fenótipo gástrico, quando precoce, apresenta comportamento biológico mais agressivo, sendo comparável ao tipo indiferenciado (SHIBATA et al., 2003). O tipo fenotípico misto apresenta agressividade intermediária (KOSEKI et al., 2000; TAJIMA et al., 2001; SHIBATA et al., 2003).

Com o impulso dos resultados conseguidos pelos estudos imunohistoquímicos sobre o câncer gástrico diferenciado, obteve-se melhor entendimento da carcinogênese dos tumores gástricos, notando-se que o adenocarcinoma diferenciado com fenótipo gástrico apresentou resultados semelhantes ao indiferenciado quanto a prognóstico e comportamento biológico do tumor (KOSEKI et al., 2000; TAJIMA et al., 2001; SHIBATA et al., 2003). Assim, alguns autores levantaram a hipótese da progressão tumoral do câncer diferenciado para o indiferenciado (ENDOHb et al., 1999; YOSHINO et al., 1999; KOSEKI et al., 2000). Especularam que o carcinoma diferenciado com fenótipo gástrico progrediria para o carcinoma do tipo indiferenciado através da perda da função da E-caderina e que o comportamento biológico destes tumores seria mais agressivo (ENDOHb et al., 1999).

Observou-se que, durante a progressão tumoral do câncer gástrico precoce para o avançado, a incidência de adenocarcinoma do tipo diferenciado diminui e o tipo indiferenciado aumenta (IKEDA et al., 1994). Dentre as lesões precoces, em particular, aquelas diminutas menores que 5 mm, são do tipo diferenciado em 85%

das vezes e indiferenciado em 15% (MORI et al., 1989). Para os tumores precoces maiores de 5 mm, o tipo diferenciado perfaz de 57% dos casos e o indiferenciado, 43% (HIROTA et al., 1992). Finalmente, nos carcinomas avançados, esta proporção é meio a meio (ENDOH et al., 2000), reforçando a idéia da progressão do câncer gástrico do tipo diferenciado para indiferenciado. O mecanismo que contribui para este fenômeno permanece desconhecido.

Tendo sido demonstrada através da imunohistoquímica a variedade de carcinogênese gástrica. Alguns autores propõem a existência de uma terceira entidade clinicopatológica, o carcinoma misto, pois apresenta elementos glandulares e células isoladas (CARNEIRO et al., 1995; CARNEIRO et al., 1997; KOZUKI et al., 2002; CARNEIRO et al., 2003). Esta entidade apresenta características clinicopatológicas e eventos moleculares diferentes na sua carcinogênese e no comportamento biológico (KOZUKI et al., 2002). Estes autores demonstraram que o carcinoma misto tende a ser glandular em seu componente intramucoso e crescer difusamente pela parede gástrica (KOZUKI et al., 2002; CARNEIRO et al., 2003). Além do mais, tendem a apresentar maior invasão venosa e prognóstico significativamente pior (CARNEIRO et al., 1995; AMADO et al., 1998). Apresentam também dois tipos diferentes de metástases, aquela peritoneal composta principamente de células isoladas, e a metástase hepática, normalmente do tipo glandular-intestinal (CARNEIRO et al., 2003).

Outros autores consideram o fenótipo gástrico do câncer gástrico diferenciado como fator independente para metástase linfonodal, mesmo quando precoce (KABASHIMA et al., 2000; KOSEKI et al., 2000; TAJIMA et al., 2001).

Não há consenso quanto à natureza ou ao número de anticorpos que devem ser usados para definir o fenótipo mucínico do carcinoma gástrico, ou qual a porcentagem de células tumorais positivas em cada secção de coloração deve ser adotada (KATSUYAMA et al., 1978; AMADO et al., 1998; NAMIENO et al., 1998; KABASHIMA et al., 2000; KOSEKI et al., 2000; LEE et al., 2001; TAJIMA et al., 2001; SHIMADA et al., 2001; TSUKAHITA et al., 2001; PINTO-DAVID et al., 2002; KAWACHI et al., 2003; WATANABE et al., 2003). SHIROSITA et al. (2004) sugerem que para se definir o fenótipo gástrico, as mucinas MUC5AC ou HGM (human gastric mucin) que estão presentes em células foveolares e MUC6 presentes nas células da glândula pilórica, compõem o painel mínimo a ser investigado. Enquanto, para o tipo fenótipo intestinal, as mucinas MUC2 e CD10 são indispensáveis.

No presente estudo, pacientes com câncer gástrico intramucoso do tipo diferenciado, ressecado através de mucosectomia gástrica, com margens ressecadas livres e sem comprometimento linfático ou venoso apresentaram recidiva de 22,7%, enquanto, na literatura, encontram-se cifras de 2,8% a 5,7% para o câncer gástrico intramucoso. Esta taxa de recidiva motivou a realização de estudo imunohistoquímico desses casos. Foi encontrado, no grupo com recidiva, dois quinto (40%) dos pacientes com ressecção em dois fragmentos, o restante foi *en bloc*. Desses ainda, a camada M3 foi acometida em 3/5 (60%) casos, entretanto, o único fator preditivo para recidiva local foi o fenótipo misto, demonstrando a utilidade do estudo imunohistoquímico na seleção dos pacientes para a ressecção endoscópica.

SHIBATA et al. (2003) fizeram uso das mucinas, MUC2, HGM (*Human Gastric Mucin*) e CD10, para classificar 50 casos de câncer gástrico precoce diferenciado, sendo achado o fenótipo gástrico em 11 (22%), intestinal em 12 (24%),

misto em 20 (40%) e nulo em sete (14%) casos. Neste estudo, foi calculada a taxa de índice de aptose sobre o índice de proliferação e se mostrou que o fenótipo gástrico possuía as menores taxas com diferença significativa em relação aos outros fenótipos. Seriam estas cifras comparáveis a taxas entre o câncer indiferenciado e diferenciado (SHINOHARA et al., 1996; IKEDA et al. 1998).

Reforçando a idéia, KABASHIMA et al. (2002) fizeram uso dos marcadores CD10, MUC2, HGM e Concanavalina A, detectando fenótipo gástrico em tumores diferenciados intramucosos em 36,8% (42/114) dos casos. Utilizando também marcadores para matrix de metaloproteinases, demonstraram maior tendência deste fenótipo em apresentar degradação da matrix extracelular, que são considerados importantes na facilitação da invasão e disseminação tumoral (MURRY et al., 1996; DAVID et al., 1994).

Assim, ambos autores chamaram a atenção para o uso da imunohistoquímica para a classificação do câncer gástrico diferenciado, pois com a coloração habitual de hematoxilina e eosina, não observaram diferença dos fenótipos, sendo esta observação corroborada pelos achados de revisão dos patologistas do presente estudo. Importante ressaltar que há estudos que demonstraram comportamento biológico do tumor com fenótipo gástrico mais agressivo e comparável ao tumor indiferenciado (TAJIMA et al.,; 2001KABASHIMA et al., 2002; SHIBATA et al., 2003).

Em nosso estudo, apresentou-se o fenótipo misto com comportamento biológico mais agressivo, no qual dos cinco casos recidivados, três (60%) foram submetidos à operação de gastrectomia, enquanto os dois restantes foram submetidos à nova ressecção endoscópica. Corroborando com nossos dados, TAJIMA et al. (2006) analisaram 63 adenomas gástricos e 133 cânceres gástricos precoces

diferenciados, com 24 casos de adenomas gástricos com seguimento de dois anos, apresentando cinco casos com transformação maligna associados com os tipos fenótipos gástrico e misto, fazendo uso dos marcadores de mucina *HGM* (*Human Gastric Mucin*), MUC6, MUC2 e CD10.

A pesquisa ora apresentada sugere que o perfil imunohistoquímico de expressão de mucinas é fator prognóstico após ressecção endoscópica do câncer gástrico precoce intramucoso difereciado e, portanto, deve fazer parte da seleção dos casos enviados a esta terapêutica minimamente invasiva. Por outro lado, para os casos já submetidos a este tratamento, em que o perfil imunohistoquímico de expressão de mucina foi possível apenas após o tratamento endoscópico, o achado do fenótipo misto indica a necessidade de terapêutica complementar provavelmente, cirúrgica, dado o alto risco de recidiva local a ele associado.

6. CONCLUSÕES

- O tipo histológico adenocarcinoma indiferenciado ou difuso de Laurén do câncer gástrico é fator de risco independente para ressecção incompleta da lesão;

- O maior número de fragmentos ressecados também é fator de risco independente para ressecção incompleta da lesão;

- Em relação a todas as mucosectomias realizadas, quanto maior o tamanho da lesão maior o número de fragmentos ressecados;

- A técnica de mucosectomia do tipo "cap" se associa a maior chance de recidiva local do câncer gástrico, pela limitação do tamanho permitido pela técnica utilizada para ressecção;

- O adenocarcinoma gástrico com expressão das mucinas para o fenótipo tipo misto se mostrou como fator de risco para recidiva local, nos casos em que os critérios para alta probabilidade de cura foram respeitados.

7. ANEXOS

DADOS DEMOGRÁFICOS

NOME	RAÇA	IDADE	SEXO
MBS	B	65	F
SVC	B	79	M
DMS	B	102	M
LA	N	68	M
ARS	B	77	F
MEU	N	84	F
MZJR	B	59	F
EG	B	88	M
ABCS	B	59	F
FCF	B	63	M
KS	A	87	F
LLO	B	86	F
AM	B	86	F
DF	B	70	M
SCR	N	40	F
MEA	B	68	F
FF	B	76	F
MPL	B	73	M
SMS	B	72	M
KFG	A	50	F
JRTF	B	68	M
JRTF		68	M
TRM	B	81	F
DN	B	72	M
YN	A	63	F
CP	B	77	M
ELA	B	50	M
WM	B	73	M
NS	B	67	F
AAS	B	55	M
FS	B	42	F
SRF	B	55	M
MN	B	74	M
LFC	B	81	M
MD	A	63	F
LSG	N	78	F
MPB	B	76	M
SHU	A	80	F
YO	A	78	F
HG	A	62	M
OFM	B	68	M
OTA	B	75	F
JSY	A	63	M
JMS	B	75	M
MCAS	B	55	F
MFS	B	71	F
OGSN	B	21	M

DADOS ENDOSCÓPICOS

NOME	TÉCNICA	LOCALIZAÇÃO	LOCALIZAÇÃO	TIPO DE LESÃO	USG
MBS	STRIP	PEQUENA CURVATURA	INFERIOR	II a	NÃO
SVC	STRIP	PEQUENA CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
DMS	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
LA	STRIP	PEQUENA CURVATURA	INFERIOR	II a	NÃO
ARS	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
MEU	STRIP	POSTERIOR	SUPERIOR	II a + II c	NÃO
MZJR	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
EG	STRIP	PEQUENA CURVATURA	SUPERIOR	II a	IM
ABCS	CAP (L)	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
FCF	CAP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	SM
KS	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
LLO	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a + II c	NÃO
AM	STRIP	ANTERIOR	INFERIOR	II a + II c	NÃO
DF	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	SM
SCR	STRIP	POSTERIOR	SUPERIOR	II a	SM
MEA	STRIP	PEQUENA CURVATURA	INFERIOR	II a	NÃO
FF	CAP (L)	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II c	SM
MPL	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
SMS	STRIP	POSTERIOR	SUPERIOR	II c	NÃO
KFG	CAP	PEQUENA CURVATURA	SUPERIOR	II a + II c	NÃO
JRTF	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	IM
JRTF	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II a	IM
TRM	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
DN	CAP	PEQUENA CURVATURA	SUPERIOR	II a + II c	NÃO
YN	CAP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
CP	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II c	NÃO
ELA	STRIP	POSTERIOR	INFERIOR	II a	NÃO
WM	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a + II c	SM
NS	STRIP	PEQUENA CURVATURA	MÉDIO	II a	IM
AAS	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
FS	IT Knife	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II c	NÃO
SRF	IT Knife	PEQUENA CURVATURA	INFERIOR	II a	IM
MN	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a	SM
LFC	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a + II c	IM
MD	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II a + II c	IM
LSG	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
MPB	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a + II c	NÃO
SHU	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
YO	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II c	NÃO
HG	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II a	NÃO
OFM	STRIP	POSTERIOR	INFERIOR	II a	NÃO
OTA	STRIP	ANTERIOR	INFERIOR	II c	IM
JSY	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	IM
JMS	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II a	IM
MCAS	CAP	ANTERIOR	INFERIOR	II a	SM
MFS	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II c	IM
OGSN	STRIP	GRANDE CURVATURA	SUPERIOR	IIa	IM

DADOS HISTOPATOLÓGICOS

NOME	TIPO HISTOLOGICO	N. FRAG	TAMANHO	N. DE INVASÃO
MBS	BEM DIFERENCIADO	1	4,5 cm	M3
SVC	BEM DIFERENCIADO	2	2,3 cm	M3
DMS	BEM DIFERENCIADO	5	2,4 cm	M3
LA	BEM DIFERENCIADO	1	0,7 cm	M2
ARS	BEM DIFERENCIADO	2	2,0 cm	M3
MEU	INDIFERENCIADO	2	2,0 cm	M3
MZJR	BEM DIFERENCIADO	1	0,8 cm	M2
EG	INDIFERENCIADO	1	0,5 cm	SM 2
ABCS	INDIFERENCIADO	1	0,7 cm	SM1
FCF	BEM DIFERENCIADO	3	1,5 cm	SM1
KS	BEM DIFERENCIADO	4	0,6 cm	M2
LLO	INDIFERENCIADO	2	1,5 cm	M3
AM	INDIFERENCIADO	2	1,9 cm	M3
DF	INDIFERENCIADO	1	1,4 cm	SM1
SCR	INDIFERENCIADO	4	1,3 cm	SM1
MEA	INDIFERENCIADO	1	0,8 cm	SM 2
FF	INDIFERENCIADO	2	1,2 cm	M3
MPL	INDIFERENCIADO	5	1,5 cm	M3
SMS	BEM DIFERENCIADO	1	1,2 cm	M2
KFG	BEM DIFERENCIADO	1	1,0 cm	M3
JRTF	BEM DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M2
JRTF	BEM DIFERENCIADO	1	1,0 cm	M2
TRM	BEM DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
DN	BEM DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
YN	BEM DIFERENCIADO	2	0,8 cm	M2
CP	INDIFERENCIADO	4	1,5 cm	SM 1
ELA	INDIFERENCIADO	4	2,5 cm	M3
WM	INDIFERENCIADO	1	1,5 cm	SM2
NS	BEM DIFERENCIADO	1	1,2 cm	M1
AAS	BEM DIFERENCIADO	2	2,7 cm	M3
FS	INDIFERENCIADO	1	0,8 cm	M3
SRF	INDIFERENCIADO	1	1,6 cm	SM 1
MN	INDIFERENCIADO	6	2,2 cm	SM 1
LFC	BEM DIFERENCIADO	1	1,2 cm	M3
MD	BEM DIFERENCIADO	2	1,0 cm	M2
LSG	BEM DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
MPB	BEM DIFERENCIADO	1	2,0 cm	M2
SHU	BEM DIFERENCIADO	1	1,3 cm	M1
YO	BEM DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M1
HG	INDIFERENCIADO	1	2,0 cm	M1
OFM	INDIFERENCIADO	2	1,5 cm	SM 1
OTA	BEM DIFERENCIADO	2	1,0 cm	M2
JSY	BEM DIFERENCIADO	2	0,6 cm	M2
JMS	BEM DIFERENCIADO	5	2,0 cm	M3
MCAS	INDIFERENCIADO	1	0,7 cm	SM1
MFS	INDIFERENCIADO	2	2,0 cm	SM1
OGSN	BEM DIFERENCIADO	4	2,5 cm	M1

SEGUIMENTO

NOME	EVOLUÇÃO	RECIDIVA	MESES	ÓBITO
MBS	Ressecção incompleta		56	
SVC	Ressecção incompleta		64	
DMS	Sem recidiva		24	24
LA	Sem recidiva		50	
ARS	Sem recidiva		36	
MEU	Ressecção incompleta		58	
MZJR	Sem recidiva		40	
EG	Ressecção incompleta		6	6
ABCS	Recidiva	2	136	
FCF	Recidiva	1	99	
KS	Sem recidiva		97	
LLO	Ressecção incompleta		95	
AM	Ressecção incompleta		116	
DF	Recidiva	2	24	24
SCR	Ressecção incompleta		110	
MEA	Sem recidiva		116	
FF	Recidiva	8	128	
MPL	Sem recidiva		113	
SMS	Sem recidiva		117	
KFG	Recidiva	1	6	6
JRTF	Sem recidiva		84	
JRTF	Sem recidiva		84	
TRM	Sem recidiva		93	
DN	Sem recidiva		94	
YN	Recidiva	4	31	
CP	Ressecção incompleta		91	
ELA	Ressecção incompleta		36	36
WM	Sem recidiva		116	
NS	Recidiva	8	115	
AAS	Sem recidiva		30	
FS	Sem recidiva		29	
SRF	Sem recidiva		29	
MN	Sem recidiva		96	
LFC	Recidiva	4 e 13	60	
MD	Recidiva	5	74	
LSG	Sem recidiva		50	
MPB	Sem recidiva		91	
SHU	Sem recidiva		98	
HG	Sem recidiva		74	
OFM	Ressecção incompleta		78	
OTA	Sem recidiva		51	
JSY	Sem recidiva		57	
JMS	Sem recidiva		36	
MCAS	Sem recidiva		14	
MFS	Sem recidiva		13	
OGSN	Ressecção incompleta		43	

SEGUIMENTO – continuação

NOME	SEGUIMENTO
MBS	BGASTRECTOMIA SUBTOTAL + LINFADENECTOMIA DII + BILLROTH I (53-3710-0)
SVC	GASTRECTOMIA SUBTOTAL (46-0851-8)
DMS	
LA	
ARS	
MEU	GASTRECTOMIA TOTAL + COLECTOMIA E (48-2217-0)
MZJR	
EG	RESSECÇÃO EM CUNHA (18-2289-6)
ABCS	GASTRECTOMIA SUBTOTAL A BILLROTH I (19-0935-5)
FCF	
KS	
LLO	GASTRECTOMIA SUBTOTAL COM LINFADENECTOMIA A D (GANGLIO 7,9 E 11) + BILLROTH I (35-9655-9)
AM	
DF	GASTRECTOMIA SUBTOTAL BII (pré por úlceras)
SCR	GASTRECTOMIA SUBTOTAL BII
MEA	
FF	GASTRECTOMIA SUBTOTAL BII
MPL	
SMS	
KFG	
JRTF	
JRTF	
TRM	
DN	
YN	GASTRECTOMIA SUBTOTAL (pT1 N0) - IIa Intramucosa parede posterior, próximo a incisura.

SEGUIMENTO – continuação

NOME	SEGUIMENTO
CP	
ELA	
WM	
NS	GASTRECTOMIA SUBTOTAL
AAS	
FS	
SRF	
MN	
LFC	Nova mucosectomia 27/04/01 (Strip) com 3mm (U02-001864)
	Nova Mucosectomia 16/01/02 (Strip) com 5 mm parede anterior transição corpo antro (U02-001864)
MD	Nova mucosectomia 27/03/00 (Strip) 4 mm mesmo local (U000-010742) intramucoso
LSG	
MPB	
SHU	
NOME	
HG	
OFM	
OTA	
JSY	
JMS	
MCAS	
MFS	
OGSN	

DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM CRITÉRIOS DE CURA

NOME	**IDADE**	**SEXO**	**RAÇA**
DMS	102	M	B
LA	68	M	N
ARS	77	F	B
MZJR	59	F	B
KS	87	F	A
SMS	72	M	B
KFG	50	F	A
TRM	81	F	B
DN	72	M	B
YN	63	F	A
NS	67	F	B
AAS	55	M	B
LFC	81	M	B
MD	63	F	A
LSG	78	F	N
MPB	76	M	B
SHU	80	F	A
OTA	75	F	B

DADOS ENDOSCÓPICOS DOS PACIENTES COM CRITÉRIOS DE CURA

NOME	**TÉCNICA**	**LOCALIZAÇÃO**	**LOCALIZAÇÃO**	**TIPO DE LESÃO**	**USG**
DMS	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
LA	STRIP	PEQUENA CURVATURA	INFERIOR	II a	NÃO
ARS	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
MZJR	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
KS	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
SMS	STRIP	POSTERIOR	SUPERIOR	II c	NÃO
KFG	CAP	PEQUENA CURVATURA	SUPERIOR	II a + II c	NÃO
TRM	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
DN	CAP	PEQUENA CURVATURA	SUPERIOR	II a + II c	NÃO
YN	CAP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
NS	STRIP	PEQUENA CURVATURA	MÉDIO	II a	IM
AAS	STRIP	ANTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
LFC	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a + II c	IM
MD	STRIP	GRANDE CURVATURA	INFERIOR	II a + II c	IM
LSG	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a	NÃO
MPB	STRIP	GRANDE CURVATURA	MÉDIO	II a + II c	NÃO
SHU	STRIP	POSTERIOR	MÉDIO	II a	NÃO
OTA	STRIP	ANTERIOR	INFERIOR	II c	IM

DADOS HISTOPATOLÓGICOS DOS PACIENTES COM CRITÉRIOS DE CURA

NOME	TIPO HISTOLOGICO	N. FRAG	TAMANHO	N. DE INVASÃO
DMS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	5	2,4 cm	M3
LA	ADENOMA COM ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	0,7 cm	M2
ARS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	2	2,0 cm	M3
MZJR	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	0,8 cm	M2
KS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	4	0,6 cm	M2
SMS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,2 cm	M2
KFG	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,0 cm	M3
TRM	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
DN	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
YN	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	2	0,8 cm	M2
NS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	0,6 cm	M1
AAS	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	2	2,7 cm	M3
LFC	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,2 cm	M3
MD	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	2	1,0 cm	M2
LSG	ADENOMA COM ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,5 cm	M3
MPB	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	2,0 cm	M2
SHU	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	1	1,3 cm	M1
OTA	ADENOCARCINOMA DIFERENCIADO	2	1,0 cm	M2

SEGUIMENTO DOS PACIENTES COM CRITÉRIOS DE CURA

NOME	EVOLUÇÃO	RECIDIVA	MESES	SEGUIMENTO
DMS	Sem recidiva		24	
LA	Sem recidiva		50	Margem lateral comprometida
ARS	Sem recidiva		36	Neo de Reto Baixo (QT +RDT)
MZJR	Sem recidiva		40	
KS	Sem recidiva		97	
SMS	Sem recidiva		117	
KFG	Recidiva	1	6	Operada + Óbito(6meses)
TRM	Sem recidiva		93	
DN	Sem recidiva		94	
YN	Recidiva	4	31	GASTRECTOMIA SUBTOTAL (pT1 N0) - IIa Intramucosa parede posterior, próximo a incisura.
NS	Recidiva	8	115	GASTRECTOMIA SUBTOTAL
AAS	Sem recidiva		30	
LFC	Recidiva	4 e 13	60	Nova mucosectomia 27/04/01 (Strip) com 3mm (U02-001864)
				Nova Mucosectomia 16/01/02 (Strip) com 5 mm parede anterior transição corpo antro (U02-001864)
MD	Recidiva	5	74	Nova mucosectomia 27/03/00 (Strip) 4 mm mesmo local (U000-010742) intramucoso
LSG	Sem recidiva		50	Margens proximais e laterais comprometidas - Cauterização com APC (31/10/01 e 21/11/01)
MPB	Sem recidiva		91	
SHU	Sem recidiva		98	
OTA	Sem recidiva		51	

DADOS IMUNOHISTOQUÍMICOS DOS

PACIENTES COM CRITÉRIOS DE CURA

NOME	TIPO IMUNOHISTOQUIMICO	Muc2	Muc5	CD-10	p53	Ki-67
DMS	GÁSTRICO	0	3	2	2	0
LA	INTESTINAL	2	0	1	0	0
ARS	INTESTINAL	3	0	1	0	2
MZJR	INTESTINAL	3	0	1	0	0
KS	INTESTINAL	4	0	1	0	0
SMS	GÁSTRICO	0	3	2	0	0
KFG	MISTO	2	3	1	2	0
TRM	INTESTINAL	1	0	1	0	0
DN	INTESTINAL	3	0	1	0	0
YN	MISTO	2	3	1	0	0
NS	MISTO	1	3	1	0	0
AAS	INTESTINAL	1	0	1	0	2
LFC	MISTO	2	3	1	3	3
MD	INTESTINAL	2	0	1	0	2
LSG	INTESTINAL	4	0	1	0	0
MPB	INTESTINAL	0	0	1	0	1
SHU	INDETERMINADO	1	1	2	0	3
OTA	INTESTINAL	2	0	1	1	3

8. REFERÊNCIAS

Adachi Y, Yasuda K, Inomata M, Sato K, Shiraishi N, Kitano S. Pathology and Prognosis of Gastric Carcinoma: well versus poorly differentiated type. Cancer 2000;89;1418-24.

Ajioka Y, Watanabe H, Jass JR. MUC1 and MUC2 mucin in flat and polypoid colorectal adenomas. J Clin Pathol 1997; 50:417-21.

Akiyama M, Ota M, Nakajima H, Yamagata K, Munataka A. Endoscopic mucosal resection of gastric neoplasms using a ligating device. Gastrointest Endosc 1997;45:182-86.

Amado M, Carneiro F, Seixas M, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Dimeric sialyl-Le(x) expression in gastric carcinoma correlates with venous invasion and poor outcome. Gastroenterology 1998;114:462-70.

Barnard NJ, Hall PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferative index in breast carcinoma determined in situ by Ki-67 immunostainig and its relationship to clinical and pathological variables. J Pathol 1987;152:287-95.

Bouck N. p53 and angionenesis. Biochim Biophys Acta 1996;1287:63-6.

Brachmann RK. p53 mutants: the achilles' heel of human cancers? Cell Cycle 2004;3:1030-4.

Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: Its use in histopathology. Invited review. Histopathology 1990;17:489-503.

Carneiro F, Seixas M, Sobrinho-Simões M. New elements for an updated classification of the carcinomas of the stomach. Pathol Res Pract 1995;191:571-84.

Carneiro F. Classification of gastric carcinomas. Curr Diag Pathol 1997;4:51-9.

Carneiro F, Machado JC, Nabais S, Santos CM, Sobrinho-Simões M. Mixed carcinoma of the stomach: a clinicopathological entity [Correspondence]. Histopathology 2003;43:94-100.

Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, Gerdes J. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. J Pathol 1992;168:357-63.

Chonan Am, Mochizuki F, Andou M, Atsumi M, Mishima T, Fujita N, Yuki T, Ishida K. EMR of EGC – Usefulness of Aspiration EMR using a cap-fitted scope. Digest Endosc 1998; 10:31-6.

Clarke AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. Nature 1993;362:849-52.

Cohen MM, Zoeter A, Loar C. Survival following surgical treatment of gastric cancer. Surg Endosc 1994; 8:862-66

Corella D, Guillen M. Dietary habits and epidemiology of gastric carcinoma. Hepatogastroenterology 2001;48:1537-43.

Cressey R, Pimpa S, Tontrong W, Watananupong O, LeartprasertsukeN. Expression of cyclooxygenasis-2 in colorectal adenocarcinoma is associated with p53 accumulation and hdm 2 overexpression. Cancer Letters 2006;233:232-9.

D´Angelica M, Gonen M, Brennan MF, Turnbull AD, Bains M, Karpeh MS. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. Ann Surg 2004;240:808-16.

Danesi DT, Spano M, Fabiano A, Altavista P,Pasqualetti P, Toscano MG, Antonini F, Catalano P, Mecozzi A, Picconi A, Daffina A, Cucchiara G. Flow cyometric DNA poidy, P53, PCNA, and c-erbB-2 protein expression as predictors of survival in surgically resected gastriccancer patients. Cytometry 2000;42:27-34.

David L, Nesland J, Holm L,Sobrinho-Simoes M. Expression of laminin, collagen IV, fibronectin and type IV collagenase in gastric carcinoma. Cancer 1994;32:31-9.

Deyhle P, Largiader F, Jenny S. A method for endoscopic eletroresection of sessile colonic polyps. Endoscopy 1973;5:38-40.

Dulic V, Kaufmann WK, Wilson SJ, Tlsty TD, Lees E, Harper JW, Elledge SJ, Reed SI. p53-dependent inhibition of cyclin-depentent kinase activities in human fibroblats during radiation-induced G1 arrest. Cell 1994;76:1013-23.

Eckardt VF, Giebler W, Kanzler G, Remmele W, Berhard A. Clinical and Morphological Characteristics of Early Gastric Cancer. A Case-Control Study. Gastroenterology 1999; 98:708-14

Egashira Y, Shimoda T, Ikegami M. Mucin histochemical análisis of minute gastric differentiated adenocarcinoma. Pathol Int 1999;49:55-61.

Eguchi T, Gotoda T, Oda I Hamanaka H, Hasuike N, Saito D. Is endoscopic one-piece mucosal resection essential for early gastric cancer? Dig Endosc 2003;15:113-16.

Elledge SJ, Harper JW. Cdk inhibitors: on threshold of checkpoints and development. Curr Opin Cell Biol 1994;6:847-52.

Endoh a Y, Tamura G, Motoyama T, Ajioka Y, Motoyama T. Well-differentiated adenocarcinoma mimicking complete-type intestinal metaplasia in the stomach. Hum Pathol 1999;30:826-32.

Endoh b Y, Tamura G, Watanabe H, Ajioka Y,Motoyama T. The common 18-base pair deletion at codons 418-423 of the E-cadherin gene in differentiated-type adenocarcinomas and intramucosal precancerous lesions of the stomach with the features of gastric foveolar epithelium. J Pathol 1999;189:201-6.

Endoh, Tamura G, Watanabe H, Motoyama T. Author´s reply. J Pathol 2000;191:466-70.

Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Stemmermann GN, Noffsinger A. TP53 and gastric carcinoma: A review. Hum Mutat 2003;21:258-70.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Lyon: IARC Press; 2004.

Fielding JWL, Ellis DJ, Jones BG, Paterson J, Powell DJ, Waterhouse JAH, Brookes VS. Natural History of the “Early” Gastric Cancer results of a 10-year regional survey. BMJ 1980; 281:965-67.

Finlay CA, Hinds PW, Levine A J. The p 53 proto-oncogene can act as a supressor of transformation. Cell 1989;57:1083-93.

Flejou JF, Gratio V, Muzeau F, Hamelin R. p53 abnormalities in adenocarcinoma of the gastric cárdia and antrum. Mol Pathol 1999;52:263-8.

Flejou JF. Barrett’s oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer. Gut 2005; 54(Suppl 1): i6-12.

Forones NM, Carvalho AP, Giannotti-Filho O, Lourenco LG, Oshima CT. Cell proliferation and apoptosis in gastric câncer and intestinal metaplasia. Arq Gastroenterol 2005;42:30-4.

Fritsche M, Haessler C, Brandner G. Induction of nuclear accumulation of the tumor-suppressor protein p53 by DNA- damaging agents. Oncogene 1993;8:307-18.

Fujino M, Morozumi A, Kojima Y, Nakamura T, Sato T, Ohtsuka H, Ohtaka M, Ochiai M. Gastric carcinoma an endoscopically curable disease. Bildgebung 1994;61:38-40.

Gama-Rodrigues J, Bresciani C, Matsuda M, et al. Trends of Distribution of Early Gastric Cancer of the Stomach Wall. Study of a 104 case series in a 24 years period. 1st International Gastric Cancer Congress 1995, 325-37. Monduzzi Editore S.p.A. – Bologna (Italy)

Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes. Annu Rev Physiol 1995;57:607-34.

Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schawab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 1984;133:1710-5.

Gleeson CM, Sloan JM, McManus DT, Maxwell P, Arthur K, McGuigan JA, Ritchie AJ, Russell SHE. Comparison of p53 and DNA content abnormalities in adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia. Br J Cancer 1998;77:277-86.

Glickman JN, Shahsafaei A, Odze RD. Mucin Core Peptide Expression Can Help Differentiate Barrett's Esophagus From Intestinal Metaplasia of the Stomach. J Surg Pathol 2003; 27; 10: 1357-65.

Gotoda T, Kondo H, Ono H, Saito Y, Yamaguchi H, Saito D, Yokota T. A new endoscopic mucosal resection (EMR) procedure using an insulation-tipped diathermic (IT) knife ofr rectal flat lesions. Gastrointest. Endosc 1999;50:560-3.

Gotoda T, Yanagisawa A, Sasako M, Ono H, Nakanishi Y, Shimoda T, Kato Y. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. Gastric Cancer 2000;3:219-25.

Gotoda T, Yamamoto H, Soetikno RM. Endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer. J Gastroenterol 2006; 41:929–942.

Grosch S, Schilling K, Janssen A, Maier TJ, Niederberger E, Geisslinger G. Induction of apoptosis by R- flurbiprofen in human colon carcinoma cells: involvement of p-53. Biochem Pharmacol 2005;69:831-9.

Hall PA, Levison DA. Review: Assessment of cell proliferation in histological material. J Clin Pathol 1990;43:184-92.Hamada T, Kondo K. Endoscopic mucosal resection for early gastric cancer. Int Med 1997;36:131.

Hamada T, Kondo K. Endoscopic mucosal resection for early gastric cancer. Int Med 1997;36:131.

Hamanaka H, Gotoda T. Endoscopic Resection for early gastric cancer and future expectations. Dig Endosc 2005;17:275-85.

Han JA, Kim JL, Ongusaha PP, Hwang DH, Ballou LR, Mahale A, Aaronson SA, Lee SW. p53-mediated induction of Cox-2 counteracts p53- or genotoxic stress-induced apoptosis. Embo J 2002;21:5635-44.

Hashimoto CL, Sakai P, Kuga R, Maruta LM. [Mucosectomia Endoscópica]. Sakai P, Ishioka S, Maluf-Filho, F (eds.) In: Tratado de Endoscopia Digestiva Diagnóstica e Terapêutica – Volume II – Estômago e Duodeno. São Paulo: Ed. Atheneu, 61-71, 2001.

Hiki Y, Shimano H, Mieno H, Sakakibara Y, Kobayashi N, Saigenji K. Modified treatment of early gastric cancer: evaluation of endoscopic treatment off early gastric cancers with respect to treatment indication groups. World J Surg 1995;19:517-22.

Hiraga Y, Tanaka S, Haruma K. Follow-up study on local residual recurrence and prognosis of early gastric cancers resected endoscopically. Gastroenterol Endosc (in Japanese, with English figure legends, table and summary) 1998;40:2102-12.

Hirota T, Ming SC. Early gastric carcinoma. In: Ming SC, Goldman H, eds. Pathology of the Gastrointestinal Tract, 1st edn. WB Saunders, Philadelphia, 1992;570-83.

Hisamichi S. Screening for Gastric Cancer. World J Surg 1989;13:31-7.

Hofseth LJ, Hussain SP, Harris CC. p53: 25 years after its discovery. Trends Pharmacol Sci 2004;25:177-81.

Hollstein MC, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p 53 mutations in human cancers. Science 1991;253:49-53.

Hosokawa K, Yoshida S. Recent advances in endoscopic mucosal resection of early gastric cancer. Jpn. J Cancer Chemother 1998:25;483 (English abstract).

Hull MJ, Mino-Kenudson M, Nishioka NS, Ban S,Sepehr A, Puricelli W et al. Endoscopic mucosal resection: an improved diagnostic procedure for early gastroesophageal epithelial neoplasms. Am J Surg Pathol 2006;30:114-8.

Igarashi N, Takahashi M, Ohkubo M, Omata K, Ilda R, Fujimoto S. Predictive value of Ki-67, p53 protein, and DNA content in the diagnosis of gastric carcinoma. Cancer 1999;86:1449-54.

Ikeda M, Shomori K, Endo K, Makino T, Matsuura T, Ito H. Frequent occurrence of apoptosis in an earlyh event in the oncogenesis of human gastric carcinoma. Virchows Arch 1998;432:43-7.

Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, Haraguchi Y, Saku M, Sugimachi K. Increased incidence of undifferentiated type of gastric cancer with tumor progression in 912 patients with early gastric cancer and 1245 with advanced gastric cancer. Cancer 1994; 73:2459-63.

Inoue H, Takeshita K, Hori H, Muraoka Y, Yoneshima H, Endo M. Endoscopic mucosal resection with a cap-fitted panendoscope for esophagus stomach, and colon mucosal lesions. Gastrointest Endosc 1993; 39: 58-62.

Inoue H, Takeshita K, Hori H, Muraoka Y, Endo M. Endoscopic mucosal resection with a cap-fitted panendoscopyu for esophagus, stomach and colon mucosal lesions. Gastrointest Endosc 1993; 39:58-62.

Inoue H, Igari T, Nishikage T, Ami K, Yoshida T, Iwai T. Endoscopy 2000;32:439-43.

Inoue K, Tobe T, Kan N, Nio Y, Sakai M, Takeuchi E, Sugiyama T. Problems in the definition and treatment of early gastric cancer. Br J Surg 1991;78:818-21.

Isozaki H, Tanaka N, Okajuma K. General and specific prognostic factors of early gastric carcinoma treated with curative surgery. Hepatogastroenterology 1999;46:1800-8.

Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcer. Kanehara Publishers, Tokyo: 2nd English Edn. Gastric Cancer 1998;1:10-24.

Japanese Research Society for Gastric Cancer. In: Nishi M, Omori Y, Miwa K, eds. Japanese Classification of Gastric Carcinoma, 1 st edn. Tokyo: Kanehara & Co. Ltd; 1.995.

Jass JR, Sobin LH, Watanabe H. The World Health Organization's histologic classification of gastrointestinal tumors. A commentary on the second edition. Cancer 1990;66:2162-7.

Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, Grant A, Qureshi S, Lane DP, Cuschieri A. Expression of p53 protein in normal, dysplastic and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. J Pathol 1993;170:279-83.

Kabashima A, Yao T, Shugimachi K, Tsuneyoshi M. Gastric and intestinal phenotypic expression in the carcinomas and background mucosa of multiple early gastric carcinomas. Histopathology 2000; 37:513-22.

Kabashima A, Yao T, Sugimachi K, Tsuneyoshi M. Relationship between biologic behavior and phenotypic expression in intramucosal gastric carcinomas. Hum Pathol 2002;33:80-6.

Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. Cancer Res 1991;51:6304-11.

Katsuyama T & Spicer SS. Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. J Histochem Cytochem 1978;26:233-50.

Kawachi H, Takizawa T, Eishi Y, Shimizu S, Kumagai J, Funata N, Koike M. Absence of either gastric or intestinal phenotype in microscopic differentiated gastric carcinomas. J Pathol 2003;199:436-46.

Kim JP, Hur YS, Yang HK. Lymph node metastasis as a significant prognostic factor in early gastric cancer: Analysis of 1,136 early gastric cancers. Ann Surg Oncol 1995;2:308-13.

Kobayashi T, Totoda T, Tamakawa K, Ueda H, Kakizoe T. Magnetic anchor for more effective endoscopic mucosal resection. Jpn J Clin Oncol 2004;34:118-23.32

Kondo H, Gotoda T, Ono H, Oda I, Kozu T, Fujishiro M, Saito D, Yoshida S. Percutaneous traction-assisted EMR by using an insulation-tipped electrosurgical knife for early stage gastric cancer. Gastrointest Endosc 2004;59:284-8.

Kofuji K, Takeda J, Toyonaga A, Yoshihara S, Tanaka Y, Ohta J, Aoyagi K, Yano S, Kodama I, Shirouzu K. Early gastric cancer and lymph node metastasis. Kurume Med J 1997;44:157-64.

Kojima T, Parra-Blanco A, Takakhashi H, Fujita R. Outcome of endoscopic mucosal resection of early gastric cancer: review of the Japanese literature. Gastrointest endosc 1998;448:550-55.

Korenaga D, Orita H, Maekawa A, Maruoka A, Sakai K, Ikeda T, Sugimachi K. Pathological appearrance of stomach after endoscopic mucosal resection for early gastric cancer. Br J Surg 1997;84:1563-6.

Koseki K, Takizawa T, Koike M, Ito M, Nihei Z, Sugihara K. Distinction of differentiated Type Early Gasric Carcinoma With Gastric Type Mucin Expression. Cancer 2000; 89:724-32.

Kozuki T, Yao T, Nakamura S, Matsumoto T, Tsuneyoshi M. Differences in p53 and cadherin-catenin complex expression between histological subtypes in diffusely infiltrating gastric carcinoma. Histopathology 2002;41:56-64.

Kudo S, Tamura S, Nakajima T, Yamano H, Kusaka H, Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy. Gastrointest Endosc 1996; 44:8-14.

Kunisaki C, Shimada H, Takahashi M, Ookubo K, Moriwaki Y, Akiyama H, Nomura M. Prognostic factors in early gasric cancer. Hepatogastroenterology 2001;48:294-8.

Kurihara N, Kubota T, Otani Y, Ohgami M, Kumai K, Sugihara H, Kitajima M. Lymph node metastasis of early gastric cancer with submucosal invasion. Br J Surg 1998;85:835-9

Kuwano H, Mochiki E, Asao T, Kato H, Shimura T, Tsutsumi S. Double Endoscopic Intraluminal Operation for Upper Digestive Tract Diseases. Ann Surg 2004;239:22-7.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977;33:159-74.

Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 1979;278:261-3.

Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. Nature 1992;358:15-6.

Lauren P. The two histologic main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma: an attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand 1965;64:31-49.

Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH, MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas. Cancer 2001;92:1427-34.

Lelle RJ. [In situ determination of the Ki-67 growth fraction (Ki-67 GF) in human tumors (studies in breast cancer)] (Article in German). Acta Histochem Suppl 1990;39:109-24.

Liu XH, Kirschenbaum A, Yu K, Yao S, Levine AC. Cyclooxygenase-2 suppresses hypoxia-induced apoptosis via a combination of direct and indirect inhibition of p53 activity in a human prostate cancer cell line. J Biol Chem 2005;280:3817-23.

Ludwig K, Klautke GBernahard J, Weiner R. Minimally invasive and local treatment for mucosal early gastric cancer. Surg Endosc 2005;19:1362-9.

Machado JC, Nogueira AMMF, Carneiro F, Reis CA, Sobrinho-Simoes M. Gastric carcinoma exhibits distinct types of cell differentiation: an immunohistochemical study of trefoil peptides (TFF1 and TFF2) and mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6). J Pathol 2000; 190:437-43.

Maehara Y, Okuyama T, Oshiro T, Baba H, Anai H, Akazawa K, Sugimachi K. Early carcinoma of the stomach. Surg Gynecol Obstet 1993;177:593-7.

Maluf-Filho, F, Sakai P, Gama-Rodrigues J, Moura EGH, Ishioka S, Iriya K, Pinotti HW. Endoscopic treatment of early gastric cancer. A Brazilian experience. Monduzzi Editore. 449-55, 1999. 3rd International Gastric Cancer Congress/Seoul;Korea.

Masuda K, Fuzisaki J, Suzuki H, Okuwaki S, Miyamoto K. Endoscopic mucosal resection using a ligating device (EMRL) (in Japanese). Endoscopic Digestive 1993;5:1215-9.

Ming SC. Gastric carcinoma: a pathobiological classification. Cancer 1977;39:2475-85.

Mishima K, Inoue K, Hayashi Y. Overexpression of extracellular-signal regulated kinases on oral squamous cell carcinoma. Oral Oncol 2002;38:468-74.

Mitsunaga A. Difference between mucosal and submucosal gastric câncer on endoscopic diagnosis. Stomach and Intestine (In Japanese with English abstract.) 1992; 27(10):1151-66.

Miwa K, Miyazaki I, Sahara H, Fujishima T, Yonemura Y, Noguchi M, Falla R. Rationale for extensive lymphadenectomy in early gastric carcinoma. Br J Cancer 1995;72:1518-24.

Miyata M, Yokoyama Y, Okoyama N, Joh T, Seno K, Sasaki M, Ohara H, Nomura T, Kasugai K, Itoh M. What are the appropriate indications for endoscopic mucosal resection for early gastric cancer? Analysis of 256 endoscopically resected lesions. Endoscopy 2000;32:773-8.

Moll UM, Erster S, Zaika A. p53, p63 and p73 – solos, alliances and feuds among family members. Biochim Biophys Acta 2001;1552:47-59.

Mori M, Enjoji M, Sugimachi K. Histopathologoci features of minute and small human gastric adenocarcinomas. Arch Pathol Lab Med 1989;113:926-31.

Muir CS, Harvey JC. Cancer of the Stomach (Review). GI Cancer 1995; 1: 213-25.

Murray G, Duncan M, O'Neil P, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer. Nat Med 1996;2:461-2.

Nagayo T. Microscopical cancer of the stomach: a study on histogenesis of gastric carcinoma. Int J Cancer 1975; 16:52-60.

Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: Its histogenesis and hitological appearances. Jpn J Cancer Res 1968;59:251-8.

Nakamura K. Special features of intestinal metaplasia and its relation to early gastric carcinoma in man: observation by a method in which leucine aminopeptidase activity is used. J Natl Cancer Inst 1978;61:693-702.

Nakamura K, Morisaki T, Sugitani A, Ogawa T, Uchiyama A, Kinukawa N, Tanaka M. An early gastric carcinoma treatment strategy based on analysis of lymph node metastasis. Cancer 1999;85:1500-5.

Namieno T, Koito K, Higashi T, Takahashi M, Yamashita K, Kondo Y. Assenssing the suitability of gastrtic carcinoma for limited resection: Endoscopic prediction of lymph node metastases. World J Surg 1998;22:859-64.

Noda M, Kodama T, Atsumi M, Nakajima M, Sawai N, Kashima K, Pignatelli M. Possibilities and limitations of endoscopic resection for EGC. Endoscopy 1997;28:361-5.

Noda S. Soejima K, Inokuchi K. Clinicolpathological analysis of the intestinal type and diffuse type of gastric carcinoma. Jpn J Surg 1980;10:277-83.

Ohta H, Noguchi Y, Takagi K, Nishi M, Kajitani T, Kato Y. Early gastric carcinoma with special reference to macroscopic classification. Cancer 1987;60:1099-106.

Ono H, Kondo H, Totoda T, Shirao K, Yamaguchi H, Saito D, Hosokawa K, Shimoda T, Yoshida S. Endoscopic mucosal resection for treatment of early gastric cancer. Gut 2001;48:225-9.

Ono H. Endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer. Chin J Dig Dis 2005;6:119-21.

Onodera H, Tokunaga A, Yoshiyuji T, Kiyama T, Kato S, Matsukura N, Masuda G, Tajiri T. Surgical outcome of 483 patients with early gastric cancer: prognosis, postoperative morbidity and mortality, and gastric remnant cancer. Hepatogastroenterology 2004;51:82-5.

Oren M. Relationship of p 53 to the control of apoptotic cell death. Semin Cancer Biol 1994;5:221-7.

Oyama T, Kikuchi Y. Aggressive endoscopic mucosal resection in the upper GI tract – Hook knife EMR method. Minim Invasivce Ther Allied Technol 2002;11:291-5.

Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Storm H. Cancer Incidence in Five Continents, Vol. I to VIII. Lyon: IARC Press; 2005.

Pfeifer GP, Holmquist GP. Mutagenesis in p53 gene. Biochim Biophys Acta 1997;1333:m1-m8.

Pinto-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 behavior of gastric carcinoma. Virchows Arch 2002;440:304-10.

Reid CJ, Harris A. Developmental expression of mucin genes in the human gastrointestinal system. Gut 1998;42: 220-26.

Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolos C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simoes M. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. Cancer Res 1999;59:1003-7.

Rhyu MG, Park W-S, Jung Y-J, Choi S-W, Meltzer SJ. Allelic deletions of MCC/APC and p53 are frequent late events in human gastric carcinogenesis. Gastroenterology 1994;106:1584-8.

Ribeiro U Jr, Safatle-Ribeiro AV. p53 in clinical contexts: yes or not? Arq Gastroenterol 2006;43:6-7.

Ries L, Eisner M, Kosary C, Hankey B, Miller B, Clegg L, Mariotto A, Feuer E, Edwards B. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2002.

Rose BR, Thompson CH, Tattersall MH, O´Brien CJ, Cossart YE. Squamous carcinoma of the head and neck: molecular mechanisms and potential biomarkers Aust N Z J Surg 2000;70:601-6.

Rugge M, Shiao Y-H, Busatto G, Cassaro M, Strobbe C, Russo VM, Leo G, Parenti AR, Scapinelli A, Arslan P, Egarter-Vigl E. The p53 gene in patients under the age of 40 with gastric cancer: mutation rates are low, but are associated with cardiac location. Mol Pathol 2000;53:207-10.

Ruley H.E. p 53 and response to chemotherapy and radiotherapy. Important Adv Oncol 1996:37-56.

Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro U Jr, Gama-Rodrigues JJ, Bakker A, Swalsky PA, Iriya K, Kim R, Reynolds JC, Pinotti HW, Finkelstein SD. Morphlogic, histologic and molecular similarities between adenocarcinomas arising in the gastric stump and the intact stomach. Cancer 1996;78:2288-99.

Saito K, Shimoda T. Histogenesis and early invasion of gastric cancer. Acta Pathol Jpn 1986;36:1307-18.

Saito A, Shimoda T, Nakanishi Y, Ochiai A, Toda G. Histologic heterogeneity and mucin phenotypic expression in early gastric cancer. Pathol Int 2001; 51: 165-71

Sakai P, Maluf-Filho F, Iryia K, Moura EGH, Tomishigue T, Scabbia A, Ishioka S. An endoscopic technique for resection of small gastrointestinal carcinomas. Gastrointest Endosc 1996;44:65-8.

Sano T, Kobori O, Muto T. Lymphonodes metastasis from early gastric cancer: endoscopic resection of tumor. Br J Surg 1992; 79: 241-44.

Sasaki O, Kido K, Nagahama S. DNA ploidy, Ki-67 and p53 as indicators of lymph node metastasis in early gastric carcinoma. Anal Quant Cytol Histol 1999;21:85-8.

Sasaki Y, Niwa Y, Hirooka Y. Results of Endoscopi Mucosal Resection (EMR) for Gastric Tumors; two-channel method v.s. Insulation-Tipped Electrosurgical Knife (The IT-Knife) Method. DDW (Poster Session); 2003: Abstract M1838, A-550.

Sato Y, Itoh F, Hinoda Y. Expression of CD 10/neutral endopeptidase in normal and malignant tissue of human stomach and colon. J Gastroenterol 1996;31:12-7.

Schipper DL, Wagermans MJ, Peters WH, Wagener DJ. Significance of cell proliferation measurement in gastric cancer. Eur J Cancer 1998;34:781-90.

Schneider BG, Hilsenbeck SG, Hensel CH, Pekkel V, Shelton CH, Rodriquez-Martinez HA, Guitierrez-Diaz ME, Pulitzer DR, Allred DC. p53 mutations in gastric and colorectal cancers in Texas Hispanics versus Anglos. Virchows Arch 1994;424:187-93.

Shiao YH, Rugge M, Correa P, Leahmann HP, Scheer WD. p 53 alteration in gastric precancerous lesions. Am J Pathol 1994;144:511-7.

Shiao YH, Palli D, Caporaso NE, Alvord WG, Amorosi A, Nesi G, Saieva C, Masala G, Fraumeni JF, Jr, RiceJM. Genetic and immunohistochemical analyses of p53 independently predict regional metastasis of gastric cancers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000;9:631-3.

Shibata N, Watari J, Fujiya M, Tanno S, Saitoh Y, Kohgo Y. Cell kinetics and genetic instabilities in differentiated type early gastric cancers with different mucin phenotype. Hum Pathol 2003; 34: 32-40.

Shimada S, Matsuzaki H, Marutsuka T, Shiomori K, Ogawa M. Gastric and intestinal phenotypes of gastric carcinoma with referece to expression of brain (fetal)-type glycogen phosporylase. J Gastroenterol 2001;36:457-64.

Shinohara T, Ohshima K, Murayama H, Kikuchi M, Yamashita Y, Shirakusa T. Apoptosis and proliferation in gastric carcinoma: the association with histological type. Histopathology 1996;29:123-9.

Shiotani A, Iishi H, Ishihara R, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Kumamoto M, Hinoi T, Merchant JL. Helicobacter pylori-induced atrophic gastritis progressing to gastric câncer exhibits sonic hedgehog loss and aberrant CDX2 expression. Aliment Pharmacol Ther 2006; 24 (Suppl 4):71-80.

Shiroshita H, Hidenobu W, Ajioka Y, Watanabe G, Nishikura K,Kitano S. Re-evaluation of mucin phenotypes of gastric minute well-differentiated-type adenocarcinomas using a series of HGM, MUCAC, MUC6, M-GGMC, MUC2 and CD-10 stains. Pathol Int 2004;54:311-21.

Shun C-T, Wu M-S, Lin J-T, Chen S-Y, Wang H-P, Lee W-J, Wang T-H, Chuang S-M. Relationship of p53 and c-erbB-2 expression to histopathological features, Helicobacter pylori infection and prognosis in gastric cancer. Hepatogastroenterology 1997;44:604-9.

Starzynska T, Markiewski M, Domagala W, Marlicz J, Mietkiewski J, Roberts SA, Sterrn PL. The clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. Cancer 1996;77:2005-12.

Stemmermann GN. Gastric cancer in the Hawaii Japanese. Gann 1977;68:525-35.

Sue-ling HM, Johnston D, Martin IG, Dixon MF, Landsdown MRJ, McMahon MJ, Axon ATR. Gastric Cancer: a curable disease in Britain. BMJ 1993; 307:591-6.

Sugai T, Inomata M, Uesugi N, Jiao YF, Endoh M, Orii S, Nakamura S. Analysis of mucin, p53 protein and Ki-67 expressions in gastric differentiated-type intramucosal neoplastic lesions obtained from endoscopic mucosal resection samples: A proposal for a new classification of intramucosal neoplastic lesions based on nuclear atypia. Pathol Int 2004;54: 425-35.

Sugano H, Nakamura K, Kato Y. Pathological studies of human gastric cancer. Acta Pathol Jpn (Suppl 2) 1982;32:329-47.

Swamy M V, Herzog CR, Rao CV. Inhibition of COX-2 in colon cancer cell lines by celecoxib increases nuclear localization of active p53. Cancer Res 2003;63:5239-42.

Tada M, Yanai H, Takemoto T. New technique of gastric biopsy. Stomach and Intestine 1984: 19:1107.

Tada M, Murakami A, Karita M, Yanai H, Okita K. Endoscopic resection of early gastric cancer. Endoscopy 1993; 25: 445-50.

Tahara E. Genetic alterations in human gastrointestinal cancers. Cancer 1995;75:1410-7.

Tajima Y, Shimoda T, Nakanishi Y, Yokoyama N, Tanaka T, Shimizu K, Saito T, Kawamura M, Kusano M, Kumagai K. Gastric and intestinal phenotypic marker expression in gastric carcinomas and its prognostic significance: immunohistochemical analysis of 136 lesions. Oncology 2001;61:212-20.

Tajima Y, Yamazaki K, Makino R, Nishino N, Aoki S, Kato M, Morohara K, Kaetsu T, Kusano M. Gastric and Intestinal Phenotypic Marker Expression in Early Differentiated-Type Tumors of the Stomach: clinicopathologic significance and Genetic Background. Clin Cancer Res 2006;12:6469-79.

Tajiri H, Matsuda K, Fujisaki J. What can we see with the endoscope? Present status and future perspectives. Dig Endosc 2002; 14:131-7.

Takekoshi T, Baba Y, Ota H, Koto Y, Yanagisawa A, Takagi K, Noguchi Y. Endoscopic resection of early gastric carcinoma: results of a retrospective analysis of 308 cases. Endoscopy 1994; 26:352-60.

Takeshita K, Tani M, Inoue H, Saeki I, Honda T, Kando F, Saito N, Endo M. A new method of endoscope mucosal resection of neoplastic lesions in the stomach: its technical features and results. Hepatogastroenterology 1997;44:1602-11.

Tanabe S, Koizumi W, Mitomi H, Nakai H, Murakami S, Nagaba S, Kida M, Oida M, Saigenji K. Clinical outcome of endoscopic aspiration mucosectomy for early stage gastric cancer. Gastrointest Endosc 2002; 56: 708-13.

Tang H, Hokita S, Che X, Baba M, Aridome K, Kijima F, Tanabe G, Takao S, Aikou T. comparison of p53 expression in proximal and distal gastric cancer: histopathologic correlation and prognostic significance. Ann Surg Oncol 1997;4:470-4.

Tasaka S. The survey of early gastric carcinoma. Gastroenterol Endosc 1962;4:4.

Torii A, Sakai M, Kajiyama T, Kishimoto H, Kin G, Inoue K, Koizumi T, Ueda S, Okuma M. Endoscopic aspiration mucosectomy as curative endoscopic surgery: analysis of 24 cases of early gastric cancer. Gastrointest Endosc 1995;42:475-9.

Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr, Mirra AP, Gotlieb SL, Laurenti R, et al. Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969-78. Cancer Causes Control 1990;1:189-93.

Tsujitani S, Oka S, Saito H, Kondo A, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Less invasive surgery for early gastric cancer based on the low probability of lymph node metastasis. Surgery 1999;125:148-54.

Tsukahita S, Kushima R, Bamba M, Sugihara H, Hattori T. MUC gene expression and histogenesis of adenocarcinoma of ghe stomach. Int J Cancer 2001;94:166-70.

Tytgat KMAJ, Buller HA,Opdam FJM. Biosynthesis of human colon mucin: MUC2 is prominent secretory mucin. Gastroenterology 1994;107:1352-63.

Van De Bovenkamp JH, Korteland-Van Male AM, Warson C, Buller HA, Einerhand AW, Ectors NL, Dekker J. Gastric-type mucin and TFF-peptide expression in Barrett's oesophagus is disturbed during increased expression of MUC2. Histopathology 2003;42:555-65.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 1988;319:525-32.

Vogelstein B. Cancer. A deadly inheritance. Nature 1990;348:681-2.

Vousden KH. Activation of p-53 tumor suppressor protein. Biochim Biophys Act 2002;1602:47-59.

Wada R, Yamaguchi T, Tanizaki T. Mucin phenotypic expression and p53 gene abnormality of gastric super-minute well-differentiated adenocarcinoma: re-evaluation with relationship between histogenesis of well-differentiated adenocarcinoma and intestinal metaplasia in distal stomach. J Carcinog 2005;1:

Watanabe G, Watanabe H, Ajioka Y, Shjiroshita H, Nishikura K. Well-differentiated type adenocarcinomas of gasric mucin phenotype transform into intestinal type carcinomas (in Japanese with English abstract). Stomach Intestine 2003;38:693-700.

Yahagi N, Fujishiro M, Kakushima N, Kobayashi K, Hashimoto T, Oka M, Iguchi M, Enomoto S, Ichinose M, Niwa H, Omata M. Endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer using the tip of an electrosurgical snare (thin type). Dig Endosc 2004;16:34-8.

Yamada H, Nihei Z, Yamashita T, Shirota Y, Ichikawa W, Sugihara K. Is lymphadenectomy neede for all submucosal gastric cancers? Eur J Surg 2001;167:199-203.

Yamamoto H, Kawata H, Sunada K, Sasaki A, Nakazawa K, Miyata T, Sekine Y, Yano T, Satoh K, Ido K, Sugano K. Successful en bloc resection of large superficial tumors in the stomach and colon using sodium hyaluronate and small-caliber-tip transparent hood. Endoscopy 2003;25:690-4.

Yamao T, Shirao K, Ono H, Kondo H, Saito D, Yamaguchi H, Sasako M, Sano T, Ochiais A, YoshidaS. Risk factors for lymph node metastasis from intramucosal gastric carcinoma. Cancer 1996; 77: 602-6.

Yamazaki H, Oshima A, Murakami R, Endoh S, Ubukata T. A long-term follow-up study of patients with gastric cancer detected by mass screening. Cancer 1989;63:613-17.

Yao T, Kabashima A, Kouzuki T, Oya M. The phenotypes of the gastric carcinoma: Evaluation by a new immunohistochemical method (in Japanese with English abstract). Stomach Intestine 1999;34:477-85.

Yasuda K, Shiraishi N, Suematsu T, Yamaguchi K, Adachi Y, Kitano S. Rate of detection of lymph node metastasis is correlated with the depth of submucosal invasion in early stage gastric carcinoma. Cancer 1999;85:2119-23.

Yasuda K. EUS in the detection of early gastric cancer. Gastrointest endosc 2002;56 (4):S68-S75.

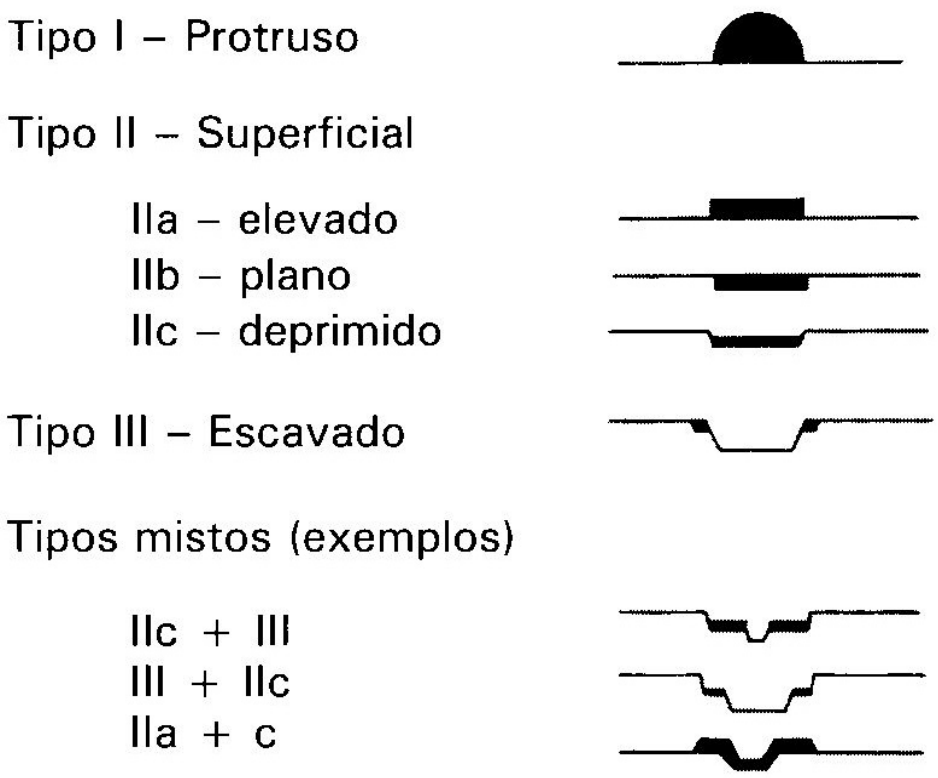
Yokozaki H, Kuniyasu H, Kitadai Y, Nishimura K, Todo H, Ayhan A, Yasui W, Ito H, Tahara E. p53 point mutations in primary human gastric carcinomas. J Cancer Res Clin Oncol 1992;119:67-70.

Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. Br J Surg 2000,87:236-42.

Yoshida S. Endoscopic diagnosis and treatment of early cancer in the alimentary tract. Digestion 1998;59:502-8.

Yoshino T, Shimoda T, Saito A, Nakanishi Y, Tajima Y, Shirasu T, Miura S. Macroscopic features of differentiated adenocarcinoma with gastric or intestinal phenotype expression in early gastric cancer (in Japanese with English abstract). Stomach Intestine 1999;34:513-25.

Young GAR, Hedley DW, Rugg CA, Iland HJ. The prognostic significance of proliferative activity in poor histology non-Hodgkin´s lymphoma: a flow cytometry study using archival material. Eur J Cancer Clin Oncol 1987;23:1497-504.

Apêndice

Apêndice 1 – Classificação Japonesa de Câncer Gástrico Precoce