

EMANUEL ADELINO MEDEIROS DAMASCENO

**PERFIL IMUNO-HISTOQUÍMICO DO RECEPTOR HER2 EM
ADENOCARCINOMA GÁSTRICO E CORRELAÇÃO COM FATORES
PROGNÓSTICOS**

**BRASÍLIA
2013**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EMANUEL ADELINO MEDEIROS DAMASCENO

**PERFIL IMUNO-HISTOQUÍMICO DO RECEPTOR HER2 EM
ADENOCARCINOMA GÁSTRICO E CORRELAÇÃO COM FATORES
PROGNÓSTICOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.
Orientadora: Prof^a Dr^a Fabiana Pirani Carneiro

BRASÍLIA
2013

EMANUEL ADELINO MEDEIROS DAMASCENO

**PERFIL IMUNO-HISTOQUÍMICO DO RECEPTOR HER2 EM
ADENOCARCINOMA GÁSTRICO E CORRELAÇÃO COM FATORES
PROGNÓSTICOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Fabiana Pirani Carneiro
FM - UnB

Prof Dr Albino Verçosa de Magalhães
FM - UnB

Prof^a Dr^a Andrea Barretto Motoyama
FS - UnB

Prof Dr Heinrich Bender Kohnert Seidler
FM - UCB

Dedico este trabalho à minha esposa Melline, por ser uma companheira constante e fonte inesgotável de inspiração e amor e à minha filha Izabela, por na sua simplicidade mostrar como a vida é bela.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Dr^a Fabiana Pirani Carneiro, pela paciência e apoio.

Ao diácono e filósofo Manoel José Damasceno, pelo exemplo de retidão e honestidade.

À santa Inês Medeiros Damasceno, por temperar nossa vida com suavidade.

Aos meus irmãos Manoel Medeiros Damasceno, Cláudia Medeiros Damasceno e Ellen Christina Capistrano Sappi Damasceno, pelas palavras de conforto e incentivo.

À bela Helena Sappi Damasceno, por alegrar os nossos dias.

À Dra. Aline Marques dos Santos, pela amizade e orientação.

Ao Centro de Anatomia Patológica do Hospital Universitário de Brasília, por permitir a realização deste trabalho.

*“Ninguém é tão grande que não possa aprender,
nem tão pequeno que não possa ensinar”
(Esopo)*

RESUMO

INTRODUÇÃO: O adenocarcinoma gástrico é uma neoplasia de grande morbidade e mortalidade em nossa realidade que, apesar dos avanços na medicina, ainda é diagnosticada em estágios avançados. A descoberta da amplificação/super-expressão do HER2 nesta doença foi um passo importante tanto na melhor compreensão da carcinogênese desse tumor, quanto na utilização deste receptor como um alvo terapêutico eficaz. Acredita-se que a positividade do HER2 esteja relacionada a um pior prognóstico, mas os dados atuais na literatura ainda são controversos, sem padronização e podem não refletir as variações regionais deste receptor. O objetivo do presente estudo é avaliar o perfil de expressão do HER2 em espécimes cirúrgicos e sua possível associação com outros fatores prognósticos. **MÉTODOS:** Espécimes de gastrectomia parcial ou total de 106 pacientes foram submetidos ao exame imuno-histoquímico para avaliação da expressão do HER2 e a nova avaliação morfológica para análise dos fatores prognósticos. **RESULTADOS:** Dos espécimes, 12 (11,32%) foram positivos para a super-expressão do HER2 e 94 (88,67%) foram negativos. Não foi observada associação entre a expressão do HER2 e o tipo histológico, diferenciação tumoral, margens cirúrgicas, invasões vascular e perineural, metástase nodal e profundidade de invasão. **CONCLUSÃO:** A expressão do HER2 não foi frequente no câncer gástrico nem associada às características clinicopatológicas.

Palavras-chaves: Adenocarcinoma gástrico, HER2, fatores prognósticos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Gastric adenocarcinoma is a neoplasm of major morbidity and mortality in our reality that, despite advances in medicine, is still diagnosed in advanced stages. The discovery of HER2 overexpression in this disease is an important step in understanding both carcinogenesis of this tumor, and the use of this receptor as a therapeutic target. Several studies have associated HER2 positivity as a prognostic factor, but the current data in the literature are still controversial, non-standardized and may not reflect the regional variations of this receptor. The aim of this study is to evaluate the expression HER2 in surgical specimens and its association with prognostic factors. **METHODS:** Partial or total gastrectomy specimens from 106 patients were evaluated by immunohistochemical method and new morphological evaluation for analysis of prognostic factors. **RESULTS:** Of all specimens 12 (11.32%) were positive for HER overexpression, and 94 (88.67%) were negative. No association was observed between HER2 expression and histopathological type, differentiation, surgical margins, vascular or perineural invasion, nodal metastasis and depth of invasion. **CONCLUSIONS:** HER2 expression was not frequent in gastric cancer and neither associated with clinicopathological features.

Key words: Gastric adenocarcinoma, HER2, prognostic factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Organograma dos casos do estudo	35
Figura 2.	A. HER2 escore 0 200x: Marcação ausente ou fraca em menos de 10% das células. B. HER2 escore 1+ 400x: Marcação fraca em mais de 10% das células. C. HER2 escore 2+ 400x: Marcação moderada em mais de 10% das células. D. HER2 escore 3+ 400x: Marcação forte em mais de 10% das células	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Escores imuno-histoquímicos do HER2 nos casos de adenocarcinomas gástricos	37
Tabela 2	Tamanho médio do maior eixo dos casos de adenocarcinomas gástricos	37
Tabela 3	Classificação dos adenocarcinomas de acordo com a OMS	37
Tabela 4	Fatores prognósticos e marcação HER2 nos casos de adenocarcinomas gástricos	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HER2	Receptor do fator de crescimento epidérmico 2
TNM	Estadiamento <i>tumor, node and metastasis</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IARC	<i>International Agency for Reserach on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional de Câncer
UICC	<i>Union for International Cancer Control</i>
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
CAP	<i>College of American Pathologist</i>
S-CT	<i>Stomach computerized tomography</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
G1	Grau 1
G2	Grau 2
G3	Grau 3
HE	Hematoxilina e eosina
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
PI3K	<i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
kDA	KiloDalton
ToGA	<i>Trastuzumabe for Gastric Cancer</i>
IHC	Imuno-histoquímica
ISH	<i>In situ hybridization</i>
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
SISH	<i>Silver in situ hybridization</i>
CISH	<i>Chromogenic in situ hybridization</i>
HUB	Hospital Universitário de Brasília

CAP-HUB	Centro de Anatomia Patológica e Citologia do HUB
pH	Potencial de hidrogênio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
PBS	Solução tampão fosfatosalina
EUA	Estados Unidos da América
CA	Califórnia.
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
MEDLINE	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
PubMed	<i>Public medline</i>

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	O CÂNCER GÁSTRICO	14
2.1.1	EPIDEMIOLOGIA	14
2.1.2	FATORES PROGNÓSTICOS	15
2.1.2.1	TAMANHO DA LESÃO	16
2.1.2.2	TIPO HISTOLÓGICO	17
2.1.2.3	GRAU HISTOLÓGICO	18
2.1.2.4	EXTENSÃO TUMORAL	19
2.1.2.5	MARGENS CIRÚRGICAS	20
2.1.2.6	INVASÃO ANGIOLINFÁTICA	21
2.1.2.7	INVASÃO PERINEURAL	23
2.1.2.8	METÁSTASE NODAL	23
2.1.3	MARCADORES TUMORAIS	25
2.2	O RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO HUMANO 2	25
2.2.1	INTRODUÇÃO	25
2.2.2	HER2 E CÂNCER GÁSTRICO	26
2.2.3	AVALIAÇÃO	27
3	JUSTIFICATIVA	28
4	OBJETIVOS	29
4.1	OBJETIVO GERAL	29
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5	METODOLOGIA	30
5.1	AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA	31
5.2	AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA	32

5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
6	RESULTADOS	35
6.1	DESCRIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	35
6.2	DESCRIÇÃO DA RELAÇÃO COM OS FATORES PROGNÓSTICOS.	35
7	DISCUSSÃO	39
8	CONCLUSÃO	51
9	REFERÊNCIAS	52
10	APÊNDICE	61
11	ANEXO	62

1 INTRODUÇÃO

O câncer gástrico é uma das neoplasias malignas mais prevalentes e grande causa de morte por câncer em nosso mundo (1). O tratamento cirúrgico em lesões iniciais é curativo, entretanto, grande parte dos casos é descoberta já em estágios avançados de doença (2). Nestes pacientes, o tratamento quimioterápico convencional tem funções tanto curativas quanto paliativas, contudo, a sobrevida em 5 anos é de menos de 25%, com altas taxas de mortalidade no 1º ano e recorrência da lesão (3, 4).

O receptor do fator de crescimento epidérmico 2 (HER2) é uma proteína transmembrânica cuja função está relacionada a uma série de eventos que são importantes para a manutenção da homeostasia do organismo, como controle do ciclo celular, migração, diferenciação e proliferação celulares. Por outro lado, a sua mutação tem um papel crucial na carcinogênese de tumores em vários sítios conhecidos, como mama, ovário, pâncreas e estômago (5, 6).

Assim, de forma análoga ao carcinoma ductal da mama, a amplificação/superexpressão do HER2 no adenocarcinoma gástrico tem sido um alvo terapêutico explorado no tratamento quimioterápico, com o uso do trastuzumabe, um anticorpo monoclonal, aumentando a sobrevida de pacientes com doenças metastáticas ou localmente avançadas (1).

Além disso, acredita-se que a amplificação/super-expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico 2 (HER2) no câncer gástrico possa estar relacionada com o pior prognóstico e agressividade da doença (4, 6), sendo correlato a invasão da serosa, a metástase linfonodal e a um pior estadiamento TNM no momento do diagnóstico (7).

Todavia, seu papel como fator prognóstico ainda é controverso e pouco se sabe sobre suas variações nas diferentes regiões do mundo (8).

Desta forma, novos estudos são necessários para que a função do HER2 como fator prognóstico, capaz de auxiliar na tentativa de se prever o comportamento oncológico do adenocarcinoma gástrico, seja bem estabelecido (9).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O CÂNCER GÁSTRICO

2.1.1 Epidemiologia

O câncer, de forma geral, é a causa mais comum de morte nos países economicamente desenvolvidos, e a segunda causa de morte nos países em desenvolvimento (10). Apenas no ano de 2008, cerca de 7,6 milhões de mortes ocorreram em consequência de uma neoplasia maligna, e aproximadamente 12,7 milhões de casos novos foram diagnosticados no mundo. Apesar dos grandes avanços na medicina, com diagnósticos mais precoces e terapias mais eficientes, a prevalência desse grupo de doenças continua a crescer, em parte pelo “envelhecimento” da população, em parte pela adoção de hábitos de vida associados a um aumento do risco de desenvolvimento de câncer, como tabagismo, alcoolismo, sedentarismo, dieta inadequada, dentre outros (11).

Nesse contexto, o câncer gástrico ocupa uma posição de destaque. Ele era a neoplasia maligna mais prevalente na década de 90, e muito embora o número de casos novos venha caindo, principalmente por causa das melhorias nas técnicas de preservação de alimentos, com o uso de uma quantidade menor de sal e outras substâncias, e a identificação da infecção pelo *H. pylori* como fator de risco (12). Em 2008, último ano disponível com dados globais, foram registrados aproximadamente 989.000 casos novos e cerca de 738.000 mortes decorrentes desta doença, colocando-o como a quarta neoplasia maligna mais frequente no mundo, de acordo com os dados da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), ficando atrás apenas do câncer de pulmão, mama e cólon, e correspondendo a quase 8% de todos os cânceres excluindo as neoplasias de pele não-melanoma. O câncer gástrico faz parte também das três neoplasias com maior mortalidade no mundo, a saber: pulmão com 17,8%; estômago com 10,4%; fígado com 8,8% (13).

No Brasil, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a neoplasia maligna de estômago registrou em 2012, 20.090 casos novos e 22.035 mortes

decorrentes desta lesão. Dos casos incidentes, 12.670 (63,06%) ocorreram em homens e 7.420 (36,94%) em mulHERes, conferindo ao câncer de estômago o 3º lugar como câncer mais frequente em homens e o 5º lugar em mulHERes (14).

Os idosos são os mais acometidos, com séries na literatura evidenciando idade média de cerca de 62,1 anos para homens e 57,9 para mulHERes (12, 13), sendo que apenas 10% das lesões acometem indivíduos abaixo dos 40 anos (15).

A carcinogênese gástrica é multifatorial e ainda não bem compreendida (13), entretanto, acredita-se que um estado de injúria crônica contra a mucosa gástrica seja o principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer (17). Assim, a infecção pelo *H. pylori*, tabagismo, alcoolismo e erro alimentar, com o consumo de produtos enlatados ou defumados, constituem os principais fatores de risco (18).

Apesar de ainda existirem controvérsias em relação a estes comportamentos de risco, acredita-se que a progressão tumoral é sequencial, seguindo uma cadeia de alterações morfológicas identificáveis a microscopia óptica, iniciando com gastrite crônica, avançando para gastrite atrófica, metaplasia intestinal, displasia de baixo grau, displasia de alto grau (lesão *in situ*) e, por fim, neoplasia maligna invasora (19).

2.1.2 Fatores prognósticos

O câncer gástrico causa grande impacto na sociedade, dadas a sua prevalência, morbidade, mortalidade (7) e, não menos importante, implicações financeiras em internações, exames, medicamentos e cirurgias (13). Assim, tem se tornado crucial predizer o comportamento clínico desta lesão, na tentativa de se dimensionar a doença e escolHER a forma mais adequada de tratamento (20).

A busca por elementos que auxiliem no entendimento desta neoplasia e sejam úteis como marcos de comportamento oncológico, os marcadores tumorais, é importante e deve ser constante, acompanhando a mudança dos perfis sociodemográficos no mundo com o passar do tempo, com a finalidade de tanto averiguar se os fatores prognósticos se mantêm como elementos importantes, quanto para a descoberta de novos marcadores (21).

A *Union for International Cancer Control* (UICC) é uma instituição não-governamental, fundada em 1933 com sede na cidade de Genebra, Suíça, e tem

como objetivo auxiliar, acelerar e orientar as comunidades de saúde no combate ao câncer (20). Em 1987, esta se aliou ao *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) e juntas, estas instituições desenvolveram o sistema de estadiamento do câncer na forma do TNM, além de manter uma divulgação atualizada dos elementos clínicos, radiológicos, cirúrgicos e patológicos importantes como fatores de prognóstico das neoplasias (22).

Baseando-se na AJCC/UICC TNM 7^o edição e em trabalhos científicos de grande relevância na literatura, o *College of American Pathologist* (CAP) formula e fornece um protocolo dos elementos mais importantes na avaliação anatomo patológica das biópsias e peças cirúrgicas. Em sua última atualização, em outubro de 2013, alguns dos pontos mais importantes propostos no protocolo de avaliação das peças cirúrgicas oncológicas de estômago foram: tamanho da lesão, tipo histológico, grau histológico, extensão tumoral, margens cirúrgicas, invasão angiolinfática, invasão perineural e metástase nodal, sendo o HER2 um item presente mas não obrigatório (23).

2.1.2.1 Tamanho da Lesão

O tamanho é avaliado na forma da maior medida da lesão (diâmetro) em centímetros (23).

Apesar de ser um marcador de prognóstico citado no protocolo da CAP, esta medida não é utilizada na elaboração do TNM do câncer gástrico, como acontece, por exemplo, nos cânceres de pulmão ou mama (24).

Contudo, é um dado que tem ganhado grande importância nesta nova era de cirurgias cada vez menos invasivas. O maior eixo da lesão, quando estimado pré ou mesmo intracirurgicamente, é capaz de definir ou modificar a conduta a ser realizada, com lesões medindo menos de 2 cm sendo tratadas com ressecção endoscópica, sem necessidade da retirada parcial ou completa do órgão, ato que acarreta em grande diminuição da qualidade de vida do paciente (25).

Para as lesões maiores, o diâmetro da neoplasia é importante pelo planejamento cirúrgico, com a possibilidade da escolha do procedimento ser entre gastrectomia parcial ou uma total, e pela adequação das margens cirúrgicas, que

devem distar da lesão idealmente um mínimo de três a cinco centímetros (26). Importante ressaltar que a extensão da ressecção é um determinante na qualidade de vida no pós-operatório, principalmente em pacientes idosos, público mais acometido por esta lesão (27).

O tamanho tumoral pode ser avaliado no pré-operatório por alguns recursos imagiológicos, como a endoscopia digestiva alta (gastrosopia), ou por um método mais preciso, a tomografia computadorizada gástrica (S-CT). Com a gastrosopia, além de conseguir estimar o tamanho da lesão, o médico também avalia seus aspectos macroscópicos e superficiais, classificando-a de acordo com os critérios de Borrmann. O segundo método possibilita a avaliação da espessura da mucosa gástrica, obtendo-se desta forma uma medida tumoral muito próxima da realidade, útil para as decisões terapêuticas (28).

Entretanto, apesar do grande avanço na tecnologia, a avaliação macroscópica realizada pelo médico patologista do tamanho da lesão é a abordagem mais fidedigna.

2.1.2.2 Tipo Histológico

Em 1965, Pekka A. Laurén, do Departamento de Patologia da Universidade de Turku, Finlândia, após examinar 1.344 casos de adenocarcinomas gástricos, neoplasia mais prevalente da época, propôs uma nova classificação, já que as existentes na época não eram satisfatórias. Foram propostos dois tipos principais de adenocarcinomas: o tipo intestinal e o tipo difuso (29).

Esta classificação é utilizada ainda hoje nos protocolos da AJCC/UICC, sendo de grande utilidade na gastroenterologia como uma das primeiras formas de se diferenciar os grupos de pacientes oncológicos (20, 22). Muito embora essa dicotomização do adenocarcinoma em padrão intestinal e padrão difuso tenha seu grande valor histórico e clínico, os protocolos atuais sugerem a utilização da classificação feita pela Organização Mundial de Saúde (OMS) por ter mais reprodutibilidade acadêmica e ser mais ampla (23).

Nela, o adenocarcinoma gástrico é classificado em cinco categorias, de acordo com o seu padrão histológico predominante, em cinco categorias (30):

- Adenocarcinoma Tubular – Presença de túbulos pequenos e formações glandulares irregulares ou dilatadas. São lesões geralmente bem diferenciadas.
- Adenocarcinoma Papilar – Presença de extensões tumorais alongadas e exofíticas, frondosas, contendo um eixo fibrovascular.
- Adenocarcinoma Mucinoso – Presença de mais de 50% da área tumoral constituída por *pools* de mucina extracelular.
- Carcinoma pouco coeso – Presença de infiltração por células isoladas ou em pequenos grupos. A variante carcinoma de células em anel de sinete está contida nesse grupo.
- Carcinoma misto – Mistura em proporções virtualmente equivalentes dos padrões supracitados.

Apesar desta classificação elaborada realizada pela OMS, a grande maioria dos trabalhos, mesmo atualmente, ainda utiliza a classificação de Laurén por ela ser mais simples e “robusta”, abrangendo no padrão intestinal as lesões tubulares e papilares, enquanto o padrão difuso engloba as lesões mucinosas e pouco coesas (31, 32).

Assim, existem poucos trabalhos utilizando a classificação da OMS (33, 34), muito embora o protocolo do CAP sugira que ela seja preferencialmente usada nos relatórios anatomopatológicos ao invés da classificação de Laurén (23).

2.1.2.3 Grau Histológico

O grau histológico para adenocarcinomas é avaliado mensurando-se a quantidade de diferenciação glandular/tubular na lesão tumoral, em (23):

- Grau 1 (G1) – bem diferenciado. A lesão é constituída por mais de 95% de estruturas glandulares.
- Grau 2 (G2) – moderadamente diferenciado. Cerca de 50% a 95% da área tumoral é constituída por estruturas glandulares.
- Grau 3 (G3) – pouco diferenciado. 49% ou menos da lesão é constituída por estruturas glandulares.

O grau histológico é um fator prognóstico controverso, sendo correlato ao maior eixo da invasão e extensão tumoral. Acredita-se que as lesões bem e moderadamente diferenciadas tenham um prognóstico melhor do que as lesões pouco diferenciadas. Entretanto, alguns autores criticam este parâmetro, alegando certa subjetividade em sua avaliação e dificuldade de análise, dada a heterogeneidade que um mesmo tumor pode ter em seus graus de diferenciação associado ao fato de que a análise morfológica é feita através da amostragem do tecido (35).

Outros citam que o grau de diferenciação tumoral não é um fator que tenha impacto na sobrevida dos pacientes, tendo um papel importante apenas na decisão cirúrgica, já que as lesões pouco diferenciadas tendem a ter outros fatores prognósticos em estados avançados que impossibilitem a cirurgia no momento do diagnóstico, como o tamanho da lesão ou a presença de metástase (36).

Contudo, apesar das críticas, o grau de diferenciação tumoral permanece constante como item no protocolo do câncer gástrico, com séries de casos evidenciando que ele é um marcador de pior prognóstico isolado, com pacientes que possuem lesões pouco diferenciadas tendo mais chance de recorrência tumoral, metástase nodal e uma menor sobrevida (37).

2.1.2.4 Extensão Tumoral

A extensão tumoral diz respeito à profundidade microscópica de invasão da lesão dentro das camadas histológicas do estômago e é classificada em (23):

- Lesão limitada ao epitélio / carcinoma *in situ*.
- Tumor invade a lâmina própria ou a camada muscular da mucosa.
- Tumor invade até a submucosa.
- Tumor invade até a camada muscular própria.
- Tumor invade até a subserosa.
- Tumor invade até o peritônio visceral (serosa).
- Tumor invade diretamente estruturas adjacentes.

Profundidade da invasão da lesão é um dos elementos mais importantes da avaliação do câncer gástrico, sendo o único parâmetro utilizado para a elaboração do estadiamento T desta neoplasia (23).

É atribuído um pior valor prognóstico absoluto à medida que a lesão avança pelas camadas histológicas do órgão (38).

Não só este parâmetro é um importante fator independente, sendo por si só capaz de prever a sobrevivência do paciente, como detém correlação com outros fatores. Sabe-se que à medida que a lesão descende na arquitetura do órgão, a possibilidade de que outros fatores prognósticos listados no protocolo do CAP também progredam é maior (39).

Acredita-se que exista uma relação direta, por exemplo, entre a invasão da submucosa e a presença de êmbolos tumorais, já que a submucosa é rica em irrigação arterial, venosa e, em especial, linfática, com vasos de pequeno calibre apresentando diâmetros aumentados pela própria demanda do estômago em se ter uma circulação rápida e eficaz. Conseqüentemente, a invasão da submucosa também está relacionada a uma positividade nodal, com metástases para linfonodos locais já em estágios precoces da doença (40).

Além desta correlação com os fatores prognósticos, a profundidade microscópica da invasão também é correlata a outros pontos importantes no tratamento desta lesão, como o risco de recorrência da neoplasia, principalmente no peritônio, aumentado em casos de infiltração da camada subserosa ou além, mesmo após ressecção cirúrgica associada à terapia quimioterápica adjuvante (41).

2.1.2.5 Margens Cirúrgicas

A avaliação das margens cirúrgicas depende tanto da integridade do espécime, quanto do procedimento realizado. Nos casos das gastrectomias, total ou parcial, as margens analisadas são (23):

- Proximal (ou esofágica).
- Distal (ou duodenal).
- Radial (ou mesogástrica).

A margem radial em espécimes cirúrgicos corresponde à área não-peritonializada de tecidos moles mais perto do ponto mais infiltrativo da lesão. No caso do estômago, que é um órgão completamente revestido por peritônio, a margem radial corresponde a três pontos: o ligamento hepatogástrico; o ligamento hepatoduodenal; e o grande omento. Se a neoplasia maligna alcançar qualquer um desses pontos, seja na gastrectomia total ou na parcial, então a margem radial estará comprometida (23).

A ressecção cirúrgica completa com dissecação de linfonodos é, atualmente, o principal e melhor tratamento com finalidade curativa do câncer gástrico. Neste aspecto, a presença de margens cirúrgicas livres diminui a chance de recorrências. Em contrapartida, a presença de margens comprometidas exige atenção especial do cirurgião pela possibilidade da reabordagem cirúrgica, ou do oncologista para dar seguimento ao protocolo de tratamento (42).

Desta forma, a equipe deve ter especial cuidado na análise deste parâmetro, cuidado este que começa no pré-operatório, com a escolha do procedimento a ser realizado. O cirurgião além de precisar a localização tumoral, deve retirar a peça de tal forma que a margem cirúrgica esteja livre de lesão, em tratamentos curativos, e preservada, sem artefatos mecânicos ou violação da peça (42). O patologista então, no ato da macroscopia, deve reconhecer a margem e marcá-la de forma adequada, comumente usando-se tinta, para posteriormente ser capaz de classificá-la em livre ou comprometida (43).

O comprometimento da margem cirúrgica tem um impacto direto na recorrência da lesão após uma cirurgia curativa, sendo este um evento preocupante e grave, com a maioria destes pacientes tendo uma sobrevida média de 8 meses. Entretanto, mesmo sem a presença de uma recorrência local, as margens cirúrgicas são um fator independente de prognóstico, com uma sobrevida em doenças em estágios avançados de 35% em 5 anos para pacientes com margens livres, em contraste com 13% em pacientes cujas peças cirúrgicas tiveram margens comprometidas (44).

2.1.2.6 Invasão Angiolinfática

A invasão vascular é definida como a infiltração direta da parede vascular ou a presença de embolização tumoral e é classificada como (23):

- Presente.
- Não evidenciada.
- Indeterminada.

Como já citado, esta característica tem relação com a profundidade de invasão do carcinoma gástrico, em especial quando o mesmo alcança a camada submucosa, rica em irrigação sanguínea e linfática e progride para as camadas mais profundas do órgão (40), mas não somente, sendo também mais encontrada em adenocarcinomas poucos coesos e mucinosos, baixa diferenciação tumoral (G3) e idade avançada no momento do diagnóstico (41).

Assim, pela sua importância, a infiltração de vasos tem sido um preditor de agressividade e pior prognóstico não apenas do câncer de estômago, mas de várias outras neoplasias malignas. O acometimento de vasos linfáticos e sanguíneos tem relação direta com, respectivamente, metástase nodal e metástase à distância. A linfangiogênese e angiogênese promovida pela neoplasia para sua própria nutrição têm um papel crucial nesta disseminação tumoral, aumentando a densidade de vasos peritumorais e, conseqüentemente, propiciando a embolização tumoral ou invasão direta da parede vascular pela neoplasia (42).

Apesar de parecer simples, a adequada avaliação da infiltração angiolímfática pode se tornar problemática para o patologista. A avaliação morfológica das lâminas geralmente se faz utilizando como método de coloração a rotineira hematoxilina e eosina (HE), nesta caracteriza-se infiltração da parede vascular a presença de células tumorais alcançando diretamente a camada muscular lisa de arteríolas e vênulas, ou em capilares e vasos linfáticos, com o rompimento da membrana basal, disjunção endotelial e alcance da luz vascular (43). Já na embolização tumoral precisamos identificar ou as células tumorais presas entre fibrina e aderidas a parede vascular ou a presença de um grupo celular na luz vascular recoberto por endotélio. A simples presença de neoplasia maligna “solta” no lúmen vascular não caracteriza a invasão angiolímfática (42, 43).

Dadas essas características, existem métodos que auxiliam o médico em casos duvidosos como o uso de colorações especiais, como o Verhoeff para identificação de fibras elásticas na parede vascular, ou mesmo o uso de técnicas

imuno-histoquímicas, com a utilização do CD34, CD31 marcadores panendoteliais, ou D2-40, um marcador de endotélio linfático (41).

2.1.2.7 Invasão Perineural

A invasão perineural é avaliada como a presença de células tumorais infiltrando o perineuro ou diretamente os filetes nervosos, e é classificada como (23):

- Presente.
- Não evidenciada.
- Indeterminada.

A invasão perineural é um item opcional na avaliação do carcinoma gástrico. Muito embora existam poucos trabalhos suportando este parâmetro como fator prognóstico independente, ele ainda é importante como preditor de pior prognóstico e citado no protocolo do CAP (23).

A positividade de invasão perineural na literatura é variável, com séries apontando entre 30% e 80% no câncer gástrico avançado, mas apesar de ser um item com alta prevalência, alguns autores citam que a sua positividade não altera a sobrevida do paciente (44).

Por outro lado, estudos atuais têm correlacionado a infiltração do perineuro por células tumorais como um maior estadiamento TNM no momento do diagnóstico (45), além de ser mais freqüente nos adenocarcinomas pouco coesos e em casos de recorrência local, características estas de pior prognóstico. Sendo assim, a invasão perineural, apesar de ainda controversa como fator prognóstico, pode ajudar na predição clínica do comportamento da lesão (46).

2.1.2.8 Metástase Nodal

A análise de comprometimento nodal, caracterizada pela presença de células tumorais dentro da cápsula linfonodal, é realizada avaliando-se o número de linfonodos acometidos, classificando-os em (23):

- pNx - não avaliável.
- pN0 - sem metástase.
- pN1 - metástase para 1 a 2 linfonodos.
- pN2 - metástase para 3 a 6 linfonodos.
- pN3 - metástase para mais de 6 linfonodos.
- pN3a - metástase para 7 a 15 linfonodos.
- pN3b - metástase para 16 ou mais linfonodos.

De acordo com o protocolo do CAP, se ao exame microscópico dos linfonodos ressecados forem encontradas células tumorais isoladas ou pequenos grupos que não tenham mais de 0,2 mm de diâmetro, estes devem ser considerados como negativos para o comprometimento nodal (23).

De acordo com a AJCC, a presença de depósitos tumorais descontínuos, pequenos blocos de células tumorais sem contato com a neoplasia primária, localizados na subserosa do estômago devem ser contatos como linfonodos positivos, mesmo sem evidências de arquitetura nodal residual. Já a presença destes depósitos no peritônio é considerada como metástase a distância (21).

O comprometimento nodal é um importante ponto no câncer gástrico. É recomendado que pelo menos quinze linfonodos sejam examinados em cirurgias curativas de tumores gástricos para que seu valor como fator prognóstico seja fidedigno. Em contrapartida, quando menos de 10 linfonodos são examinados em gastrectomias, a confiabilidade deste parâmetro se torna duvidosa e alguns protocolos sugerem que, mesmo na ausência microscópica de infiltração tumoral nos 10 ou menos linfonodos examinados, os pacientes sejam considerados como tendo comprometimento nodal positivo (47).

A metástase para linfonodos é correlata a outros parâmetros como baixa diferenciação tumoral, carcinoma pouco difuso, profundidade de invasão e, principalmente, invasão angiolinfática. Algumas características clínicas também são relacionadas a um comprometimento nodal maior, como sexo masculino e idade avançada no momento do diagnóstico (47).

Apesar de a invasão angiolinfática ser a característica mais associada à metástase nodal, a profundidade de invasão também é um ponto importante, com a incidência de metástase em lesões intramucosas em torno de 0 a 5%, enquanto a

progressão da lesão tumoral para a submucosa aumente esta taxa para cerca de 20% (48).

2.1.3 Marcadores tumorais

Os marcadores tumorais, ou marcadores biológicos, são macromoléculas encontradas no próprio tumor, no sangue ou em outros líquidos corporais cujo aparecimento está relacionado à presença de células neoplásicas, seja sendo produzidas pelo próprio tumor ou de forma secundária pelo organismo em resposta à sua presença. Estas moléculas são úteis no manejo clínico, auxiliando no diagnóstico, estadiamento, terapêutica, prognóstico e acompanhamento do paciente (49).

Estes marcadores são em sua maioria proteínas, ou partes de proteínas, incluindo antígenos de superfície, enzimas, proteínas citoplasmáticas, podendo também corresponder a lipídios, como hormônios, ou mesmo expressões genotípicas anômalas (50).

Neste contexto, pela importância que o câncer de estômago possui e por seu grande impacto tanto social quanto econômico em nossa sociedade, novos marcadores tumorais estão sendo pesquisados e sua relação com o desenvolvimento da doença, tratamento e prognóstico avaliado (1).

O receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) entra como marcador tumoral atual no câncer gástrico, sendo relatada sua presença tanto como marcador de pior prognóstico, como alvo terapêutico (2).

2.2 O RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO HUMANO 2

2.2.1 Introdução

A família de receptores de fator de crescimento epidérmico (HER ou ErbB) é fundamental para o desenvolvimento e funcionamento de diversos órgãos e sistemas. Estes receptores estão localizados na membrana celular e tem por função se ligar a fatores de crescimento extracelulares, como o fator de crescimento epidérmico (EGF) e outros, iniciando assim uma variedade de reações celulares como proliferação, diferenciação, migração, adesão e apoptose (51).

São conhecidos atualmente quatro receptores desta família: HER1, HER2, HER3 e HER4. Estes, quando ligados a um fator de crescimento, iniciam um processo de dimerização que promove a sinalização de várias vias intracelulares. Dentre elas, duas se destacam: a via de proteína quinase mitoticamente-ativa (MAPK) e a via de fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K). Estas duas têm esta importância especial, pois promovem a proliferação celular e previnem a apoptose, características importantes no processo de oncogênese (53).

O HER2, também conhecido como c-erbB-2, é uma proteína de 185 kDA localizada no cromossomo 17q12. Ele difere dos outros receptores por possuir uma sinalização intracelular mais potente e por não necessitar de um ligante extracelular para iniciar sua dimerização (1, 54).

De fato, sua amplificação e super-expressão está demonstrada em várias neoplasias epiteliais em diversos sítios como mama, ovário, cólon, bexiga, endométrio, pulmão, próstata, pâncreas e, com grande enfoque atual, estômago (55, 56).

2.2.2 HER2 e câncer gástrico

A super-expressão do HER2 no câncer gástrico foi descrita em 1986. Desde então, inúmeros trabalhos tem relacionado o papel da amplificação deste receptor na iniciação e progressão desta neoplasia maligna, com uma taxa de positividade HER2 no câncer gástrico variando entre 6% a 59% na literatura (57).

Alguns estudos relatam que o HER2 é um fator de prognóstico independente, com sua positividade relacionada a uma menor sobrevida, maior tamanho da lesão (7), maior risco de metástase ao momento do diagnóstico e, conseqüentemente, maior agressividade do câncer gástrico (58, 59).

Em contrapartida, outras séries mostram que a expressão aumentada do HER2 não está relacionada a um pior prognóstico, nem sua positividade correlata a uma maior gravidade das outras características de agressividade tumoral, como comprometimento nodal por exemplo. Pelo contrário, a positividade do HER2 pode ser relacionada a uma melhor diferenciação tumoral e ao tipo histológico adenocarcinoma intestinal de Laurén, conhecidamente uma lesão de melhor prognóstico quando comparada ao tipo difuso (60).

Assim, seu papel como preditor de comportamento oncológico no adenocarcinoma gástrico ainda é controverso (61).

Como o HER2 encontra-se na membrana celular, possui alta acessibilidade e expressão, ele se tornou um alvo visado para tratamento quimioterápico. Esta relação já está bem estabelecida em outras neoplasias, como no câncer de mama, onde o tratamento específico para o HER2 melhora a sobrevida e tempo livre de doença. O trastuzumabe é um quimioterápico sintetizado como um anticorpo monoclonal que se liga à porção extracelular do HER2, inibindo sua via de sinalização e atuando como sinalizador para que linfócitos T citotóxicos promovam a destruição celular (62).

De fato, o advento da descoberta da amplificação do HER2 no câncer de estômago ganhou grande impacto quando em 2010 a União Européia aprovou a terapia com o trastuzumabe em combinação com a quimioterapia convencional para os casos de adenocarcinoma gástrico metastático, pelos resultados obtidos no Trastuzumabe *for Gastric Cancer* (ToGA), um estudo internacional fase III, que estudou a combinação deste anticorpo monoclonal com a quimioterapia convencional. Foi verificado que esta combinação aumentou a sobrevida de pacientes com diagnóstico de câncer gástrico avançado em três meses, sem uma piora expressiva dos efeitos adversos, tornando o HER2 um alvo terapêutico e de grande importância nesta doença (63).

2.2.3 Avaliação

A amplificação/super-expressão do HER2 no câncer gástrico pode ser avaliada rotineiramente tanto pela imuno-histoquímica (IHC), quanto pela hibridização *in situ* (ISH) (52).

Muito embora os testes de hibridização *in situ*, como a *fluorescence in situ hybridization* (FISH), a *silver in situ hybridization* (SISH) ou a *chromogenic in situ hybridization* (CISH), sejam mais sensíveis na detecção da amplificação do HER2, estes são caros, complexos e requerem para sua realização pessoas treinadas e familiarizadas com as etapas do processo técnico. A imuno-histoquímica por outro lado, é um método rápido e de fácil avaliação, sendo utilizado, pela sua praticidade, como método rotineiro na detecção da super-expressão do HER2. Assim, os exames de hibridização *in situ* são indicados para os casos duvidosos (52).

3 JUSTIFICATIVA

A amplificação/super-expressão do HER2 no câncer gástrico adquiriu uma grande importância com a melhora da sobrevida em pacientes com doença metastática ou localmente avançada tratados com o trastuzumabe.

Entretanto, apesar de ser um alvo terapêutico, suas relações com outras características clinicopatológicas não é bem conhecida e mais evidência científica é necessária para que este receptor seja definido ou não como um fator de prognóstico no adenocarcinoma gástrico.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho pretende avaliar o perfil do receptor HER2 nos adenocarcinomas gástricos do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e correlacionar este perfil com os fatores prognósticos listados no protocolo de avaliação de câncer gástrico, proposto pelo Colégio Americano de Patologistas (CAP), a fim de estabelecer a relação do HER2 como fator de prognóstico no câncer gástrico.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a frequência da super-expressão do HER2 através de imunohistoquímica em adenocarcinomas gástricos.

Avaliar a associação entre a super-expressão do HER2 e o maior eixo da lesão; o tipo histológico; o grau histológico; a extensão tumoral; as margens cirúrgicas; a invasão angiolinfática; a invasão perineural e a metástase nodal.

5 METODOLOGIA

O presente trabalho é um estudo observacional e analítico, que visa à avaliação imuno-histoquímica e morfológica de espécimes fixados em formol e incluídos em parafina, arquivados no Centro de Anatomia Patológica (CAP) do HUB.

Critérios de inclusão:

- Biópsias correspondentes à análise de gastrectomia total ou parcial em decorrência de adenocarcinoma gástrico de pacientes submetidos a procedimento cirúrgico no HUB, entre o período de 2002 a 2013.

Critérios de exclusão:

- Biópsias incisionais com o diagnóstico de adenocarcinoma gástrico.
- Biópsias excisionais menores que gastrectomia parcial, como mucosectomia, com o diagnóstico de adenocarcinoma gástrico.
- Biópsias que correspondam à gastrectomia total como ampliação de gastrectomia parcial que teve sua margem cirúrgica comprometida.
- Biópsias cuja cirurgia não foi realizada no HUB e que porventura estejam arquivadas em seu Centro de Anatomia Patológica.
- Biópsias de pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma gástrico que foram tratados com terapia neoadjuvante.
- Biópsias de pacientes que sejam menores de 18 anos, estrangeiros ou indígenas.

Com base nestes critérios, realizou-se uma pesquisa no sistema digital de arquivos do HUB, que busca as palavras selecionadas em qualquer parte do laudo, com os seguintes descritores:

- Gástrica
- Gastrica
- Gástrico
- Gastrico
- Estômago
- Estomago

A utilização da mesma grafia sem acentuação teve o objetivo de atenuar possíveis perdas por erros de digitação. O sistema não é sensível a diferenças entre letras maiúsculas e minúsculas.

Realizou-se então um refinamento da pesquisa, com a busca por descritores adicionais:

- Adenocarcinoma
- Carcinoma
- Neoplasia

Após esta, procedeu-se a busca no arquivo vivo, material arquivado com 5 anos ou menos, e no arquivo morto, material arquivado entre 5 e 20 anos.

Os casos que não possuíam blocos arquivados foram excluídos do estudo.

Das biópsias restantes, foi realizada a análise morfológica envolvendo todas as lâminas e selecionada uma delas de cada caso, contemplando no mesmo corte neoplasia e tecido adjacente não tumoral sempre que possível, para a realização do exame imuno-histoquímico.

5.1 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA

As amostras selecionadas foram submetidas à nova análise histológica e avaliação dos critérios de prognóstico de adenocarcinoma gástrico baseados no protocolo proposto pelo CAP, com última atualização em outubro de 2013, a saber:

- Maior eixo da lesão.
- Tipo histológico.
 - Tubular.
 - Papilar.
 - Mucinoso.
 - Pouco coeso.
 - Misto.
- Grau histológico.
 - G1 – bem diferenciado.
 - G2 – moderadamente diferenciado.

- G3 – pouco diferenciado.
- Extensão tumoral microscópica.
 - Tumor invade a lâmina própria ou a camada muscular da mucosa.
 - Tumor invade até a submucosa.
 - Tumor invade até a camada muscular própria.
 - Tumor invade até a subserosa.
 - Tumor invade até o peritônio visceral (serosa).
 - Tumor invade diretamente estruturas adjacentes.
- Margens cirúrgicas.
 - Livres de lesão.
 - Comprometidas pela neoplasia.
- Invasão angiolinfática.
 - Presente.
 - Não evidenciada.
- Invasão perineural.
 - Presente.
 - Não evidenciada.
- Metástase nodal:
 - Presente.
 - Não evidenciada.

5.2 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

Realizou-se o estudo imuno-histoquímico das secções de tecido obtidas a partir de blocos incluídos em parafina, com a finalidade de pesquisar a expressão do receptor HER2.

Foi utilizado o método da estreptavidina-biotina-peroxidase, que consiste em:

- Lâminas silanizadas com cortes histológicos, desparafinizados e rehidratados, apresentando espessura de 4 micrômetros, confeccionados

a partir de blocos de parafina contendo material de biópsia fixado em formol.

- Para a recuperação antigênica, os cortes foram incubados por 45 minutos em panela a vapor a 95-99°C com tampão citrato numa solução de pH 6.0. Logo após, as lâminas foram resfriadas em temperatura ambiente por 20 minutos.
- Para a inativação da peroxidase tecidual endógena, as lâminas foram imersas em uma solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% em temperatura ambiente por 30 minutos. Após lavar as lâminas com solução tampão fosfatosalina (PBS), elas foram incubadas com o anticorpo primário, rabbit anti-human phospho-ErbB2/HER2 (HERcepTest®, clone Y1248, diluição 1:100; DAKO Corporation, Carpinteria, Califórnia, EUA), durante a noite a 4°C.
- Novamente lavaram-se as lâminas com PBS, e então elas foram incubadas com o anticorpo secundário por 30 minutos em temperatura ambiente, e subsequentemente com o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (LSAB+, DAKO A/S, Glostrup, Denmark K-690) por 30 minutos igualmente em temperatura ambiente.
- Todas as reações foram reveladas utilizando-se a solução cromogênica diaminobenzidina. A contracoloração foi feita com hematoxilina de Harris.
- As lâminas foram então desidratadas, diafanizadas e montadas.

Para a análise imuno-histoquímica foi utilizado como referência os critérios listados no protocolo de avaliação do câncer gástrico do CAP, que são os critérios propostos no estudo ToGA:

- Negativo 0: Imunorreatividade ausente ou em menos de 10% das células tumorais.
- Negativo 1+: Imunorreatividade fraca em mais de 10% das células tumorais.
- Positivo 2+: Imunorreatividade moderada em porção basolateral ou lateral em mais de 10% das células tumorais.
- Positivo 3+: Imunorreatividade forte em porção basolateral ou lateral em mais de 10% das células tumorais.

Todas as reações foram feitas utilizando como controle um bloco de adenocarcinoma ductal de mama HER2 escore 3+. As reações que porventura tiveram seus controles com expressão negativa, foram desconsideradas e repetidas até se conseguir uma reação com controle positivo.

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação estatística dos dados da análise histopatológica e imuno-histoquímica foi utilizado o programa GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) e aplicados os testes de Qui-quadrado e o teste exato de FISCHER.

Foram considerados os valores de significância estatística menor ou igual a 5% ($p \leq 0,05$).

6 RESULTADOS

A pesquisa inicial no sistema digital de laudos do CAP-HUB encontrou 2.703 casos. Após o refinamento proposto, restaram 251 casos. Destes, 129 foram eliminados pelos critérios de exclusão e dezesseis casos foram excluídos por não haver blocos no arquivo (Figura 1).

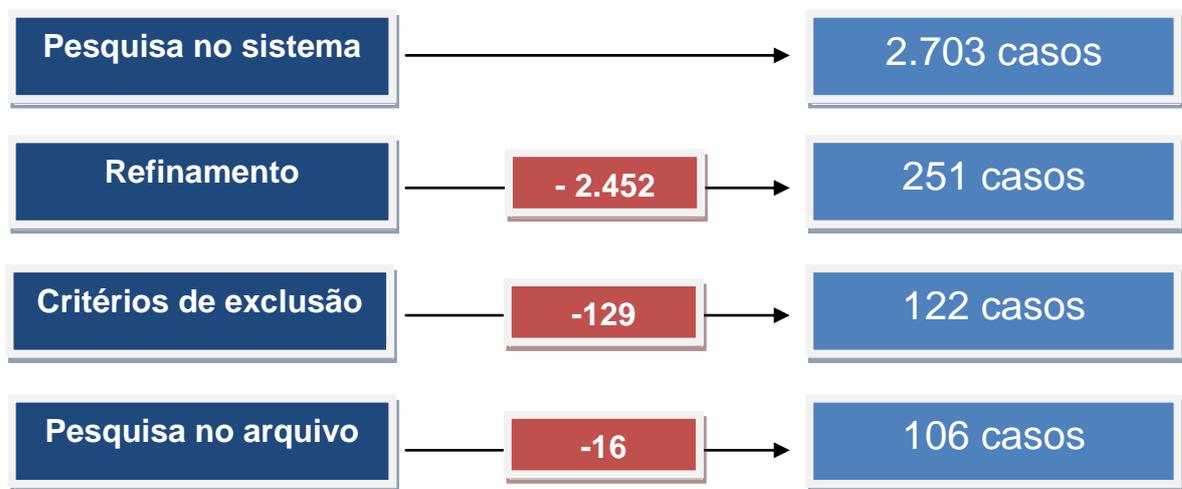


Figura 1. Organograma dos casos do estudo.

6.1 DESCRIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Os 106 casos (n total=106) que se encaixaram no delineamento do estudo abrangeram o período entre 12/08/2002 e 06/03/2013. Deles 65 (61,3%) eram homens e 41 (38,7%) mulheres, com idade média, respectivamente, de 59,4 anos (26 - 84 anos) e 63,2 anos (32 - 81).

6.2 DESCRIÇÃO DA RELAÇÃO COM OS FATORES PROGNÓSTICOS

Na nova avaliação realizada, verificou-se que todos os casos utilizavam a classificação de Laurén para definição do Tipo Histológico. Estes foram revistos e usado o formulário proposto pela Organização Mundial de Saúde para a classificação histológica do tipo intestinal de Laurén em adenocarcinoma tubular ou papilar, e tipo difuso de Laurén em adenocarcinoma mucinoso ou pouco coeso.

Foram verificados 23 casos de carcinoma de células de anel de sinete, estes reclassificados como adenocarcinomas pouco coesos.

Todos os 106 casos foram submetidos ao exame imuno-histoquímico para a marcação do receptor HER2. Destes, 87 (82,07%) foram considerados HER2 escore 0 (Figura 2a), 7 (6,60%) escore 1+ (Figura 2b), 7 (6,60%) escore 2+ (Figura 2c) e 5 (4,73%) escore 3+ (Figura 2d).

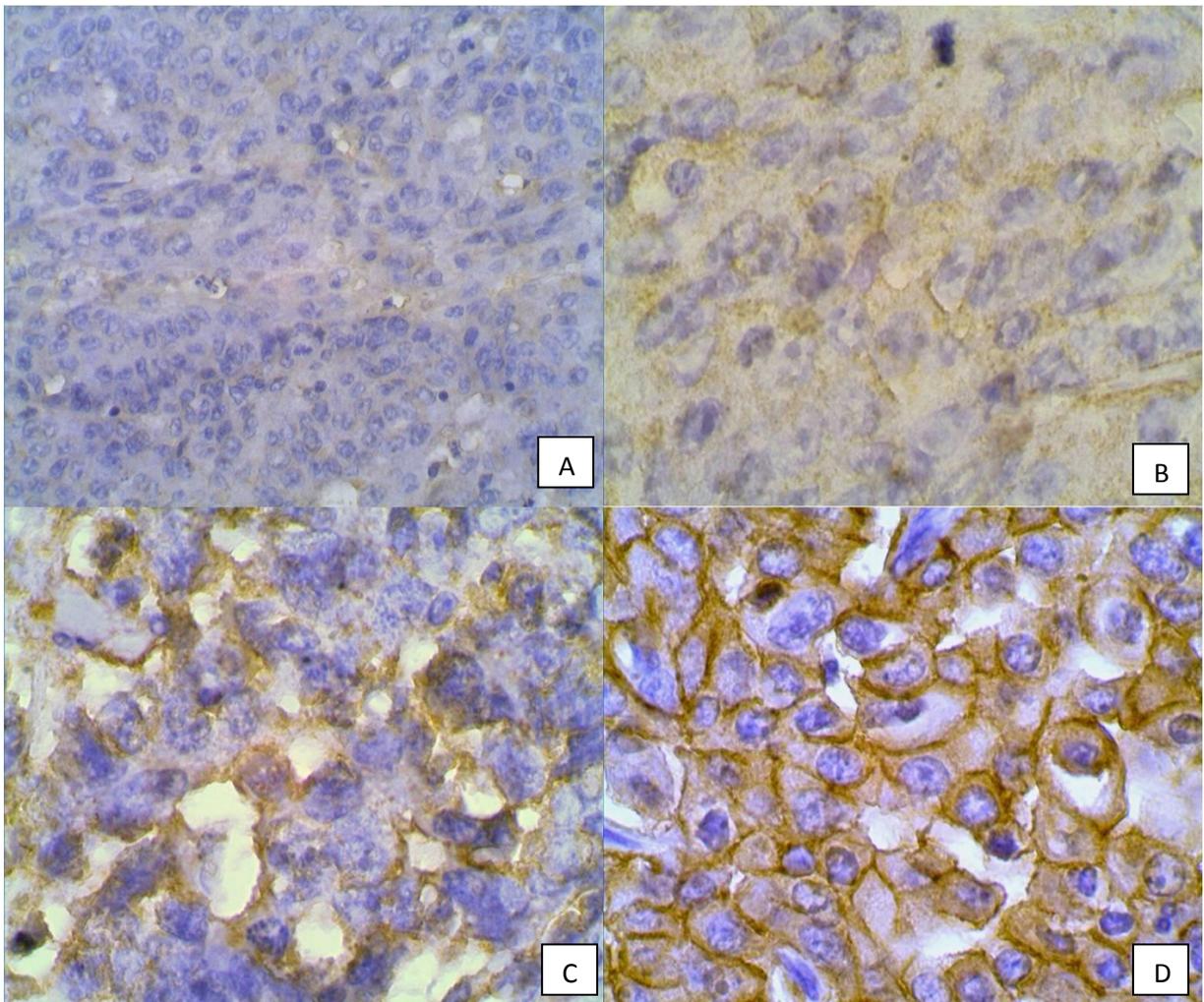


Figura 2. A. HER2 escore 0 200x: Marcação ausente ou fraca em menos de 10% das células. B. HER2 escore 1+ 400x: Marcação fraca em mais de 10% das células. C. HER2 escore 2+ 400x: Marcação moderada em mais de 10% das células. D. HER2 escore 3+ 400x: Marcação forte em mais de 10% das células.

Para fins analíticos, foram agrupados os escores da marcação do HER2 0 e 1+ em negativo (94 casos) e os escores 2+ e 3+ em positivo (12 casos) (Tabela 1).

Tabela 1. Escores imuno-histoquímicos do HER2 nos casos de adenocarcinomas gástricos.

	Total	HER2	
		Negativo	Positivo
n	106	94 (88,6%)	12 (11,4%)

A média do tamanho das lesões foi maior nas amostras HER2 consideradas negativas do que nas positivas, com o diâmetro médio de, respectivamente, 5,72 cm contra 4,13 cm (Tabela 2)

Tabela 2. Tamanho médio do maior eixo dos casos de adenocarcinomas gástricos.

	Total	HER2	
		Negativo	Positivo
Maior eixo (média)	4,91 cm	5,72 cm	4,13 cm

O tipo histológico mais encontrado de acordo com a nova classificação da OMS foi o adenocarcinoma tubular (n= 65), sendo que destes, 56 (86,1%) eram HER2 negativos e 9 (13,9%) HER2 positivos. O segundo tipo mais encontrado foi o adenocarcinoma pouco coeso (34 casos), seguido pelo tipo misto (4 casos) e pelo adenocarcinoma mucinoso (3 casos). Não foi evidenciado adenocarcinoma papilar nos casos analisados (Tabela 3). Não foi observada diferença significativa entre os adenocarcinomas do tipo intestinal e difuso de Laurén com relação à super-expressão de HER2 ($p=0.7479$, teste de Fisher).

Tabela 3. Classificação dos adenocarcinomas de acordo com a OMS (2010).

	Total	HER2	
		Negativo	Positivo
Tubular	65	56	9
Papilar	0	0	0
Mucinoso	3	3	0
Pouco coeso	34	31	3
Misto	4	4	0

Em relação às demais características, como grau de diferenciação, extensão tumoral microscópica, invasão angiolinfática, infiltração perineural e comprometimento nodal, não foi verificada associação estatisticamente significativa entre a positividade do HER2 e estes fatores (Tabela 4).

Para fins analíticos, a extensão microscópica foi agrupada de acordo com as categorias do estadiamento T e a metástase nodal agrupada em “presente” ou “não evidenciada”.

Tabela 4. Fatores prognósticos e marcação HER2 nos casos de adenocarcinomas gástricos.

	Total	HER2		Valor de <i>p</i>
		Negativo	Positivo	
Grau de diferenciação				
g1	16	13	3	0,4297
g2	38	33	5	
g3	52	48	4	
Extensão microscópica				
pT1	17	16	1	0,7594
pT2	15	13	2	
pT3	33	29	4	
pT4	41	36	5	
Margens cirúrgicas				
Livres	87	77	10	1,0000
Comprometidas	19	17	2	
Invasão vascular				
Presente	64	54	10	0,1189
Não evidenciada	42	40	2	
Invasão perineural				
Presente	47	40	7	0,3627
Não evidenciada	59	54	5	
Metástase nodal				
Presente	66	57	9	0,5286
Não evidenciada.	40	37	3	

Em relação ao sítio anatômico da lesão, houve uma variação na forma da descrição dos casos, com a maioria dos laudos explicitando a localização da neoplasia na macroscopia em grande ou pequena curvaturas. Apesar das distâncias para as margens cirúrgicas estarem sempre presentes, não foi possível precisar com segurança se a lesão estava localizada em fundo, corpo ou antro.

A especificação quanto à localização dos linfonodos, em pequena curvatura, grande curvatura, sítios esplênico ou pancreático, não foi item constante nos laudos, o que é compatível com a saída deste tópico do protocolo de avaliação da neoplasia gástrica.

Todos os resultados detalhados do HER2 estão disponíveis no apêndice.

7 DISCUSSÃO

A descoberta da amplificação do receptor HER2 no adenocarcinoma gástrico foi um grande passo no entendimento da carcinogênese desta lesão prevalente e de alta mortalidade. Contudo, ainda existem divergências na literatura científica quanto a sua real frequência e importância no prognóstico do câncer de estômago, em contraste com o seu papel já bem estabelecido no câncer de mama, no qual a pesquisa da super-expressão deste receptor é mandatória em todos os casos de neoplasia maligna (65).

A pesquisa imuno-histoquímica deste receptor ainda é um item opcional e não obrigatório no protocolo do CAP, muito embora a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e a Administração Federal de Alimentos e Drogas (FDA), órgãos da união europeia e Estados Unidos da América respectivamente, tenham aprovado e liberado o uso do trastuzumabe como terapia combinada junto com a quimioterapia convencional, em casos de adenocarcinoma gástrico metastático ou doença avançada, desde 2010 (23).

De fato, a positividade do HER2 no adenocarcinoma gástrico é bem variada de acordo com a literatura científica, com alguns estudos mostrando menos de 10% de positividade, até outros que encontraram mais da metade dos casos de adenocarcinoma tubular positivos para HER2. Grabsch et al (2010) avaliou este marcador em 924 pacientes distribuídos entre Alemanha e Inglaterra, com uma positividade de apenas 4,4% (64). Outro estudo realizado por Allgayer et al (2000) com 247 pacientes evidenciou a presença de amplificação do HER2 em 53,4% dos casos (65).

Jorgensen et al (2012) em uma revisão sistemática verificou uma média de positividade do HER2 no adenocarcinoma gástrico de 17,9%. Em nossa pesquisa, encontramos a amplificação HER2 em apenas 11,4% dos casos. Esta pequena diferença pode ser mais fruto do número reduzido de pacientes do nosso estudo em relação à casuística dos outros trabalhos, do que uma variação regional populacional verdadeira, muito embora o autor não cite se houve ou não padronização quanto ao método de avaliação da reação da imuno-histoquímica entre os trabalhos, nem se esta foi realizada em biópsias incisionais ou nas peças cirúrgicas (59).

A faixa etária média em torno dos 60 anos e preferência pelo sexo masculino encontradas em nosso estudo são compatíveis com o perfil demográfico do adenocarcinoma gástrico na população ocidental. Esta é uma doença que tem grandes diferenças globais em relação à prevalência e comportamento clínico, com as maiores taxas de incidência sendo encontradas no oriente, em especial no Leste Asiático, com cerca de 70 casos/100.000 habitantes em contraste com <15 casos/100.000 habitantes nas Américas e África. Esta grande diversidade regional pode ser uma das causas da alta variação das frequências encontradas na literatura sobre a super-expressão do HER2 (13).

O tamanho médio em nossos casos foi de 4,91 cm. Vale ressaltar que não foram incluídos no estudo casos de ressecção endoscópica curativa, a mucosectomia, o que representa a parcela de lesões com menor diâmetro. Kim et al (2012) contudo, verificou que em 268 casos de pacientes com o diagnóstico de adenocarcinoma, entre 2004 e 2012, compreendendo tanto lesões precoces quanto tardias, o tamanho médio total das lesões encontrado foi de 4,10 cm (28).

Esse valor maior que 4,0 cm de diâmetro médio das neoplasias gástricas, assim como o encontrado em nosso estudo, sugere que os adenocarcinomas de estômago são operados já em estágios avançados da doença, sendo as lesões menores que 2,0 cm, os adenocarcinomas precoces, representando uma pequena parcela dos casos diagnosticados (28).

Em nossa série, as lesões HER2 negativas tiveram um tamanho médio de 5,72 cm e as HER2 positivas com 4,13 cm. Apesar desta pequena diferença, uma neoplasia com mais de 5,0 cm é correlata a um pior prognóstico, como verificado por Zu et al (2013), em um estudo com 1.800 pacientes. Neste os adenocarcinomas gástricos com mais de 5 cm de diâmetro eram diretamente relacionados a um pior prognóstico, maior estadiamento pT, menor sobrevida em 5 anos e mais comprometimento nodal no momento do diagnóstico (26).

Contudo, a super expressão do HER2 parece não ter relação com o tamanho destas lesões. Hsu et al (2011) estudou, dentre outras características, o diâmetro dos adenocarcinomas gástricos e sua relação com o HER2 em 1.036 pacientes que foram submetidos a gastrectomia curativa no período 1999 e 2007, no Hospital Memorial Chang Gung, Taiwan. Neste, verificou-se que as neoplasias HER2 negativas tiveram um tamanho médio de 4,5 cm, enquanto os cânceres com marcação HER2 positiva apresentam um tamanho médio de 4,4 cm, não sendo a

super-expressão do HER2 um fator correlato ao diâmetro da lesão, com um $p=0,894$ (61).

O tipo histológico mais encontrado no adenocarcinoma gástrico é o tipo intestinal de Laurén, com Vargas et al (2013) sugerindo uma porcentagem total de 66% contra 28% do tipo difuso. A positividade do HER2 dentro deste contexto ainda necessita de mais estudos para sua definição, entretanto, existe uma forte tendência para que a associação do HER2 seja de fato com o adenocarcinoma tipo intestinal de Laurén (33).

Yan et al (2011) em uma série de 145 casos de câncer de estômago verificou que dos casos positivos para HER2, 86,3 % destes eram em adenocarcinomas tipo intestinal de Laurén (57). Hsu et al (2011) também verificou que dos casos HER2 positivos, a grande maioria foi encontrada nos tipo intestinal (76,6%) em contraste com o tipo difuso (12,5%) e misto (10,9%), com um valor de $p<0.001$ (61).

Em contrapartida, Wang et al (2011) utilizou para a classificação dos adenocarcinomas gástricos a sugerida pela OMS, e obteve dentre os casos positivos para HER2 (100%) os tipos tubular (16,8%), papilar (16,6%), mucinoso (25,0%) e pouco coeso (41,6%), com um valor de $p=0,729$, sugerindo não haver correlação entre a positividade deste marcador e o tipo histológico (51).

Também foi utilizada em nosso estudo a classificação da OMS, em acordo com a sugestão do protocolo do CAP para avaliação morfológica do câncer de estômago. Dos casos com super-expressão para o HER2, 75%, foram encontrados em adenocarcinomas tubulares e 25% em adenocarcinomas pouco coesos. Não encontramos positividade do HER2 para os adenocarcinomas papilares ou mucinosos em nosso estudo.

O grau de diferenciação tumoral é um fator prognóstico associado à progressão da doença. Acredita-se que quanto mais mutações cromossômicas as células tumorais acumularem, mais elas se afastam do fenótipo original, portanto menor diferenciação tumoral e maior é a agressividade da neoplasia (67). Como os adenocarcinomas gástricos geralmente são diagnosticados em estágios avançados da doença, o grau de diferenciação geralmente também é mais avançado no momento da cirurgia. Kroepil et al (2013) em uma série de 129 pacientes verificou que 122 (94,5%) destes foram classificados como adenocarcinoma grau 3 (32). Em concordância, Vargas et al (2013) analisou os fatores prognósticos em 120

adenocarcinomas gástricos, destes 12 (10,0%) eram bem diferenciados, 42 (35,0%) moderadamente diferenciados e 66 (55,0%) pouco diferenciados (33).

Alguns autores, para agilizar a análise estatística dos estudos, agrupam as categorias G1 e G2 em lesões diferenciadas e G3 e G4 em lesões não-diferenciadas. Patel et al (2007) estudou a relação entre a diferenciação tumoral e a sobrevida em 773 adenocarcinomas avançados, classificando 557 (72,0%) destes em lesões não-diferenciadas, pouco (G3) ou indiferenciadas (G4), e com uma sobrevida pós-cirúrgica de 7,6 meses, quando comparada com 8,0 meses das 181 (23,4%) neoplasias classificadas como diferenciadas, bem (G1) ou moderadamente (G2), com um $p=0.004$ (37).

Em nosso estudo encontramos 15,0% dos casos como G1, 35,8% como G2 e 49,2% casos G3. Não foram evidenciados casos indiferenciados (G4) na série examinada. A positividade do HER2 foi mais comum nos adenocarcinomas moderadamente diferenciados (41,6%), seguidos pelos pouco diferenciados (33,3%) e bem diferenciados (25,1%), não sendo observada a associação entre a positividade deste receptor e a graduação com um $p=0,4297$.

Song et al (2009) em semelhança ao nosso estudo, não evidenciou associação entre o HER2 e o grau de diferenciação tumoral em 83 casos estudados. Dos casos positivos para a amplificação deste receptor, 55,1% eram pouco diferenciados, 20,6% tinham diferenciação moderada, 17,2% eram bem diferenciados e 7,1% indiferenciados, com um valor de $p=0,270$, não sendo esta associação significativa. Por outro lado, Ieni et al (2013) em uma análise de 304 pacientes operados por câncer de estômago evidenciou, nos 53 (17,4%) casos com super-expressão do HER2, uma correlação positiva entre este receptor e as neoplasias de alto grau, ou pouco diferenciadas, com um $p=0.011$. A presença desta discrepância entre os achados pode refletir a incerteza em torno do HER2 como fator associado à diferenciação tumoral, além de ilustrar as diferenças regionais desse marcador (68).

A extensão microscópica é um dos parâmetros mais importantes no adenocarcinoma gástrico, sendo utilizada para o cálculo do estadiamento T. Em nosso estudo, como foram excluídos os casos de ressecção endoscópica, esperaria-se uma perda dos casos mais precoces, com invasão apenas da mucosa ou muscular da mucosa. Contudo ainda encontramos 17 (16,0%) casos restritos a mucosa ou submucosa (pT1), enquanto 15 (14,1%) casos alcançavam a camada

muscular própria (pT2), 33 (31,3%) infiltravam até a subserosa e a maioria, 41 (38,6%) casos, acometiam a serosa ou estruturas adjacentes.

A maior porcentagem dos casos enquadrados como pT3 e pT4 reforçam a premissa de que os adenocarcinomas gástricos são diagnosticados tardiamente, tanto pelo fato do estômago ser um órgão oco e permitir o crescimento tumoral sem sintomas alarmantes no início, quanto por essa sintomatologia ser comumente confundida com a de uma gastrite simples (30).

Todavia, Selçukbirick et al (2012), assim como Gresta et al (2013), verificaram em pacientes com adenocarcinoma gástrico (n total de 277 e 95 respectivamente), que a maioria das lesões foi classificada em pT3 (59,9% e 53,7%), divergindo com os resultados obtidos em nossa série, em que a maioria das lesões foi avaliada como pT4 (41, 46).

Esse resultado pode ser justificado pelo perfil de atendimento da gastroenterologia do HUB, que é um serviço de referência oncológica na saúde pública do Distrito Federal e por isso absorve os casos mais graves da rede.

Apesar da maioria dos nossos casos serem adenocarcinomas avançados, não encontramos associação estatística forte entre a marcação do HER2 e a profundidade de invasão tumoral, muito embora a positividade deste marcador tenha sido mais evidente em casos pT4 (41,6%) em relação aos pT3 (33,3%), pT2 (16,6%) e pT1 (8,5%), com um $p=0,7594$

Em contrapartida, Yan et al (2011) e Wang et al (2011) encontraram uma associação entre a expressão deste receptor e os estadiamentos pT3 e pT4, com valores de $p<0.05$ e $p=0.27$, respectivamente, sugerindo que a presença do HER2 seja preditor de neoplasia mais localmente agressiva. Já Chua et al (2011), em acordo com o nosso estudo, em uma revisão sistemática verificou que a maioria dos artigos encontrados (12 de 17; 71%) não associava o HER2 à profundidade de invasão tumoral. Apesar da divergência de resultados, deve-se levar em consideração que este último trabalho referido, por se tratar de uma revisão sistemática, possui um nível de evidência maior que os primeiros citados (69).

As margens cirúrgicas são um grande preditor de recorrência do adenocarcinoma gástrico e, portanto, um dado importante a ser avaliado no protocolo. Dos casos examinados, 82,0% apresentavam margens cirúrgicas livres e em apenas 18,0% encontramos células tumorais em pelo menos uma das margens, proximal, distal ou radial. Entretanto, não foi precisado em nosso estudo se o caráter

das cirurgias era curativo ou paliativo, sendo que o cuidado cirúrgico com as margens varia conforme o procedimento proposto.

Não encontramos associação entre a positividade do HER2 e o status das margens, apesar da grande maioria dos casos com amplificação (83,3%) terem sido encontrados nas peças livres de neoplasia nas bordas cirúrgicas. Com maior precisão, Hsu et al (2011) evidenciou uma associação estatística significativa entre a negatividade da margem cirúrgica e a expressão do HER2, com um $p=0.015$, sugerindo a positividade do HER2 como um provável fator protetor em relação a este parâmetro (61).

A invasão angiolímfática tem uma grande relação com a presença de metástases, tanto linfonodais quanto a distância. Dadas as relações destes padrões de disseminação com, respectivamente, a infiltração linfática e a infiltração venosa, alguns autores citam separadamente a invasão de vênulas da invasão linfática. Todavia, ao utilizarmos como base o protocolo da CAP, esta diferenciação não foi realizada em nosso estudo (23).

Dos casos avaliados, 64 (60,3%) apresentavam infiltração vascular e destes, 10 (15,6%) eram HER2 positivos, não sendo evidenciada associação estatística forte entre o HER2 e esta característica, com um $p=0,1189$. Em consonância com os nossos achados, Chua et al (2011) em sua revisão sistemática, evidenciou que a maioria (8 de 11; 73%) dos trabalhos analisados não relacionava a amplificação deste receptor com a presença de invasão da microvasculatura por células tumorais (69).

Apesar de a invasão perineural ser um item opcional na avaliação do câncer gástrico, de acordo com o protocolo da CAP, ela pode ser um das vias de disseminação utilizada pela neoplasia para comprometer os linfonodos. Assim, realizamos a análise deste parâmetro, com a maioria das lesões (59 em 106; 55,6%) não apresentando infiltração do perineuro dos plexos nervosos de Meissner ou de Auerbach, nem dos filetes nervosos da subserosa. De forma contrária, Selçukbiricik (2012) visualizou a presença de invasão do perineuro em 71,4% dos 277 casos analisados, sendo estes principalmente encontrados em adenocarcinomas com infiltração até a subserosa (46).

Não encontramos associação estatística entre a positividade do HER2 e a invasão perineural, muito embora 58,3% dos casos com super-expressão desta proteína tenham sido positivos para infiltração neural. Hsu et al (2011) em sua série

de adenocarcinomas gástricos e associação entre o HER2, apesar de ter encontrado 54,7% das lesões com amplificação para este receptor com a infiltração neural, evidenciou na análise estatística um valor de $p=0,754$, sugerindo não haver associação estatisticamente significativa entre a positividade do HER2 e a infiltração perienural (61).

A presença de metástase linfonodal é um parâmetro que, quando positivo, acarreta em uma grande morbidade e mortalidade para os pacientes. Kim et al (2009) em uma análise sobre a recorrência do adenocarcinoma após a tentativa de ressecção curativa, com um n total de 1.786 pacientes, verificou que a recorrência era significativamente mais freqüente em casos com positividade nodal ($p<0.001$), e que quanto mais linfonodos comprometidos, maior a chance do retorno da malignidade (70).

Muito embora o protocolo da CAP estruture o comprometimento nodal em seis níveis diferentes de acordo com o número de linfonodos positivos, em nosso estudo foi preferido o agrupamento dos níveis e utilizado uma classificação em metástase nodal presente ou não evidenciada. Esta dicotomização teve a finalidade de potencializar a análise estatística, já que obtivemos um número relativamente pequeno de casos.

Apesar disto, não encontramos associação entre a positividade do HER2 e o comprometimento nodal, com apenas 13,6% (9 em 66) das neoplasias com metástase linfonodal positiva para a amplificação do HER2 ($p=0,5286$). De forma semelhante, Shan et al (2013) em um estudo da expressão do HER2 na população chinesa, conseguiu reunir 1.463 pacientes com adenocarcinomas gástricos no Instituto Chinês de Ciências Médicas em Beijing. Neste, observou-se que 411 (28,0%) casos não apresentavam comprometimento nodal, enquanto 1.052 (72,0%) já apresentavam metástase em pelo menos um linfonodo no momento do diagnóstico. Dos casos positivos apenas 23,6% (249 em 1.052) apresentavam escores 2+ ou 3+ para o HER2, com um $p=0.074$, não sendo estatisticamente significativa esta associação (71).

Apesar de em nossa série não encontrarmos associação estatística entre a positividade do HER2 e os fatores prognósticos testados, algumas revisões sistemáticas atuais tem mostrado que este receptor é um possível fator de pior prognóstico.

Maresch et al (2011) realizou uma revisão de 35 artigos no período de 1991 a 2010, abrangendo cerca de 9.063 pacientes, em um estudo sobre a super-expressão do HER2 em adenocarcinomas gástricos e gastroesofágicos. Em 22 (62,8%) artigos foi verificada que a amplificação do HER2 estava relacionada com uma baixa sobrevida pós-cirurgia, recorrência da doença, pior diferenciação tumoral (G3) e aumento do risco de metástases tanto linfonodal quanto a distância. Contudo, o autor cita que a maioria destes estudos não padronizou a avaliação imunohistoquímica, com vários aplicando como escore do HER2 o utilizado para o câncer de mama (72).

Chua et al (2012) revisou 49 artigos publicados entre 1990 e 2011 no MEDLINE e PubMed, contendo 11.337 pacientes com adenocarcinomas gástricos. Nestes, verificou-se uma grande faixa de frequência da positividade do HER2 (4% - 53%), variação esta atribuída a diferenças nos métodos de avaliação da imunohistoquímica. Além disso, das características clinicopatológicas estudadas, foi atribuída relação com a positividade deste receptor apenas em duas: na pior sobrevida dos pacientes, com casos HER2 + com uma sobrevida média de 21 meses enquanto os HER2 - apresentavam uma sobrevida média de 33 meses; e no tipo histológico, sendo o padrão intestinal de Laurén associado à positividade do HER2 (69).

Jorgensen et al (2012) realizou uma revisão sistemática com os artigos em inglês publicados no Pubmed no período entre 1986 e 2011 relacionados ao HER2, com no mínimo 100 pacientes, encontrando 48 resultados e somando 17.338 pacientes. Nestes também foi mostrada uma forte associação entre a positividade do HER2 e o tipo intestinal de Laurén, e a menor sobrevida em pacientes com HER2 positivo. Além disso, 33% dos artigos analisados mostraram associação entre a amplificação do HER2 e um maior risco de comprometimento nodal, metástase à distância e profundidade de invasão (pT4), enquanto 28% destes não verificaram associação entre o HER2 e os fatores prognósticos. Quando comparado estes dois grandes grupos, o autor cita que não há peso estatístico suficiente para afirmar qual destes, se os estudos “positivos” ou os estudos “negativos”, têm maior nível de evidência científica (59).

Apesar desta relação do HER2 como fator prognóstico não estar bem estabelecida, sua importância no câncer gástrico se mantém. Bang et al (2012) em um levantamento sobre as novas possibilidades terapêuticas associadas ao HER2,

afirma que outros medicamentos, além do trastuzumabe, como o lapatinib e o pertuzumab, podem utilizar este receptor como alvo quimioterápico, com resultados promissores. O autor também afirma que apesar da possibilidade da super-expressão do HER2 não ser um indicativo de pior progressão da doença, ele é indubitavelmente um marco no adenocarcinoma de estômago, tanto por ajudar na melhor compreensão da carcinogênese, quanto por ser um alvo terapêutico importante (58).

O nosso estudo possui várias limitações como o número reduzido de pacientes (106) neste marcador que parece ter na literatura uma porcentagem de positividade em torno de 15%, o que pode ter subestimado a relação estatística encontrada. Além disso, não houve seguimento dos pacientes nem análise de prontuário sobre o desfecho dos casos, como tempo de sobrevivência ou presença de metástases à distância, características citadas como tendo relação com o HER2.

Foi, também, utilizada para análise dos casos a classificação da OMS, muito embora a grande porcentagem dos trabalhos ainda utilize a classificação de Laurén, que agrupa os 4 tipos histológicos citados na primeira em apenas 2, o que pode aumentar a chance de uma análise estatística significativa.

Apesar de não ter sido utilizado um teste confirmatório das amostras classificadas como escore 2+ para o HER2, como o FISH, vários estudos tem relatado que no câncer gástrico há uma concordância de aproximadamente 93,5% entre a IHC e os testes de hibridização *in situ*, o que nos passa uma boa margem de segurança em considerar a categoria equívoca da imuno-histoquímica (2+) como positiva (69).

Outro ponto de importante é a forma de avaliação do HER2. A adequada análise da reação de imuno-histoquímica é um processo delicado que requer redobrada atenção do patologista, além de um profundo conhecimento sobre as etapas da reação, que podem interferir na forma como a marcação se apresenta. O reflexo de que esse processo é delicado, é a presença da figura do “controle positivo” em todas as reações realizadas, controle este necessário para que seja a reação validada como satisfatória ou não. Todas as reações realizadas em nossa série foram “controladas” com a utilização de um carcinoma ductal da mama escore HER2 3+.

A ocorrência de casos falso positivos na marcação imuno-histoquímica não é comum, uma vez que a especificidade dos anticorpos é alta e as particularidades da

marcação conhecidas. No caso do HER2, é considerada a marcação como positiva apenas quando esta se encontra na membrana celular, sendo as marcações citoplasmática, nuclear ou em outras células que não as tumorais, consideradas como negativas (23).

Por outro lado, existem numerosas causas de reações imuno-histoquímicas falso-negativas, como por exemplo: o anticorpo utilizado; a preparação da peça; e a amostragem utilizada para a reação.

Abrahão-Machado et al (2013) comparou os três kits de anticorpos mais utilizados atualmente, sendo os dois primeiros aprovados pela FDA para a reação do HER2: o HERcepTest® (Dako); 4B5 (Ventana Medical Systems); e SP3 (Labvision). Neste estudo foram feitas reações imuno-histoquímicas de 199 adenocarcinomas gástricos utilizando estes três marcadores nos mesmos blocos e com os mesmos procedimentos. Todos os casos que mostravam discordâncias entre as reações de IHC eram submetidos ao CISH para confirmação. Houve uma concordância final dos resultados do HERcepTest® de 97,4%, do SP3 de 85,6% e do 4B5 de 84,1%. Muito embora o HERcepTest® tenha registrado a maior especificidade (96%) e um bom valor preditivo positivo (90%), ele teve a pior sensibilidade (47,6%) dos três marcadores avaliados. Estes dados podem repercutir em nossa série, aumentando os casos de falso-negativos para positividade do HER2 por causa do anticorpo que escolhemos (73).

A utilização da solução de 10% de formalina para fixação e preservação do material é rotineiramente utilizada nos laboratórios de anatomia patológica. Esta fixação do tecido requer um cuidado especial nas peças que podem ser candidatas para a realização de imuno-histoquímica. Oyama et al (2007) em um artigo de revisão, estudou os impactos da fixação das peças cirúrgicas na avaliação imuno-histoquímica utilizando formalina. Neste, verificou-se que um período entre 6 horas e três semanas de fixação não prejudicava a análise, enquanto um período aquém ou além a este interferia na reação imuno-histoquímica. De forma semelhante, a permanência da peça sem contato com o fixador por mais de 18 horas diminuía drasticamente a marcação dos anticorpos, este tópica era relacionado a penetração da solução de formalina em peças cirúrgicas grandes. O autor cita que esta difusão da formalina no tecido orgânico era acelerada por algumas características: alta temperatura; ph alcalino; maiores volume e concentração da solução; mais tempo em contato com o fixador; maior a pressão dentro do recipiente; maior área de

superfície de contato; e presença de capilares ou fibras musculares. Nenhuma destas características pode ser avaliada em nosso estudo, nem o tempo de fixação foi controlado, o que pode ter sido uma causa de perda marcação HER2 positiva em nossos casos (74).

A expressão do HER2 no câncer gástrico é peculiar e caracterizada por ter uma grande heterogeneidade de marcação dentro da mesma lesão, diferentemente da sua expressão no câncer de mama, que é mais uniforme. Essa diferença se refletiu na necessidade que a comunidade científica teve de criar uma nova classificação do HER2 para o adenocarcinoma gástrico, ao invés de apenas utilizar a classificação já estabelecida no carcinoma ductal.

Warneke et al (2012) em um estudo com 454 cânceres de estômago, procurou avaliar o risco de erro amostral na marcação do HER2. Realizou-se a imuno-histoquímica em um “corte inteiro” (*whole section*) de adenocarcinoma e feita concordância entre este e cinco “microbiópsias” (*tissue micro-arrays*) de partes aleatórias do mesmo tumor, estes cortes analisados por dois observadores diferentes. O autor verificou uma concordância de 75% entre as seções “inteiras” e as “microbiópsias”, o que reflete uma grande variação de expressão do HER2 dentro da mesma lesão. O autor recomenda que em casos de biópsias incisionais, cerca de 8 a 10 fragmentos sejam amostrados para minimizar o erro amostral, e em lesões primárias com amplificação negativas que apresentem pN1 ou pM1, que estas metástases sejam submetidas ao exame pela possibilidade de positividade do HER2 nas células tumorais metastáticas (75).

Apesar disto, em nosso estudo foi selecionada apenas uma lâmina de cada caso, procurando sempre que possível contemplar no mesmo corte 50% ou mais de neoplasia e o restante de mucosa gástrica não-tumoral. Contudo, dada a heterogeneidade da marcação do HER2 no câncer gástrico supracitada, existe a possibilidade de termos perdidos casos com alguma super-expressão ou mesmo subestimado a positividade em casos 1+ ou 2+ da amplificação deste receptor. Nos casos escore 0 que possuíam comprometimento nodal, os linfonodos positivos não foram submetidos a nova reação imuno-histoquímica para o HER2.

Os pontos fortes do nosso estudo são: a utilização da classificação da OMS para o adenocarcinoma gástrico, que deve ser preferida no meio acadêmico e médico em detrimento da classificação de Laurén; a realização da pesquisa do HER2 em todos os casos disponíveis no arquivo do CAP/HUB; que, apesar das

limitações expostas, houve certa concordância entre os dados da literatura e as características encontradas; e, segundo o nosso conhecimento, um dos poucos trabalhos avaliando a expressão do HER2 no câncer de estômago no Brasil.

8 CONCLUSÃO

Em nosso estudo a expressão do HER2 não foi freqüente, nem associada aos fatores prognósticos sugeridos para a avaliação do adenocarcinoma gástrico.

Entretanto, mais estudos são necessários para se estabelecer a relação deste receptor como marcador tumoral nesta neoplasia de alta prevalência e mortalidade.

9 REFERÊNCIAS

- 1- Tanizaki J, Okamoto I, Takezawa K. Synergistic antitumor effect of S-1 and HER2-targeting agents in gastric cancer with HER2 amplification. *Mol Cancer THER* 2010; 9: 1198-1207.
- 2- Dikken JL, Sandick JW, Swellengrebel HAM, Lind PA, Putter H, Jansen EPM, Boot H, Grieken NCTV, Velde CJHV, Verheij M, Cats A. Neo-adjuvant chemotherapy followed by surgery and chemotherapy or by surgery and chemoradiotherapy for patients with resectable gastric cancer (CRITICS). *BMC Cancer* 2011; 11: 329.
- 3- Matsubara J, Yamada Y, Hirashima Y. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3022-3029.
- 4- Lee MS, Cha EY, Thuong PT, Kim JY, Anh MS, Sul JY. Down-regulation of human epidermal growth factor receptor 2/neu oncogene by corosolic acid induces cell cycle arrest and apoptosis in NCI-N87 human gastric cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2010; 33(6): 931-937.
- 5- Helguera G, Rodríguez JA, Penichet ML. Cytokines fused to antibodies and their combinations as therapeutic agents against different peritoneal HER2/ neu expressing tumors. *Mol Cancer THER* 2006; 5: 1029-1040.
- 6- Song Y, Huang J, Wang JW. Correlation of HER2/ neu gene amplification and protein expression with the prognosis of advanced gastric cancer patients. *Chinese Journal of Cancer* 2010; 19: 71-75.
- 7- Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Annals of Oncology* 2008; 19: 1523–1529.
- 8- Rose JS, Saab TSB. New developments in the treatment of metastatic gastric cancer: focus on trastuzumab. *OncoTargets and Therapy* 2011; 4: 21–26.

- 9- Ross JS, Mulcahy M. Testing in gastric/gastroesophageal junction adenocarcinomas: unique features of a familiar test. *Gastrointest Cancer Res* 2011; 4: 62–66.
- 10- Freiras CS. Estendendo o conhecimento sobre a família HER-receptores para o dador de crescimento epidérmico e seus ligantes às malignidades hematológicas. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2008; 54(1): 79-86.
- 11- Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer tHERapy and targeted drug delivery. *J Control Release*. 2010; 146(3): 264–275.
- 12- Amin AT, Shiraishi N, Ninomiya S, Tajima M, Inomata M, Kitano S. Increased mRNA expression of epidermal growth factor receptor, human epidermal receptor, and survivin in human gastric cancer after the surgical stress of laparotomy versus carbon dioxide pneumoperitoneum in a murine model. *Surg Endosc*. 2010; 24: 1427–1433.
- 13- Hayashi M, Inokuchi M, Takagi Y. High expression of HER3 is associated with a decreased survival in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7843-7849.
- 14- Liang Z, Zeng X, Gao J, Wu S, Wang P, Shi X, Zhang J, Liu T. Analysis of EGFR, HER2, and TOP2A gene status and chromosomal polysomy in gastric adenocarcinoma from chinese patients. *BMC Cancer* 2008; 8: 363.
- 15- Wainberg ZA, Anghel A, Desai AJ. Lapatinib, a dual EGFR and HER2 kinase inhibitor, selectively inhibits HER2-amplified human gastric cancer cells and is synergistic with trastuzumabe in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1509-1519.
- 16- Wang J, Saukel GW, Garberoglio CA, Srikureja W, Hsueh CT. Pathological complete response after neoadjuvant chemotHERapy with trastuzumabe containing regimen in gastric cancer: a case report. *Journal of Hematology & Oncology* 2010, 3: 31.
- 17- Wang YK, Gao CF, Yun T, Chen Z, Zhang XW, Lv XX, Meng NL, Zhao WZ. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Molecular Cytogenetics* 2011, 4: 14.

- 18- Kunii K, Davis L, Gorestein J. FGFR2-amplified gastric cancer cell lines require FGFR2 and Erbb3 signaling for growth and survival. *Cancer Res* 2008; 68: 2340-2348.
- 19- Moelans CB, Diest PJV, Milne ANA, Offerhaus GJA. HER-2/neu testing and tHERapy in gastroesophageal adenocarcinoma. *Pathology Research International* 2011; Article ID 674182.
- 20- Roukos DH. Complete genome sequencing and network modeling to overcome trastuzumabe resistance. *Pharmacogenomics* 2010; 11(8): 1039–1043.
- 21- Moelans CB, Milne ANA, Morsink FH, Offerhaus GJA, Diest PJV. Low frequency of HER2 amplification and overexpression in early onset gastric cancer. *Cell Oncol* 2011; 34: 89–95.
- 22- Ruschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenar MP, Llorca FP, Nagelmeier I, Schlake W, Hofler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch* 2010; 457: 299–307.
- 23- ____, Stomach cancer protocol. College of American Pathologists. October 2013. in: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols.com.
- 24- Choritz JH, Busche G, Kreipe H. Quality assessment of HER2 testing by monitoring of positivity rates. *Virchows Arch* 2011; 459: 283–289.
- 25- Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17(11): 1501-1506.
- 26- Kim JG, Chung HY, Yu W. Recent advances in chemotHERapy for advanced gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2(7): 287-294.
- 27- Sbittil Y, Essaidi I, Debbagh A, Kadiri H, Oukabli M, Moussaid Y, Slimani K, Fetohil M, Elkaoui H, Albouzidi A, Mahi M, Ali AA, Ichou M, Errihani H. Is tHERE any advantage to combined trastuzumabe and chemotHERapy in perioperative setting HER2/neu positive localized gastric adenocarcinoma? *World Journal of Surgical Oncology* 2011; 9:112.

- 28- Bang YJ, Cutsem EV, Feyereslova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Ruschoff J, Kang YK. Trastuzumabe in combination with chemotHERapy versus chemotHERapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687–97.
- 29- ____, Committee for medicinal products for human use post-authorisation summary of positive opnion for HERceptin. European Medicines Agency. London, 17 December 2009.
- 30- Sasako M, Inoue M, Lin JT, Khor C, Yang HK, Ohtsu A. Gastric cancer working group report. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40(Supplement 1): 28–37.
- 31- Kuang RG, Wu HX, Hao GX, Wang JW, Zhou CJ. Expression and significance of IGF-2, PCNA, MMP-7, and α -actin in gastric carcinoma with Lauren classification. *Turk J Gastroenterol*. 2013;24(2):99-108.
- 32- Kroepil F, Dulian A, Vallböhmer D, Geddert H, Krieg A, Vay C, Topp SA, am Esch JS, Baldus SE, Gires O, Knoefel WT, Stoecklein NH. High EpCAM expression is linked to proliferation and lauren classification in gastric cancer. *BMC Res Notes*. 2013 Jul 5;6:253.
- 33- Rodríguez-Vargas B, Arévalo-Suarez F, Monge-Salgado E, Montes-Teves P. Histologic and endoscopic characteristics of gastric cancer diagnosed in a national hospital of Callao, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2013 Mar;30(1):12-7.
- 34- Lewin D, Lewin KJ. Stomach. In: Weidner N, editor. *Modern surgical pathology*. Philadelphia, Saunders Elsevier; 2009. p. 673-718.
- 35- Guzman G, Chejfec G. Tumours of the digestive system. In: Damjanov I, Fan F. *Cancer grading manual*. New York. Springer 2007. p. 35-46.
- 36- Inoue K, Nakane Y, Michiura T, et al. Histopathological grading does not affect survival after R0 surgery for gastric cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2002;28(6):633-636.

- 37- Patel PR, Yao JC, Hess K, Schnirer I, Rashid A, Ajani JA. Effect of timing of metastasis/disease recurrence and histologic differentiation on survival of patients with advanced gastric cancer. *Cancer*. 2007 Nov 15;110(10):2186-90.
- 38- Liang YX, Deng JY, Guo HH, Ding XW, Wang XN, Wang BG, Zhang L, Liang H. Characteristics and prognosis of gastric cancer in patients aged ≥ 70 years. *World J Gastroenterol*. 2013 Oct 21; 19(39):6568-78.
- 39- Butenko AV, Vashakmadze LA, Belous TA, Khomiakov VM, Kolobaev IV. Prognostic factors for the definition of the extent of lymphadenectomy by the early gastric cancer. *Khirurgiia (Mosk)*. 2009;(4):12-6.
- 40- Kim JY, Kim WG, Jeon TY, Kim GH, Jeong EH, Kim DH, Park DY, Lauwers GY. Lymph node metastasis in early gastric cancer: evaluation of a novel method for measuring submucosal invasion and development of a nodal predicting index. *Hum Pathol*. 2013 Dec;44(12):2829-36.
- 41- Lee JH, Son SY, Lee CM, Ahn SH, Park DJ, Kim HH. Factors predicting peritoneal recurrence in advanced gastric cancer: implication for adjuvant intraperitoneal chemotherapy. *Gastric Cancer*. 2013 Oct 8. [Epub ahead of print]
- 42- Cao F, Hu YW, Li P, Liu Y, Wang K, Ma L, Li PF, Ni CR, Ding HZ. Lymphangiogenic and angiogenic microvessel density in Chinese patients with gastric carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(8):4549-52.
- 43- Tsujimoto H, Ogata S, Yaguchi Y, Kumano I, Takahata R, Ono S, Yamamoto J, Nagao S, Miura S, Hase K. Predictive value of the pathological extent of tumor invasion in endoscopic resection margins positive for residual tumor cells in surgically resected specimens of early gastric cancer. *Exp Ther Med*. 2012 Sep;4(3):507-513.
- 44- Shin D, Park SS. Clinical importance and surgical decision-making regarding proximal resection margin for gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2013 January 15; 5(1): 4-11.
- 45- Tianhang L, Guoen F, Jianwei B, Liye M. The effect of perineural invasion on overall survival in patients with gastric carcinoma. *J Gastrointest Surg*. 2008 Jul;12(7):1263-7

- 46- Selçukbiricik F, Tural D, Büyükkunal E, Serdengeçti S. Perineural invasion independent prognostic factors in patients with gastric cancer undergoing curative resection. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 13, 3149-3152.
- 47- Ren G, Chen YW, Cai R, Zhang WJ, Wu XR, Jin YN. Lymph node metastasis in gastric cardiac adenocarcinoma in male patients. *World J Gastroenterol* 2013 October 7; 19(37): 6245-6257.
- 48- Bravo Neto GP, Dos Santos EG, Loja CA, Victor FC, Neves MS, Pinto MF, Carvalho CE. Minor gastric resections with modified lymphadenectomy in early gastric cancer with negative sentinel node. *Rev Col Bras Cir*. 2012 May-Jun;39(3):183-8.
- 49- Almeida JRC, Pedrosa NR, Leite JB, Fleming TRM, Carvalho VR, Cardoso AAA. Tumor Markers: a Literature Review. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2007; 53(3): 305-316.
- 50- Wang L, Li HG, Xia ZS, Lü J, Peng TS. IMP3 is a novel biomarker to predict metastasis and prognosis of gastric adenocarcinoma: a retrospective study. *Chin Med J (Engl)*. 2010 Dec;123(24):3554-8.
- 51- Wang YK, Gao CF, Yun T, Chen Z, Zhang XW, Lv XX, Meng NL, Zhao WZ. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Mol Cytogenet*. 2011 Jun 20;4(1):14.
- 52- Moelans CB, van Diest PJ, Milne AN, Offerhaus GJ. HER-2/neu testing and tHERapy in gastroesophageal adenocarcinoma. *Patholog Res Int*. 2010 Dec 6;2011:674182.
- 53- Lee MS, Cha EY, Thuong PT, Kim JY, Ahn MS, Sul JY. Down-regulation of human epidermal growth factor receptor 2/neu oncogene by corosolic acid induces cell cycle arrest and apoptosis in NCI-N87 human gastric cancer cells. *Biol Pharm Bull*. 2010;33(6):931-7.
- 54- Tanizaki J, Okamoto I, Takezawa K, Tsukioka S, Uchida J, Kiniwa M, Fukuoka M, Nakagawa K. Synergistic antitumor effect of S-1 and HER2-targeting agents in gastric cancer with HER2 amplification. *Mol Cancer THER*. 2010 May;9(5):1198-207.

- 55- Song Y, Huang J, Wang J. Correlation of HER2/neu gene amplification and protein expression with the prognosis of advanced gastric cancer patients. *Chinese Journal of Cancer*. 2010; 29(1): 71-75.
- 56- Rüschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Höfler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer—guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch* (2010) 457:299–307.
- 57- Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2011 Mar 21;17(11):1501-6.
- 58- Bang YJ. Advances in the management of HER2-positive advanced gastric and gastroesophageal junction cancer. *J Clin Gastroenterol*. 2012 Sep;46(8):637-48.
- 59- Jørgensen JT, HERsom M.J HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. *Cancer*. 2012;3:137-44.
- 60- Halon A, Donizy P, Biecek P, Rudno-Rudzinska J, Kielan W, Matkowski R. HER-2 expression in immunohistochemistry has no prognostic significance in gastric cancer patients. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:941259.
- 61- Hsu JT, Chen TC, Tseng JH, Chiu CT, Liu KH, Yeh CN, Hwang TL, Jan YY, Yeh TS. Impact of HER-2 overexpression/amplification on the prognosis of gastric cancer patients undergoing resection: a single-center study of 1,036 patients. *Oncologist*. 2011;16(12):1706-13.
- 62- Rose JS, Bekaii-Saab TS. New developments in the treatment of metastatic gastric cancer: focus on trastuzumabe. *Onco Targets THER*. 2011 Mar 24;4:21-6.
- 63- Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK; ToGA Trial Investigators. Trastuzumabe in combination with chemotHERapy versus chemotHERapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2010 Aug 28;376(9742):687-97.

- 64- Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol.* 2010;32(1-2):57-65.
- 65- Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. C-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol.* 2000 Jun;18(11):2201-9.
- 66- ____, Invasive breast protocol. College of American Pathologists. October 2013. in: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols.com.
- 67- Noguchi T, Wirtz HC, Michaelis S, Gabbert HE, Mueller W. Chromosomal imbalances in gastric cancer. Correlation with histologic subtypes and tumor progression. *Am J Clin Pathol.* 2001 Jun;115(6):828-34.
- 68- Ieni A, Barresi V, Giuffrè G, Caruso RA, Lanzafame S, Villari L, Salomone E, Roz E, Cabibi D, Franco V, Certo G, Labate A, Nagar C, Magliolo E, Broggi B, Fazzari C, Italia F, Tuccari G. HER2 status in advanced gastric carcinoma: A retrospective multicentric analysis from Sicily. *Oncol Lett.* 2013 Dec;6(6):1591-1594.
- 69- Chua TC, Merrett ND. Clinicopathologic factors associated with HER2-positive gastric cancer and its impact on survival outcomes--a systematic review. *Int J Cancer.* 2012 Jun 15;130(12):2845-56.
- 70- Kim JW, Hwang I, Kim MJ, Jang SJ. Clinicopathological characteristics and predictive markers of early gastric cancer with recurrence. *J Korean Med Sci.* 2009 Dec;24(6):1158-64.
- 71- Shan L, Ying J, Lu N. HER2 expression and relevant clinicopathological features in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a Chinese population. *Diagn Pathol.* 2013 May 9;8:76.
- 72- Maresch J, Schoppmann SF, Thallinger CM, Zielinski CC, Hejna M. HER-2/neu gene amplification and over-expression in stomach and esophageal adenocarcinoma: from pathology to treatment. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2012 Jun;82(3):310-22.

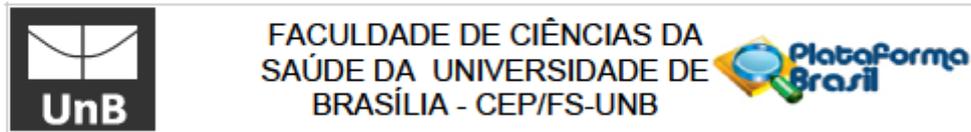
- 73- Abrahão-Machado LF, Jácome AA, Wohnrath DR, dos Santos JS, Carneseca EC, Fregnani JH, Scapulatempo-Neto C. HER2 in gastric cancer: comparative analysis of three different antibodies using whole-tissue sections and tissue microarrays. *World J Gastroenterol.* 2013 Oct 14;19(38):6438-46.
- 74- Oyama T, Ishikawa Y, Hayashi M, Arihiro K, Horiguchi J. The effects of fixation, processing and evaluation criteria on immunohistochemical detection of hormone receptors in breast cancer. *Breast Cancer.* 2007;14(2):182-8.
- 75- Warneke VS, Behrens HM, Böger C, Becker T, Lordick F, Ebert MP, Röcken C. HER2/neu testing in gastric cancer: evaluating the risk of sampling errors. *Ann Oncol.* 2013 Mar;24(3):725-33.

10 APÊNDICE

Tabela 6. Fatores prognósticos e a marcação HER2 nos casos de adenocarcinomas gástrico.

Características	HER2				
	0	1+	2+	3+	
Número de exames	87	7	7	5	106 casos
Maior eixo (média em cm)	6,06	5,38	3,76	4,5	4,91 cm
Tipo histológico					
Tubular (intestinal)	51	5	4	5	65 casos
Papilar	-	-	-	-	0 casos
Mucinoso	3	-	-	-	3 casos
Carcinoma pouco coeso	11	-	-	-	11 casos
- Carcinoma de células de anel de sinete	20	-	3	-	23 casos
Misto	2	2	-	-	4 casos
Grau histológico					
g1	11	2	1	2	16 casos
g2	30	3	2	3	38 casos
g3	46	2	4	-	52 casos
g4	-	-	-	-	0 casos
Extensão tumoral					
Mucosa	2	-	-	-	2 casos
Muscular da mucosa	-	-	-	-	0 casos
Submucosa	14	-	1	-	15 casos
Muscular própria	10	3	1	1	15 casos
Subserosa	27	2	3	1	33 casos
Serosa	29	2	2	3	36 casos
Estruturas adjacentes	5	-	-	-	5 casos
Margens cirúrgicas					
Livres	70	7	6	4	87 casos
Comprometidas	17	-	1	1	19 casos
Invasão angiolinfática					
Presente	50	4	6	4	64 casos
Não evidenciada	37	3	1	1	42 casos
Invasão perineural					
Presente	36	4	5	2	47 casos
Não evidenciada	51	3	2	3	59 casos
Metástase nodal					
Sim	51	6	5	4	66 casos
Não evidenciada	36	1	2	1	40 casos
Estadiamento patológico					
pT1a	2	-	-	-	2 casos
pT1b	14	-	1	-	15 casos
pT2	10	3	1	1	15 casos
pT3	27	2	3	1	33 casos
pT4a	29	2	2	3	36 casos
pT4b	5	-	-	-	5 casos

11 ANEXO



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil imuno-histoquímico do receptor HER2 em adenocarcinoma gástrico e correlação com fatores prognósticos.

Pesquisador:

Versão: Emanuel Adelino Medeiros Damasceno

CAAE: 1
16891613.9.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 067640/2013

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1947 **Fax:** (61)3307-3799 **E-mail:** cepts@unb.br