

**MORFOGÊNESE DOS ADENOCARCINOMAS
GÁSTRICOS E EXPRESSÃO DE E-CADERINA, β -
CATENINA, CLATRINA E MUCINAS**

EDAISE MARIA DA SILVA

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de Mestre em
Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Soares

São Paulo

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

**Preparada pela Biblioteca do Centro de Tratamento e Pesquisa
Hospital do Câncer A.C. Camargo**

Silva, Edaise Maria

Morfogênese dos adenocarcinomas gástricos e expressão de E-caderina e β -catenina, Clatrina e Mucinas. / Edaise Maria da Silva-- São Paulo, 2005.

93p.

Dissertação(mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências-Área de concentração: Oncologia.

Orientadora: Fernando Augusto Soares

Descritores: 1. ADENOCARCINOMA. 2. ESTÔMAGO. 3. MORFOGÊNESE
4. MUCINAS. 5. CLATRINA. 6. CADERINA-E. 7. MOLECULAS DE ADESÃO
CELULAR. 8. IMUNOHISTOQUIMICA.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Geraldo & Clara

Meus irmãos Edmilson e Edilaine

Todo agradecimento é pouco pelo tudo que fizeram por mim,

Todo apoio, dedicação, paciência, amizade, incentivo, confiança...

Por acreditarem sempre que eu pudesse conseguir.

Um farol me guiando através dos momentos difíceis... Um exemplo para toda a vida.

Amo vocês...

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr.Fernando Augusto Soares pela paciência, incentivo profissional, pelas lições e por todos os recursos fornecidos que possibilitaram a realização deste projeto: mais que uma oportunidade, considero um privilégio ter desenvolvido este trabalho sob sua orientação.

Aos amigos Alexandra, Yukie, André e Hugo pela amizade, incentivo, encorajamento, apoio e todo auxílio prestado. Pelos momentos de descontração e conversas agradáveis que serão lembrados pra sempre. Obrigada por tudo!

A todos os colegas de Pós Graduação, especialmente ao Dr.Victor Piana, pelas sugestões, incentivo e críticas valiosas durante a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação, em especial o diretor Dr.Luiz Fernando Lima Reis, pelo suporte na realização deste projeto. Às funcionárias Ana Maria Kuninari e Márcia Hiratani pela amizade, dedicação e auxílio indispensáveis no desenvolvimento deste trabalho.

À Sueli Nonogaki, Carlos Ferreira Nascimento e Severino Silva pelo excelente trabalho referente à preparação das lâminas e estudo imunoistoquímico.

Aos médicos titulares do Departamento de Anatomia Patológica pelo apoio e contribuição, em especial a Dra Maria Dirlei Begnami pela colaboração e revisão das lâminas.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica: do arquivo de blocos, dos laboratórios e secretaria, cada um contribuiu de alguma forma para realização deste trabalho.

A toda equipe da Biblioteca Suely, Rosinéia, Francyne e Adriana pelo excelente trabalho e presteza na pesquisa bibliográfica e formatação deste trabalho.

Aos membros da banca de qualificação Dr.Venâncio A.F.Alves, Dra.Ana Margarida M.F.Nogueira, Dr. André Montagnini e Dr. Clóvis A.L.Pinto pela colaboração e todas as sugestões no decorrer deste trabalho.

À Inês Nobuko Nishimoto pelo empenho na análise estatística deste trabalho.

À Sra. Hirde Contesine e funcionários do Serviço de Arquivo Médico do Hospital do Câncer pela orientação e colaboração no levantamento dos prontuários.

E, finalmente, a todas as pessoas e colegas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, amigo fiel e presente em todos os momentos.

Aos familiares e amigos que têm me acompanhado em todas as etapas da minha vida.

Aos amigos Daniel Onofre Vidal e Mariana Maschietto, pela amizade, pelas sugestões, pela paciência, pelo apoio e incentivo durante todo este trabalho. É um privilégio ter amigos como vocês!

Às amigas Letícia Olops e Ana Paula Raizzaro, por todo apoio e pela paciência nos momentos difíceis. Obrigada pelo incentivo, pelo companheirismo e pela certeza que vocês estão sempre torcendo por mim.

A Juliana Cuzzi, que me incentivou desde o início e me fez acreditar que eu poderia realizar um sonho.

A Amanda Gonçalves, pela amizade, apoio, companheirismo e por estar sempre por perto em todos os momentos.

É muito bom poder contar com pessoas especiais como vocês, que fazem a diferença na minha vida.

If we knew what it was we were doing, it would not be called research, would it?

Albert Einstein

RESUMO

Silva EM. **Morfogênese dos adenocarcinomas gástricos e expressão de E-caderina, β -catenina, Clatrina e Mucinas**. São Paulo; 2005. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introdução: O câncer gástrico é uma das neoplasias mais prevalentes em humanos e apresenta uma alta taxa de mortalidade. Fatores prognósticos relacionados com os aspectos moleculares não estão completamente entendidos no câncer gástrico. O presente estudo avaliou o padrão de expressão de E-caderina, β -catenina, clatrina e mucinas MUC 1, MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 em adenocarcinomas gástricos (ADG) e sua relação com os tipos histológicos (de acordo com a classificação de Laurén), variáveis clinicopatológicas e sobrevida dos pacientes.

Métodos: A imunoistoquímica foi utilizada para avaliar a expressão das proteínas em ampla série retrospectiva de 446 adenocarcinomas gástricos pelo método de *tissue microarray* (TMA). As análises estatísticas foram realizadas usando os testes do chi-quadrado ou Fisher. As curvas de sobrevida foram construídas de acordo com o método de Kaplan-Meier. Para diferenças entre as curvas, o P valor foi calculado pelo método de log rank e considerado significativo se $p < 0.05$. A análise de regressão de COX multivariada foi utilizada para obter significância prognóstica entre os diferentes padrões de coloração e a relação com outras variáveis patológicas.

Resultados: A expressão reduzida/ausente de E-caderina ocorreu mais freqüentemente nos tumores de tipo difuso (ADG-D) quando comparados aos de tipo intestinal (ADG-I) ($p < 0.001$), e correlacionou-se com pior comportamento biológico e pior prognóstico. O padrão de expressão de β -catenina correlacionou-se com o tipo

histológico e estava associado com a expressão de E-caderina e MUC 5AC. Adicionalmente, 32,8% dos tumores avaliados apresentaram expressão nuclear de β -catenina, sugerindo uma ativação da via Wnt. Embora os pacientes com expressão nuclear/ausente tenham apresentado pior índice de sobrevida, não foi encontrada nenhuma correlação estatística entre a expressão de β -catenina e sobrevida global. Uma alta porcentagem dos tumores avaliados apresentou ausência de expressão de MUC 1, correlacionando-se com tipo histológico do tumor, grau de diferenciação, expressão de E-caderina e MUC 5AC. A associação entre a expressão de MUC 1 e MUC 6 mostrou tendência à significância. Nenhuma associação foi encontrada entre expressão de MUC 1 e sobrevida global. A expressão de MUC 2 ocorreu com maior frequência nos ADG-D, e correlacionou-se com nível de infiltração, metástases em linfonodos, expressão de E-caderina, MUC 5AC e 6. A positividade para MUC 2 associou-se com melhor prognóstico, especialmente em ADG-I. Houve correlação significativa entre a expressão de MUC 5AC e grau de diferenciação, nível de infiltração, comprometimento linfonodal e expressão de E-caderina, β -catenina, MUC 1, 2 e 6. A presença de MUC 5AC associou-se com melhor prognóstico, especialmente em ADG-D. A manutenção da expressão de MUC 6 apresentou correlação com a expressão das outras mucinas (1, 2 e 5AC), metástases em linfonodos e expressão de E-caderina. Os pacientes com expressão positiva de MUC 6 apresentaram melhor prognóstico comparado aos que não expressaram MUC 6, independente do tipo histológico de tumor. Não foi observada nenhuma correlação entre a expressão de clatrina e as variáveis clinicopatológicas e sobrevida dos pacientes. Na análise multivariada, apenas o nível de infiltração e o comprometimento linfonodal persistiram como marcadores prognósticos.

Conclusão: No presente estudo, observamos uma alta frequência de expressão anormal de E-caderina / β -catenina em adenocarcinomas gástricos e uma correlação significativa com os parâmetros clinicopatológicos, assim como suas implicações na progressão e prognóstico do câncer gástrico. Demonstramos que a expressão nuclear/ausente de β -catenina ocorreu num subgrupo de ADG, mas nenhuma associação foi encontrada entre a expressão de β -catenina e a sobrevida. A expressão preservada de MUC 5AC e 6, e a presença de MUC 2 estão correlacionadas com melhor prognóstico na análise de sobrevida global. A análise de sobrevida apenas em relação aos ADG-D, selecionou a expressão de E-caderina, MUC 5AC e 6 como indicadores de melhor prognóstico e para os ADG-I, apenas MUC 2 e 6. Na análise multivariada, apenas o sistema de estadiamento TNM mostrou valor potencial na avaliação da sobrevida do paciente. A correlação com a sobrevida sugere que os padrões de expressão de E-caderina, MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 podem ser marcadores prognósticos úteis, porém estudos posteriores são necessários para melhor entendimento da relação dessas proteínas com a morfogênese do ADG.

SUMMARY

Silva EM. **Morphogenesis of gastric adenocarcinomas and the E-cadherin, β -catenin, Clathrin and Mucins expression.** São Paulo; 2005. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Background: Gastric cancer is one of the most prevalent neoplasm in humans, and it has a high mortality rate. Prognostic factors related with molecular aspects are not very well known in gastric cancer. This study aimed to evaluate the expression pattern of E-cadherin, β -catenin, clathrin and mucins MUC 1, MUC 2, MUC 5AC and MUC6 in gastric carcinomas and their relationship with histological tumor type according Laurén system, tumor clinicopathological features and patient survival.

Methods: Immunohistochemistry was performed to evaluate the expression of the proteins in a retrospective series of 446 gastric carcinomas using tissue array method (TMA). Statistical analyses were performed using chi-square or Fisher's tests. Survival curves were constructed according to the method of Kaplan-Meier. For differences between curves, the *P* value was calculated using the long rank test. A *P* value of <0.05 was considered statistically significant. A multivariate COX regression analysis was performed to assess the prognostic significance of different staining patterns and their relationship with other pathological variables.

Results: The reduced/absent expression of E-cadherin occurred more frequently in diffuse than intestinal type tumors ($p<0.001$), and it was correlated with worse biological behavior and poor prognosis. The pattern of β -catenin expression was closely related to histological type and it was associated with E-cadherin and MUC 5AC expression. Additionally, 32.8% of evaluated tumors showed β -catenin located

in the nucleus, suggesting an activation of Wnt signaling pathway. Although the patients with nuclear/absent β -catenin expression showed worse survival index, no statistical correlation was found between β -catenin and overall survival. A high percentage of the evaluated tumors displayed absence of MUC 1 expression and it was correlated with histological tumor type, differentiation grade, E-cadherin and MUC 5AC expression. Association between MUC 1 and MUC 6 expression showed trends to significance. No association was found between MUC 1 expression and overall survival. The expression of MUC 2, occurred more frequently in diffuse type tumors, and it was correlated with depth of invasion, lymph node metastasis, E-cadherin, MUC 5AC and MUC 6 expression. The MUC 2 positivity was associated with better prognosis, especially for intestinal type tumors. There was significant correlation between MUC 5AC expression and differentiation grade, depth of invasion, lymph node involvement, E-cadherin, β -catenin, MUC 1, 2 and 6 expression. The presence of MUC 5AC was associated with better prognosis, specially for patients with diffuse type tumors. There was a close relation between the maintenance of MUC 6 expression and the other mucins (1, 2 and 5AC), and it was correlated with lymph node metastasis and E-cadherin expression. The patients that exhibited MUC 6 expression showed better prognosis than those with no immunoreactivity for MUC 6, independent to histological tumor type. No correlation was observed between clathrin expression and the clinicopathological features or patient survival. In multivariate analysis, only the depth of invasion and the lymph node metastasis persisted as independent prognostic markers.

Conclusion: In the present study, we observed a high frequency of the E-cadherin/ β -catenin abnormal expression in the evaluated tumors and a significant correlation

with the clinicopathological parameters, as well as its implications for tumor progression and prognosis in gastric cancer. We also demonstrated that nuclear/absent expression of β -catenin occurs in a subset of gastric carcinomas, but no association was found between β -catenin expression and the survival analysis. The maintenance of MUC 5AC and 6 expression, and the presence of MUC 2 are correlated with good prognosis by the univariate analysis. A separated analysis for the different histological types, suggested that E-cadherin, MUC 5AC and 6 preserved expression are associated with better prognosis for the group with diffuse type tumors; and MUC 2 and 6 for the group with intestinal type tumors. According to our data, only the TNM staging system showed potential value in the evaluation of patient survival. The close correlation with survival suggests that E-cadherin and MUC 2, MUC 5AC and MUC 6 expression patterns could be useful prognostic markers, but further investigations are necessary to elucidate the relation of these proteins expression and the morphogenesis of gastric cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema simplificado da via Wnt	4
Figura 2	Esquema simplificado da construção de TMA	17
Figura 3	Expressão imunoistoquímica da E-caderina nos ADG	27
Figura 4	Expressão imunoistoquímica da β -catenina nos ADG	28
Figura 5	Expressão imunoistoquímica da Clatrina nos ADG	29
Figura 6	Expressão imunoistoquímica das Mucinas nos ADG	30
Figura 7	Sobrevida Global dos pacientes	48
Figura 8	SG dos pacientes em relação ao pT	51
Figura 9	SG dos pacientes em relação ao pN	51
Figura 10	SG dos pacientes em relação à expressão de MUC 5AC	51
Figura 11	SG dos pacientes em relação à expressão de MUC 6	51
Figura 12	SG dos pacientes em relação ao Tipo Histológico	52
Figura 13	SG dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de E-caderina	55
Figura 14	SG dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de MUC 5AC	55
Figura 15	SG dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de MUC 6	55
Figura 16	SG dos pacientes com ADG-I em relação à expressão de MUC 5AC	58
Figura 17	SG dos pacientes com ADG-I em relação à expressão de MUC 6	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Correlação entre as variáveis clinicopatológicas e os marcadores em relação ao tipo histológico	34
Tabela 2 Perfil da expressão de E-caderina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	36
Tabela 3 Perfil da expressão de β -catenina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	38
Tabela 4 Perfil da expressão de MUC 1 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	42
Tabela 5 Perfil da expressão de MUC 2 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	43
Tabela 6 Perfil da expressão de MUC5AC em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	44
Tabela 7 Perfil da expressão de MUC 6 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	45
Tabela 8 Perfil da expressão de clatrina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	47
Tabela 9 Sobrevida Global dos pacientes em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	50
Tabela 10 Sobrevida Global dos pacientes com ADG-D em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	54
Tabela 11 Sobrevida Global dos pacientes com ADG-I em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores	57
Tabela 12 Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95%	59
Tabela 13 Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95%, para os casos com ADG-D	60
Tabela 14 Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95%, para os casos com ADG-I	60

LISTA DE ABREVIATURAS

ADG	Adenocarcinoma gástrico
ADG-D	Adenocarcinoma gástrico de tipo difuso (Laurén 1965)
ADG-I	Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal (Laurén 1965)
APC	<i>Adenomatous polyposis coli</i>
<i>CDH1</i>	<i>cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)</i>
cDNA	DNA complementar
cm	centímetros
<i>c-myc</i>	<i>v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog</i>
COP I - II	coatomer
<i>CTNNB1</i>	<i>catenin (cadherin-associated protein), beta 1</i>
DNA	Acido desoxirribonucleico
E-caderina	Epithelial cadherin
GSK 3 β	Glycogen synthase kinase-3
HE	Hematoxilina-Eosina
Lab	Laboratory
LEF	Lymphoid enhancer factor
MDCK	<i>Madin–Darby canine kidney</i>
mRNA	RNA mensageiro
MPD	Morte Pela Doença
MOC	Morte por Outras Causas
MUC	Mucina, proteína
OMS	Organização Mundial de Saúde
p120	Proliferating cell nuclear protein
<i>PPARγ</i>	<i>Peroxisome proliferative activated receptor, gamma</i>
SG	Sobrevida Global
SI	Sem Informação (follow-up)
TCF	Tumor cell factor
TMA	Tissue Microarray
TNM	Sistema de classificação de tumores malignos (tumor-node-mestastasis)
UK	United Kingdom
USA	United States of America
VCD	Vivo Com Doença
VSD	Vivo Sem Doença
<i>WISP</i>	<i>Wnt-1 transformed mouse cells</i>
Wnt	Wingless-type MMTV integration site family member
β TrCP	β -transducin repeat-containing protein
μ m	micrometro
CK1	Casein kinase 1
α -catenina	catenin (cadherin-associated protein),alpha 1
β -catenina	catenin (cadherin-associated protein),beta 2

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVO.....	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1	PACIENTES E AMOSTRAS.....	15
3.2	MÉTODO DE TISSUE MICROARRAY (TMA).....	16
3.3	IMUNOISTOQUÍMICA.....	18
3.3.1	E-caderina	18
3.3.2	β -catenina.....	20
3.3.3	Mucinas	21
3.3.4	Clatrina	22
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	22
4	RESULTADOS	24
4.1	CASUÍSTICA E DADOS DA AMOSTRA	24
4.1.1	Dados demográficos.....	24
4.1.2	Dados morfológicos.....	24
4.1.3	Marcadores	25
4.2	PERFIL DOS ADG EM RELAÇÃO AOS TIPOS HISTOLÓGICOS ...	32
4.3	PERFIL DA EXPRESSÃO DOS MARCADORES	35
4.3.1	E-caderina	35
4.3.2	β -catenina.....	37
4.3.3	Mucinas	39
4.3.4	Clatrina	46
4.4	ANÁLISES DE SOBREVIDA	48
4.4.1	Sobrevida Global (SG)	48
4.4.2	Sobrevida Global em relação ao Tipo Histológico	52
4.4.3	Análise Multivariada	59
5	DISCUSSÃO	61
6	CONCLUSÃO.....	79
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

1 INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal é sede freqüente de neoplasias malignas. O câncer de estômago permanece como o terceiro tumor maligno mais freqüente no mundo, com aproximadamente 870 mil casos novos por ano. No Brasil, são estimados para o ano de 2005, cerca de 15.170 casos novos de câncer gástrico entre homens e 7.975 entre mulheres. Nos últimos anos, observa-se queda nas suas taxas de mortalidade e incidência. Esse decréscimo parece refletir uma mudança de hábitos alimentares da população, facilidades para a conservação dos alimentos, diminuição da prevalência do possível agente causal, *Helicobacter pylori*, e ainda, melhoria da qualidade do diagnóstico do câncer primário de estômago (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER 2005).

Muitos são os fatores etiológicos ligados ao desenvolvimento dos adenocarcinomas gástricos (ADG), como fatores genéticos, dietéticos e ambientais. Apesar do decréscimo de sua incidência em algumas regiões do mundo, ainda é um “desafio clínico” devido ao seu prognóstico ruim e opções de tratamento limitadas. A maioria dos casos ainda é diagnosticada em estadios avançados (FUCHS et al. 1995).

Devido a sua complexidade, é difícil relacionar o espectro morfológico com a epidemiologia, a etiologia, a patogênese e o comportamento biológico. Como resultado, nenhuma classificação histopatológica aplicada atualmente é satisfatória.

Histologicamente, os ADG podem ser subdivididos em duas categorias de acordo com o sistema de classificação de Laurén: tumores do tipo difuso (ADG-D) e do tipo intestinal (ADG-I) (LAUREN 1965).

Os ADG-D são caracterizados pela ausência de coesão entre as células, o que facilita a infiltração de células isoladas na parede gástrica. Ocorrem mais freqüentemente em pacientes jovens, especialmente na região do cárdia, e estão associados com prognóstico menos favorável (FUCHS et al. 1995). Os ADG-I são predominantes em populações de idade mais avançada e de alto risco. São caracterizados por células neoplásicas coesas formando estruturas glandulares e lesões freqüentemente ulceradas, ocorrem mais na região distal, e geralmente precedidas por lesões bem definidas como metaplasia intestinal e gastrite atrófica (LAUREN 1965, CORREA 1988). Outras classificações também são utilizadas como, por exemplo, a da Organização Mundial da Saúde (OMS) (AALTONEN e HAMILTON 2000) e mais recentemente, a de Carneiro (CARNEIRO 1997).

O prognóstico do ADG não mudou substancialmente nos últimos anos, e depende de variáveis ligadas ao paciente, ao tratamento e à biologia do tumor (ALLGAYER et al. 1997, WERNER et al. 2001, LEE et al. 2003).

Os novos conhecimentos da biologia da célula tumoral trouxeram grandes avanços no estudo do mecanismo de invasão e metástase incluindo sistemas de modificação da matriz extracelular e as proteases, perda de moléculas de adesão e outras variáveis moleculares. Os estudos relacionados com as variáveis ligadas ao paciente são conflitantes e a despeito do grande número de trabalhos publicados sobre o assunto, poucas conclusões definitivas podem ser estabelecidas (KIM et al. 1992, HAUGSTVEDT et al. 1993, RODER et al. 1993).

O tratamento do ADG é eminentemente cirúrgico e há um consenso de que o tipo de excisão cirúrgica é relevante à sobrevida e importante variável na determinação do prognóstico do paciente (CARNEIRO 1997).

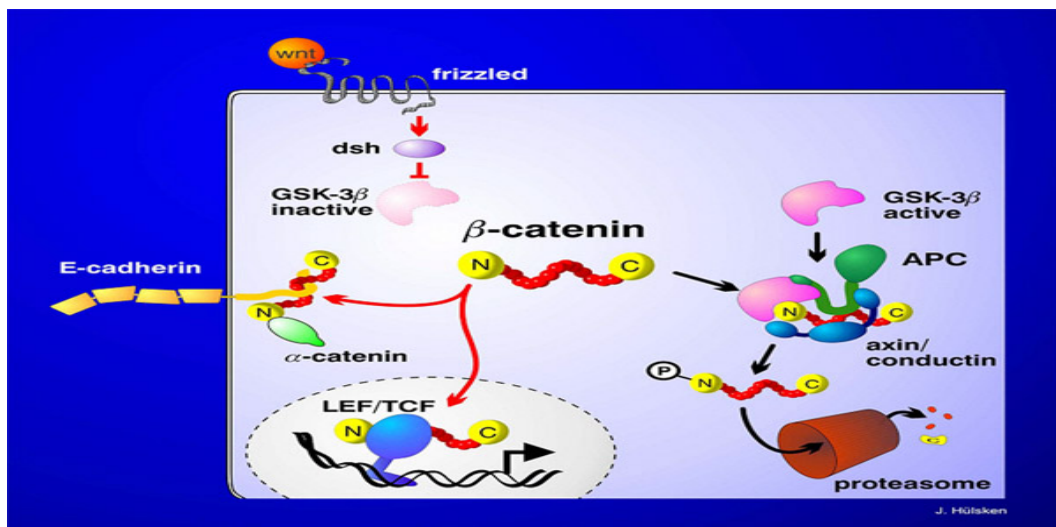
Quanto aos fatores ligados à biologia tumoral, destaca-se o estadiamento anátomo-patológico, ou seja, a extensão da infiltração local, o envolvimento linfonodal e as metástases à distância (MIWA 1984, HEISS et al. 1995). O estadiamento do câncer gástrico permanece como o principal determinante de prognóstico, confirmando a importância do nível de invasão do tumor na parede gástrica (T) e presença ou ausência de metástases em linfonodos regionais (N) ou em órgãos distantes (M), em prever sobrevida global e livre de doença. Esses fatores foram incorporados em um sistema de estadiamento chamado TNM (*tumor-node-metastasis*) (SOBIN e WITTEKIND 1998).

Em relação às variáveis biológicas, os estudos recentes são bastante amplos. Vários eventos moleculares, tais como a produção de metaloproteases e seus inibidores, receptores de fatores de crescimento, a regulação do ciclo celular, expressão de oncogenes e repressão de genes supressores de tumor estão envolvidos na patogênese do câncer gástrico (CARNEIRO 1997).

Dentre os eventos moleculares destaca-se a participação de moléculas de adesão, com especial interesse no complexo E-caderina / β -catenina. Este complexo desempenha importante papel na adesão celular e na via de transdução de sinal Wnt. O rompimento desse complexo pode levar ao desenvolvimento e progressão do câncer e está correlacionado com pior prognóstico (JAWHARI et al. 1997, NOLLET et al. 1999, GRABSCH et al. 2001, ZHOU et al. 2002, HAJRA et al. 2002).

A família das caderinas compreende glicoproteínas transmembrana cálcio-dependentes que desempenham importante papel na organização e manutenção da adesão célula-célula. A caderina epitelial (E-caderina, do inglês, *epithelial cadherin*) está concentrada na junção aderente das células epiteliais e se liga a outras moléculas

de E-caderina de células adjacentes. O domínio citoplasmático da E-caderina está ligado ao citoesqueleto de actina através de interações com as cateninas (α -, β -, γ -catenina). A β -catenina forma um complexo com a E-caderina, enquanto a α -catenina liga esse complexo ao citoesqueleto de actina (JAWHARI et al. 1997). Esta interação é fundamental para a eficiência da adesão célula-célula (TAKEICHI 1991, HIROHASHI et al. 2003) e vários estudos mostram relação entre a perda da expressão de E-caderina e/ou β -catenina e formação de metástases (KREMER et al. 2003), morfogênese e arquitetura anormais do tecido epitelial, perda da polaridade celular e inibição por contato (ZHOU et al. 2002), crescimento desregulado e invasão de tecidos adjacentes (HANDSCHUH et al. 1999, CHRISTOFORI et al. 1999). Esta interação pode ser vista na Figura 1.



Fonte: (J. Hülsken MDC Berlin)

Figura 1 - Esquema simplificado da via de sinalização Wnt

A inativação do sistema de adesão dependente de E-caderina pode ocorrer através de vários mecanismos que refletem as características morfológicas e biológicas do tumor. Estes mecanismos incluem silenciamento do gene da E-caderina

(*CDHI*) por metilação e mutações nos genes da E-caderina, α - e β -catenina (HIROHASHI et al. 2003).

No caso da E-caderina, essas mutações podem ser responsáveis por perda e ganho de função (perda das propriedades de adesão e função supressora de proliferação/aumento da motilidade celular), ambos aspectos podem ser potencialmente relevantes para o tumor e formação de metástases (CHRISTOFORI et al. 1999, KREMER et al. 2003).

Mutações germinativas do gene da E-caderina estão relacionadas com a ocorrência de ADG-D familiar (GUILFORD et al. 1998, GAYTHER et al. 1998, GUILFORD et al. 1999, CALDAS et al. 1999, HUMAR et al. 2002). A inativação do gene da E-caderina foi também demonstrada em casos de ADG do tipo difuso esporádico (ASCANO et al. 2001). Em estudos comparando os tipos histológicos, mutações no gene *CDHI* são encontradas em ADG-D (BECKER et al. 1994) mas não em ADG-I (BECKER et al. 2000, ASCANO et al. 2001, SURIANO et al. 2003).

Um amplo estudo de 413 casos mostrou que os ADG-I também podem apresentar perda da expressão de E-caderina, ocorrendo em 17,9% dos casos de ADG-I, 54,8% dos casos de ADG-D, 38,9% do tipo misto (classificação de Laurén) e 48,5% de casos classificados como indiferenciados segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). Estes dados sugerem que a perda de expressão da E-caderina está relacionada com a indiferenciação histológica da neoplasia. De fato, a falta de expressão ou expressão fraca de E-caderina foi observada em 24% dos casos de grau histológico 2, enquanto que tumores de grau histológico 3 ou 4 apresentam taxas aproximadas de perda de expressão por volta de 60%. A expressão reduzida de E-caderina correlacionou-se com a sobrevida dos pacientes de forma independente na

análise multivariada (GABBERT et al. 1996). Outro aspecto relevante é que na área de invasão, a expressão de E-caderina relaciona-se com padrões de invasão de menor coesão celular. Cerca de 75% dos casos que apresentam área de invasão com células dissociadas mostram perda total de expressão de E-caderina, e o mesmo ocorre em somente 2% dos casos apresentando áreas de invasão com preservação da estrutura glandular (GABBERT et al. 1996).

Um estudo avaliou o padrão de expressão de E-caderina e β -catenina em ADG e displasia em relação às características clinicopatológicas do tumor e sobrevida do paciente. A expressão aberrante de E-caderina e β -catenina foi observada em displasia (36% e 16% de 44 casos) e carcinomas gástricos (46% e 44% de 163 casos). Os resultados mostraram uma correlação significativa entre a expressão anormal do complexo caderina-catenina e a perda de diferenciação tumoral, além da associação entre a perda da expressão de β -catenina com prognóstico desfavorável (ZHOU et al. 2002). Esta associação entre perda da β -catenina com sobrevida foi confirmada em outro estudo, sugerindo esse marcador como um indicador de prognóstico independente (JAWHARI et al. 1997).

A perda de expressão de E-caderina é também observada em casos de ADG precoces, sugerindo que as alterações na E-caderina podem ser eventos precoces na carcinogênese gástrica. Em estudo de 45 casos de carcinoma precoce (20 ADG-I e 25 ADG-D), a perda da expressão de E-caderina foi observada em três casos (15%) de ADG-I, e em todos os casos (100%) de ADG-D (BLOK et al. 1999).

A baixa expressão de E-caderina está também relacionada com pior comportamento biológico. Em estudo de 25 casos de ADG-I, dos quais 10 tiveram recorrência e/ou metástases, a quantificação de mRNA dosada por hibridação *in situ*

colorimétrica mostrou que a expressão de E-caderina foi menor nestes casos quando comparada com casos livres de doença após quatro anos e meio de seguimento. Neste mesmo trabalho, a relação “expressão de metaloprotease/E-caderina” foi determinante prognóstico nos pontos de invasão da neoplasia (ANZAI et al. 1998).

A β -Catenina é uma proteína multifuncional que além do seu papel estrutural (componente do complexo de adesão célula-célula) também pode atuar na via de sinalização Wingless/Wnt e transcrição gênica (POLAKIS 2000). Wnts são glicoproteínas secretadas que se ligam aos receptores transmembrana chamados *Frizzled* levando à estabilização da β -Catenina citosólica. Na ausência de Wnts, como resultado de múltiplas fosforilações, a β -Catenina é “marcada” para degradação mediada por proteassomos. Essa “marcação” depende da ação conjunta de APC, axina, CK1 e GSK3 β , desencadeando a ubiquitinação da β -Catenina por β TrCP e sua degradação pelos proteassomos (LUSTIG et al. 2003). Na ativação da via Wnt, a ação da GSK3 β é inibida e como consequência, a β -Catenina se acumula no citoplasma. Esta elevação dos níveis citoplasmáticos de β -Catenina também pode ocorrer pela ativação da via Wnt ou mutação nos genes que codificam as proteínas APC, axina ou β -Catenina (CLEMENTS et al. 2002). A β -Catenina estabilizada segue para o núcleo e se liga aos membros da família TCF/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancer factor). A ligação com a β -catenina aumenta a atividade transcricional dessas proteínas e tem como alvo os genes *c-myc*, *Ciclina D1*, *matrilisina*, receptor nuclear *PPAR γ* , *Gastrina*, *Conexina 43*, *WISP1* e *WISP4* (PENNICA et al. 1998, HE et al. 1998, TETSU et al. 1999, CRAWFORD et al. 1999, HE et al. 1999, KOH et al. 2000, AI et al. 2000). A ativação dos genes alvo está associada à proliferação celular, crescimento e progressão do tumor,

desdiferenciação, proteólise, angiogênese, migração e outros aspectos que conferem maior agressividade ao tumor (BRABLETZ et al. 2002).

Alterações da expressão de β -Catenina e das moléculas envolvidas na via de sinalização Wnt são amplamente estudadas no processo neoplásico. A modificação pós-traducional da β -Catenina pela fosforilação parece romper a interação entre a E-caderina e a α -Catenina, causando perda da adesão celular dependente de caderina e potencializando o processo neoplásico (BEHRENS et al. 1996).

Em cultura de células de ADG, a ativação dos fatores transcricionais TCF/LEF esteve correlacionada com mutações de β -Catenina e γ -Catenina, mas não a inativação de E-caderina (CACA et al. 1999). O achado de mutações do gene das cateninas é controverso em ADG. Em estudo de 21 casos de ADG (16 ADG-D e 5 ADG-I), não foram encontradas mutações nos genes que codificam α -Catenina e β -Catenina (CANDIDUS et al. 1996) bem como em casos de adenocarcinomas da junção esôfago-gástrica (CHOI et al. 2000). Por outro lado, um estudo mostrou a presença nuclear de β -catenina em 90/311 (29%) casos de ADG. Setenta e três desses 90 casos foram submetidos ao seqüenciamento de DNA e 19/73 (26%) apresentaram mutações no éxon 3 do gene da β -catenina. Nos 19 casos negativos para marcação nuclear, não foram encontradas mutações (CLEMENTS et al. 2002).

Em análise por *cDNA microarray* de nove amostras de ADG transplantados em animais imunodeficientes e duas de ADG primário humano, foi detectada a expressão alterada de 38 genes em 45% das amostras. Dentre os genes com maior expressão estavam os genes da γ - e β -Catenina (EL RIFAI et al. 2001). Outro estudo também utilizando a técnica de *cDNA microarray* encontrou a superexpressão de β -

catenina em amostras de carcinomas gástricos quando comparados ao tecido normal (MEIRELES et al. 2003).

A correlação entre os diferentes padrões de expressão de β -catenina e variáveis clinicopatológicas tem sido amplamente estudada. Em alguns casos, tanto a redução/perda da expressão da β -Catenina como a marcação nuclear/citoplasmática não apresentam relação com progressão tumoral, prognóstico ou tipo histológico específico (GRABSCH et al. 2001). Esse resultado discorda apenas quanto à correlação com o tipo histológico específico quando comparado à outro estudo que observou maior frequência de redução/perda da expressão de β -Catenina nos ADG-D (NABAIS et al. 2002).

Ainda em relação ao complexo caderina/catenina, sabe-se que ao invés de ficarem sempre estáveis na superfície celular, um *pool* de E-caderina é endocitado e reciclado de volta à superfície. A clatrina é uma molécula que está envolvida nos mecanismos de transporte de moléculas da membrana por vesículas. Este transporte é realizado por vesículas revestidas (*coated vesicles*), caracterizadas por distintos arcabouços de proteínas que revestem a superfície citosólica (ALBERTS et al. 2002). Há três tipos de vesículas de acordo com as proteínas que as revestem: as revestidas por clatrina, por COPI e COPII. As vesículas revestidas por clatrina atuam no transporte a partir do aparelho de Golgi para a membrana plasmática. Um estudo em linhagem de células *MDCK* relatou que a E-caderina pode ser endocitada e reciclada de volta à superfície celular através de uma via dependente de clatrina. Experimentos que induziam alterações na endocitose mediada pela clatrina mostraram que uma redução nos níveis dessa proteína leva à redução da reciclagem de E-caderina, diminuindo sua concentração na superfície celular e conseqüentemente o

recrutamento da β -catenina no complexo. Assim, a β -catenina ficaria disponível no citoplasma para seguir para a via de sinalização nuclear (LE et al. 1999). Essa possível relação entre clatrina e β -catenina foi recentemente demonstrada através da técnica de *cDNA microarray*, relatando que os tumores gástricos têm expressão aumentada de β -catenina e expressão reduzida de clatrina quando comparados ao tecido gástrico normal (MEIRELES et al. 2003).

Um estudo recente relatou que a proteína Rac1 causa depleção de E-caderina nos locais de contato célula-célula, induzindo internalização da E-caderina por via independente de clatrina (AKHTAR et al. 2001). Outro estudo mostra que a endocitose de proteínas das junções aderente e oclusiva (*adherens and tight junctions*) é um processo mediado por clatrina. Tal mecanismo poderia causar o rompimento de contatos intercelulares durante o remodelamento normal do tecido e rompimento da barreira epitelial durante estados patológicos (IVANOV et al. 2004). A via endocítica da clatrina também pode estar envolvida na redistribuição celular de MUC1 nas células tumorais (ALTSCHULER et al. 2000).

Não há estudo na literatura pesquisada que relacione a expressão de clatrina com os aspectos morfológicos no ADG.

Uma consideração final a ser realizada é o papel das mucinas no ADG. Principal componente do muco gastrointestinal, as mucinas em geral, têm função de proteger e lubrificar a superfície epitelial. Também têm sido relacionadas com crescimento, desenvolvimento fetal, diferenciação, carcinogênese e metástases (WANG et al. 2003).

As mucinas podem ser divididas em dois grupos: (I) ligadas à membrana (MUC 1) e (II) secretórias (MUC 2, 5AC, 6) (BYRD et al. 2004). Apresentam

expressão distinta em tecido normal e carcinomas (LEE et al. 2001, SILVA et al. 2002). No epitélio gástrico normal, a MUC 1 é detectada nas células mucosas do epitélio superficial e glândulas do antro, assim como em glândulas pilóricas e oxínticas do corpo gástrico; a MUC 5AC é altamente expressa no epitélio foveolar do corpo e do antro e a MUC 6 é limitada às células mucosas do corpo e glândulas pilóricas do antro (HO et al. 1993, HO et al. 1995, DE BOLOS et al. 1995, REIS et al. 1997, REIS et al. 1998, REIS et al. 2000). A MUC 2 é expressa nas células caliciformes da metaplasia intestinal e também na região do Golgi das células foveolares na mucosa normal do antro (CARRATO et al. 1994, FILIPE et al. 1996).

O processo de transformação neoplásica no estômago está associado à diminuição dos níveis das mucinas de fenótipo gástrico (MUC 1, 5AC e 6) e expressão *de novo* de mucina intestinal (MUC 2). Observa-se que os ADG-I têm maior expressão de mucinas em relação aos ADG-D, sugerindo que a capacidade dos ADG de sintetizar mucinas participa da sua capacidade de diferenciação. Os tumores gástricos com estadio mais avançado e maior diferenciação têm maior probabilidade de co-expressar mucinas em relação aos tumores de estadio precoce e menos diferenciados (HO et al. 1995).

Uma questão a respeito das mucinas é se a expressão pode ser um indicador de prognóstico ou ter associação com características clinicopatológicas. Sabe-se que alterações nas mucinas podem contribuir para mudanças na regulação do crescimento da célula neoplásica, reconhecimento imune e adesão celular – influenciando a capacidade invasiva e metastática do câncer (HO et al. 1995).

A expressão dos diferentes tipos de mucina é encontrada em proporções diferenciadas nos ADG. MUC 1 é encontrada em cerca de 25% dos ADG, enquanto

que MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 são encontradas em 19%, 41% e 19% dos casos, respectivamente. A expressão de MUC 1 é aparentemente relacionada com pior prognóstico (LEE et al. 2001).

Um estudo relatou maior frequência da expressão de MUC 5AC em casos de carcinomas infiltrativos e difusos, e de MUC 2 em carcinomas mucinosos. Outra observação foi a associação com o local da lesão: maior expressão de MUC 5AC em antro e de MUC 2 no cárdia. Os resultados indicaram que a expressão de mucinas estava associada com o sítio de origem, mas não com o comportamento biológico (PINTO DE SOUZA et al. 2002). Em outro trabalho, os ADG tubulares mostraram expressão de MUC 1 em cerca de 80% dos casos (GÜRBÜZ et al. 2002). Em análise de 46 casos de carcinomas gástricos observou-se maior expressão de MUC 1 num grupo de pacientes considerados com melhor prognóstico (em relação ao estadiamento pTNM) (WANG et al. 2003).

Um dos métodos mais utilizados para a análise de expressão de proteínas é a imunoistoquímica. Um dos grandes problemas dos testes de imunoistoquímica é que se trata de técnica trabalhosa e relativamente cara quando realizada em grande número de casos. Isto faz com que os trabalhos sejam realizados com poucos casos, não sejam testados em duplicata / triplicata, e sejam pouco reproduzíveis. Recentemente, com o advento da técnica de *array* em tecido (TMA, do inglês *tissue microarray*) é possível que estes problemas sejam minimizados. A utilização da técnica de TMA para histologia propicia o estudo de muitos casos ao mesmo tempo, com racionalização dos custos e tempo despendido. Além disso, é possível que as reações sejam realizadas de forma repetida, à similaridade de outras técnicas experimentais, e que o resultado seja expresso pela resultante dos experimentos

(MOCH et al. 2001). Vários grupos têm utilizado essa técnica para análise de amplas séries (LEE et al. 2001, KIELHORN et al. 2003, CHUNG et al. 2004). Nosso laboratório é o primeiro no país a contar com esta técnica e acumulamos experiência para a condução dos experimentos com o uso de TMA.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é avaliar pela técnica de imunoistoquímica a expressão de E-caderina, β -catenina, clatrina e mucinas MUC 1, MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 em adenocarcinomas gástricos utilizando o método de *Tissue Microarray* e correlacionar com:

- a) tipos histológicos difuso e intestinal, segundo Laurén (1965)
 - b) variáveis demográficas (idade e gênero)
 - c) variáveis morfológicas (tamanho do tumor, grau de diferenciação, estadió clínico, profundidade da invasão e estado linfonodal)
 - d) a interrelação entre a expressão dos marcadores testados
 - e) sobrevida global
-

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PACIENTES E AMOSTRAS

Foi realizada a seleção dos casos de adenocarcinomas gástricos a partir do Banco de Dados do Departamento de Anatomia Patológica, sendo incluídos os casos de 1988-1998. Os prontuários médicos selecionados foram revistos para obtenção das informações clinicopatológicas incluindo dados demográficos, estadiamento anátomo-patológico e aspectos macroscópicos correspondentes, além dos dados de sobrevida. Neste estudo, foram considerados apenas casos onde havia peça cirúrgica, portanto todos os pacientes foram submetidos à gastrectomia neste serviço. Foram excluídos casos de biópsia, de revisão de lâminas e de pacientes que foram submetidos à cirurgia em outros serviços. O seguimento clínico dos pacientes teve início a partir da data da cirurgia até a data do óbito ou da última consulta. Os prontuários foram revistos até o mês de setembro de 2003, assim, o seguimento dos pacientes vivos foi considerado até essa data.

A casuística foi composta de 539 casos. Todas as lâminas e blocos destes casos foram recuperados do arquivo para obtenção de novos cortes e coloração em HE. Após a revisão, foram separados 485 casos para inclusão nos blocos de TMA (vide item 3.2) e 54 casos foram analisados em corte total. Destes, 45 casos eram de ADG precoce (restrito à mucosa) e 9 invasivos. Após a reclassificação histológica, 93 casos foram excluídos da análise por se tratarem de ADG do tipo misto e inclassificável. Portanto, a resultante foi a casuística final de 446 casos. As

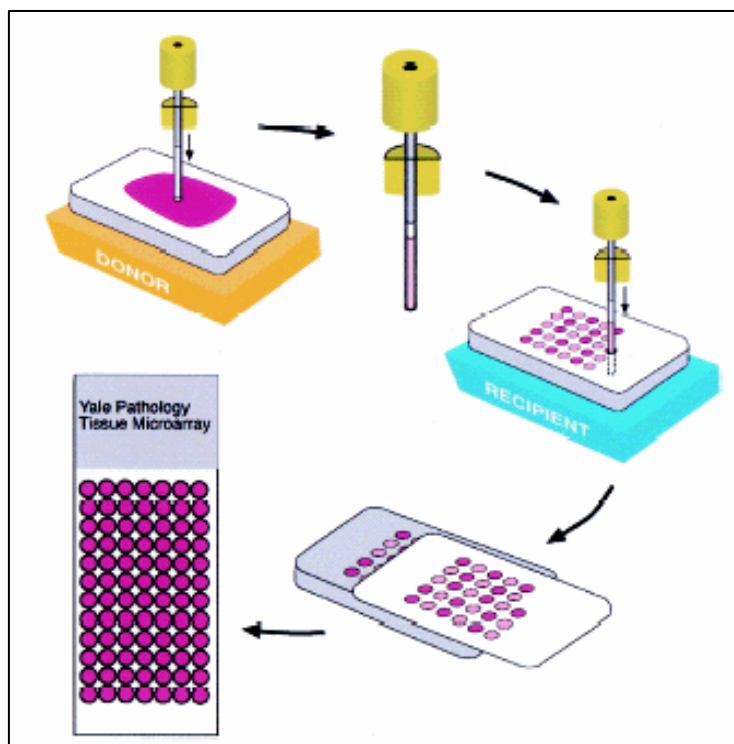
informações obtidas a partir da revisão dos prontuários e os resultados das reações imunoistoquímicas foram organizados em uma planilha de dados (Anexo 1).

A categorização das variáveis demográficas (idade e tamanho) foi realizada de acordo com a variação dos dados obtidos (vide itens 4.1.1 e 4.1.2). O estadiamento anátomo-patológico dos tumores foi categorizado de acordo com o sistema TNM (Anexo 2) da União Internacional contra o Câncer em pT, pN e pM (SOBIN e WITTEKIND 1998). Para fins estatísticos, os tumores de estadio IA e IB foram agrupados (vide item 4.1.2)

Quanto ao grau de diferenciação da neoplasia, foram categorizados em bem, moderadamente e pouco diferenciados, de acordo com o estabelecimento da O.M.S (AALTONEN e HAMILTON 2000).

3.2 MÉTODO DE *TISSUE MICROARRAY* (TMA)

Uma vez selecionados os casos de ADG, os blocos contendo o material embebido em parafina foram separados para obtenção de um novo corte e observação da lâmina corada em HE. A região do tumor considerada representativa foi então selecionada no bloco (“bloco doador”), delimitada com caneta de marcação permanente, e fragmentos cilíndricos dessa região foram colhidos e arranjados em um novo bloco de parafina (“bloco receptor”) usando um instrumento preciso. O aparelho (“*Tissue Microarrayer*”) em uso no Departamento de Anatomia Patológica foi adquirido junto a Beecher Instruments® (Silver Spring MD). Os cortes obtidos desses blocos de TMA foram dispostos em lâminas com adesivos adquiridas junto a Microsystems Inc®.



Fonte: (RIMM et al. 2001)

Figura 2: Esquema simplificado da construção de TMA.

Nesse estudo, os blocos de TMA foram construídos com “cores” de 0,6mm considerados representativos de cada tumor (MOCH et al. 2001, SIMON et al. 2002, GULMANN et al. 2003). Os blocos contêm apenas amostras de ADG e um fragmento de fígado usado como controle. No primeiro bloco (TMA_A) foram incluídos 176 casos de ADG, no segundo bloco (TMA_B) foram transferidos 105 casos e no terceiro bloco (TMA_C), 204 casos. Os casos foram dispostos em ordem numérica crescente (de acordo com o registro anátomo-patológico), independente do grau de diferenciação e comportamento biológico, e colocados em duplicata. Seções de 3µm foram cortadas de cada bloco de TMA, desparafinizadas, desidratadas e submetidas à análise imunoistoquímica.

3.3 IMUNOISTOQUÍMICA

O estudo imunoistoquímico avaliou o painel incluindo as mucinas MUC 1, MUC 2, MUC5 AC e MUC 6 (todas da Novocastra[®], UK), E-caderina (Transduction Lab[®], EUA), β -catenina (Transduction Lab[®], EUA) e clatrina cadeia pesada (Transduction[®], EUA). Para a reação imunoistoquímica foi utilizado o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (StreptABC, DAKO[®]). Foram realizadas reações em duas lâminas de TMA, com nível de profundidade de pelo menos 25 cortes de diferença entre elas. Esta estratégia, garante a observação de áreas distintas da neoplasia. Como os casos foram inseridos em duplicata, isto resultou em pelo menos quatro análises de cada caso para cada marcador. O protocolo utilizado e as diluições para cada marcador estão descritos no Anexo 3.

As reações foram acompanhadas de controle positivo, em tecido sabidamente positivo para o anticorpo testado, e dois controles negativos. O primeiro deles realizado pelo não uso do anticorpo primário e o segundo através da retirada do anticorpo secundário durante os passos da reação. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico comum e os resultados classificados de acordo com a categorização descrita para cada anticorpo.

3.3.1 E-caderina

Quanto à análise imunoistoquímica dos padrões de expressão da E-caderina, foram observados dois aspectos: quando havia manutenção da expressão preservada na membrana (padrão similar ao observado em células não neoplásicas) e casos que apresentavam perda parcial ou total dessa expressão. A marcação citoplasmática da E-caderina não foi considerada.

Para análise da E-caderina foi então criado o seguinte escore:

- índice 0 - quando havia ausência de expressão ou expressão fraca e irregular, em mais de 10% das células.
- índice 1 - quando havia perda do padrão linear, com expressão irregular ou formação em pontos, em pelo menos 10% das células tumorais e não houvesse expressão similar aos índices 3 ou 2;
- índice 2 - quando pelo menos 10% das células tumorais apresentavam marcação de membrana de intensidade fraca a moderada;
- índice 3 - quando pelo menos 10% de todas as células tumorais apresentavam expressão forte, completa e linear da membrana (comparado à mucosa normal);

Como citado previamente, a reação imunoistoquímica para cada anticorpo foi realizada em duas lâminas de TMA, sendo analisados quatro *cores* de cada caso. Após o cálculo da média aritmética dos quatro eventos, cada caso recebeu um escore e foram categorizados nos seguintes grupos:

- Grupo 0: média da expressão menor que 1.
- Grupo 1: média da expressão entre 1 e 2.
- Grupo 2: média da expressão maior que 2.

Para fins de análise estatística e melhor categorização, os resultados obtidos foram distribuídos em 3 grupos:

- **0**: ausência de expressão (contendo casos do Grupo 0)
 - **1**: expressão reduzida (quando havia perda parcial - Grupo 1)
 - **2**: expressão preservada (quando havia manutenção da expressão fisiológica – Grupos 2).
-

3.3.2 β -catenina

No momento da leitura das lâminas, a expressão de β -catenina foi categorizada de acordo com os diferentes padrões de coloração, baseados na localização da expressão:

- 0 - ausência de expressão
- I - expressão exclusivamente de membrana
- II - expressão no citoplasma e núcleo
- III - misto (membrana/citoplasma/núcleo)
- IV - membrana e citoplasma
- V - apenas no citoplasma
- VI - apenas no núcleo

A partir desses 6 grupos, foram estabelecidos 4 grupos de acordo com os padrões de expressão:

- 1: perda total de expressão (contendo grupo 0)
- 2: expressão exclusivamente na membrana (grupo I)
- 3: expressão nuclear independente de outros sítios (grupos II, III e VI)
- 4: expressão citoplasmática, sem expressão nuclear (grupos IV e V)

A intensidade da coloração não foi considerada neste sistema de gradação. Além disso, em relação à coloração citoplasmática/nuclear da β -catenina, os tumores foram considerados como positivos quando imunorreatividade citoplasmática/nuclear para β -catenina pode ser detectada em qualquer das células tumorais.

3.3.3 Mucinas

Os critérios para categorização das mucinas na literatura são bastante variados. A extensão da positividade para mucinas na maioria dos casos se baseia na porcentagem de células neoplásicas coradas, sendo considerados os mais diferentes índices. Não há consenso na literatura quanto a padronização desses índices (REIS et al. 1997, MACHADO et al. 2000, TSUKASHITA et al. 2001, LEE et al. 2001, BALDUS et al. 2002, GURBUZ et al. 2002, PINTO-DE-SOUSA et al. 2002, NAKAJIMA et al. 2003, FLUCKE et al. 2003)

Para o presente estudo, categorizamos os casos de acordo com a estimativa de células coradas, a saber:

- 0: < 1% de células apresentando imunorreatividade para a mucina avaliada;
- 1: 1-10%;
- 2: 11-50%;
- 3: 51-90%
- 4: > 90%.

Posteriormente, os resultados foram categorizados em dois grandes grupos:

0: quando $\leq 10\%$ das células neoplásicas apresentavam imunorreatividade

1: > 10% de células neoplásicas apresentavam marcação positiva.

Similar ao caso da β -catenina, a intensidade da coloração não foi considerada neste sistema de gradação.

3.3.4 Clatrina

Diferente dos demais anticorpos utilizados nesse estudo há poucos trabalhos na literatura avaliando a expressão de clatrina e nenhum correlacionando expressão da proteína com variáveis clinicopatológicas em ADG. Por esse motivo, nessa etapa do nosso estudo em ADG, consideramos apenas intensidade da coloração para categorização dos resultados obtidos pelas reações imunoistoquímicas. Observamos que poucos tumores não apresentavam imunorreatividade (isto é, eram totalmente negativos) e quando apresentavam, o que variava era a intensidade da coloração e raramente o número de células neoplásicas positivas. Por esse motivo, classificamos os resultados em três grupos:

- 0- quando não havia imunorreatividade para clatrina;
- 1- quando havia imunorreatividade fraca
- 2- quando as células neoplásicas apresentavam imunorreatividade forte e homogênea

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As informações decorrentes dos resultados obtidos dos diversos marcadores foram devidamente registradas em planilha de dados Excel e a análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Stata, versão 7.0.

As distribuições de freqüências e as medidas de tendência central e de variabilidade foram utilizadas para descrever a casuística. A associação entre a expressão dos marcadores e as variáveis demográficas e clinicopatológicas foram verificadas através do teste de freqüências do qui-quadrado e, em tabelas 2x2 onde

pelo menos uma frequência esperada foi menor do que 5, o teste exato de Fisher foi preferido.

As estimativas da probabilidade de sobrevida foram obtidas através da técnica de Kaplan-Meier. As curvas de probabilidade de sobrevida cumulativa foram comparadas pelo teste do log-rank.

O nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos ($p < 0,05$).

As estimativas do risco relativo para a morte (HR) ou os fatores prognósticos independentes foram obtidos através do modelo de regressão de Cox, utilizando-se o nível de significância de 10% na técnica *stepwise (forward)*.

4 RESULTADOS

4.1 CASUÍSTICA E DADOS DA AMOSTRA

4.1.1 Dados demográficos

No presente estudo foram considerados somente a idade e o gênero dos pacientes. A amostra total de 446 casos se dividiu em 266 homens (59,7%) e 180 mulheres (40,3%). Em relação à idade, os pacientes variaram entre 25-84 anos, sendo a média de $61,2 \pm 12,6$ anos (mediana de 63 anos).

4.1.2 Dados morfológicos

Baseado na descrição do laudo original, o tamanho dos tumores foi avaliado em 428 casos. A média de tamanho dos tumores foi de $6,3 \pm 3,3$ cm (mediana de 6 cm).

Em relação aos tipos histológicos, de acordo com a classificação de Laurén, 185 peças cirúrgicas foram classificadas como ADG do tipo difuso (41,5%) e 261 casos (58,5%) como ADG do tipo intestinal. Conforme disposto no capítulo de material e métodos, os casos de tipo histológico misto ou inclassificável foram excluídos da análise. Em relação ao grau de diferenciação histológica dos tumores, 401 casos foram avaliáveis, sendo 34 casos (8,5%) bem diferenciados, 170 (42,4%) moderadamente diferenciados e 197 (49,1%) pouco diferenciados.

Quanto ao nível de infiltração da parede gástrica (pT), 58 (13,0%) dos 446 casos avaliáveis eram T1, 83 (18,6%) eram T2 e 305 (68,4%) eram T3 ou T4.

Apenas quatro casos (0,2%) eram T4, portanto, para fins estatísticos, os tumores T3 e T4 foram analisados juntos.

Dos 441 casos avaliáveis para estadió linfonodal (pN), 136 casos (30,8%) não possuíam comprometimento linfonodal e 305 (69,2%) apresentavam metástases em linfonodos.

A distribuição em relação ao estadió clínico ocorreu da seguinte maneira: dos 368 casos avaliáveis, 49 (13,3%) eram de estadió IA e IB, 66 (17,9%) de estadió II, 101 (27,4%) de estadió IIIA, 55 (14,9%) eram IIIB e 97 (26,4%) eram IV.

4.1.3 Marcadores

Quanto aos marcadores, foi possível analisar 424 casos para expressão de E-caderina. Destes, 133 (31,4%) apresentaram ausência de expressão, 171 (40,3%) expressão reduzida e 120 (28,3%) tinham expressão preservada na membrana (Figura 3).

Em relação à expressão imunistoquímica de β -catenina apenas 30 dos 424 casos avaliáveis (7%) apresentaram expressão preservada. Dos casos com expressão alterada, 63 (14,9%) apresentaram perda total, 139 casos (32,8%) apresentaram marcação nuclear (independente de outros compartimentos celulares) e 192 casos (45,3%) tiveram expressão citoplasmática sem expressão nuclear (Figura 4).

A ausência de expressão da clatrina foi observada em 10/432 casos (2,3%). Nos 422 casos restantes, 155 (35,9%) apresentaram expressão fraca e em 267 (61,8%) havia marcação forte (Figura 5).

Em relação às mucinas, foram avaliadas a expressão de MUC 1, 2, 5AC e 6. Para a MUC 1, 345/416 (82,9%) casos apresentaram ausência de imunorreatividade

enquanto que 71 (17,1%) casos eram positivos. Em relação à MUC 2, 361/429 (84,2%) casos eram negativos enquanto que 68 (15,8%) casos foram positivos. Esta proporção foi semelhante em relação à MUC 5AC, sendo que 321/429 (74,8%) casos foram negativos e 108 (25,2%) positivos. Finalmente, a marcação para MUC 6 foi a menos freqüente com 401/423 (94,8%) casos negativos e 22 (5,2%) casos positivos (Figura 6).

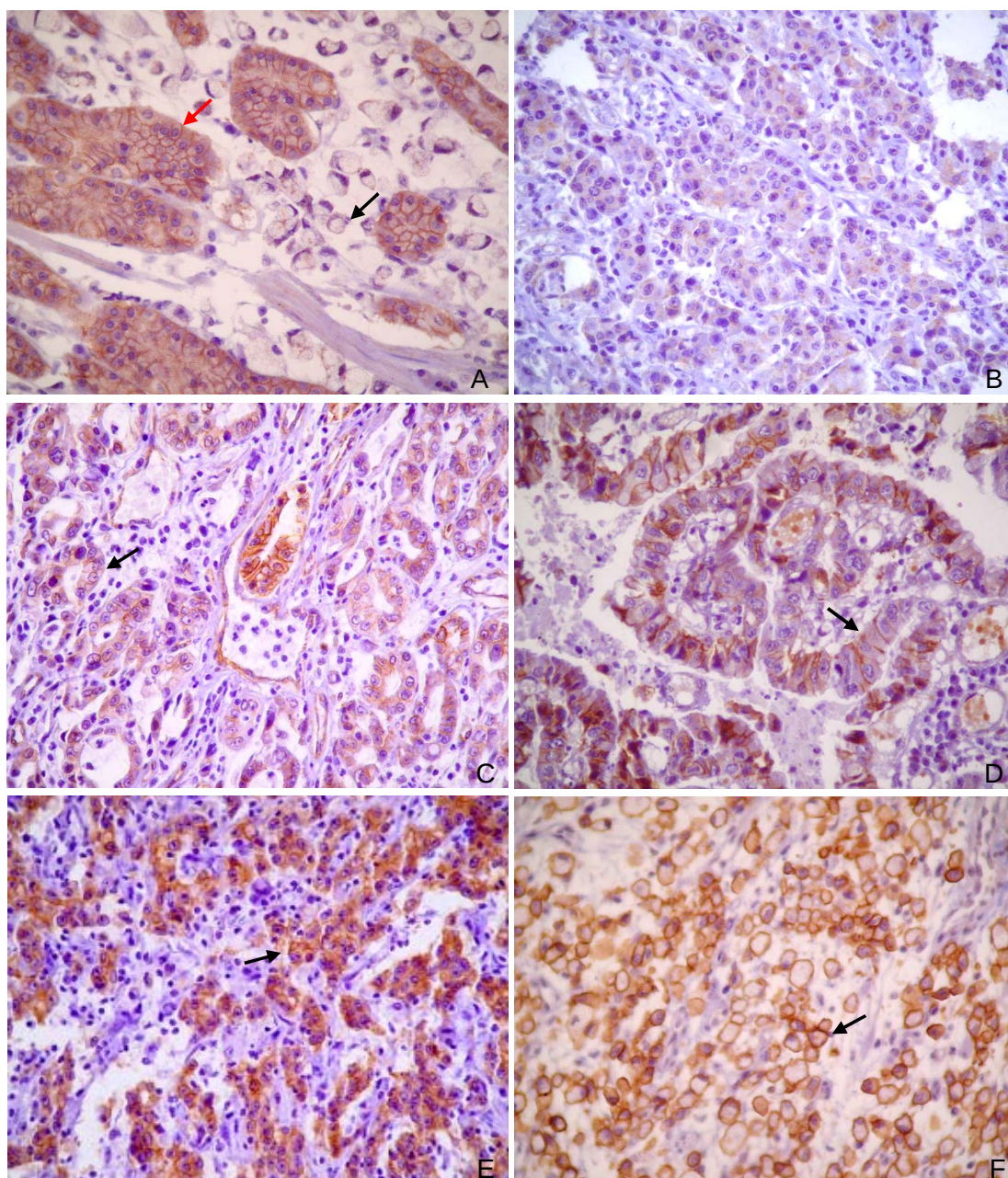


Figura 3 - Expressão imunoistoquímica de E-caderina nos adenocarcinomas gástricos. Em A/B: ADG apresentando ausência de expressão de E-caderina em membrana de células neoplásicas. Em A: ADG de tipo difuso, de acordo com a classificação de Lauren, com ausência de E-caderina em membrana de células neoplásicas (→) e intensa positividade em membrana de células não-neoplásicas (→). C/D: Expressão reduzida de E-caderina na membrana das células neoplásicas, com marcação de membrana irregular e de intensidade fraca, em relação ao padrão apresentado em E/F, onde se nota expressão de E-caderina, com padrão forte e linear na membrana.

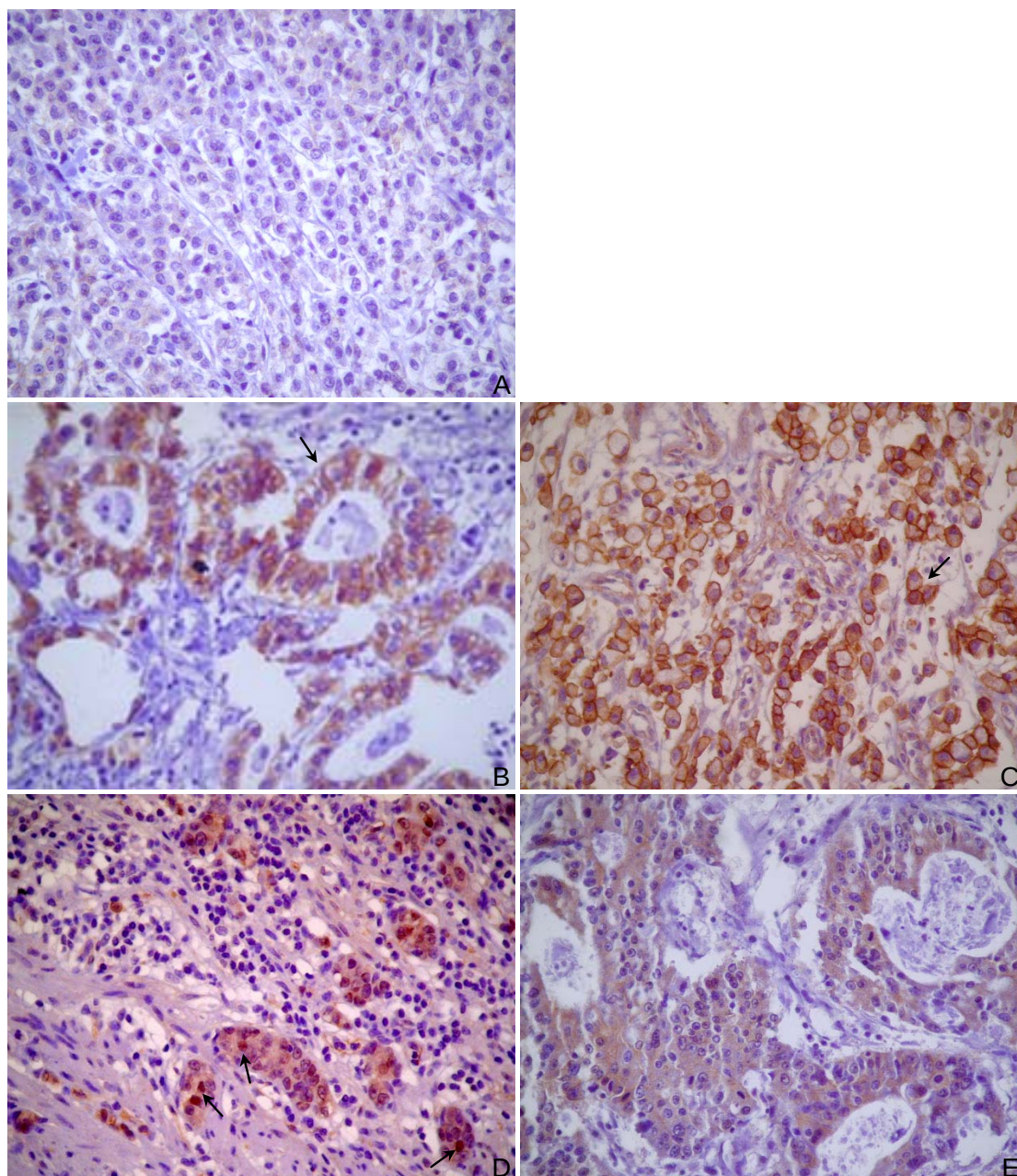


Figura 4 - Expressão imunoistoquímica da β -catenina nos adenocarcinomas gástricos. Na figura **A**, observa-se ausência da expressão de β -catenina na membrana das células neoplásicas (Categoria 1). **B/C**: expressão preservada na membrana das células nos subtipos histológicos intestinal e difuso (Lauren), respectivamente (Categoria 2). **D**: Presença de β -catenina no núcleo das células neoplásicas (Categoria 3). **E**: expressão de β -catenina no citoplasma das células, sem expressão nuclear (Categoria 4).

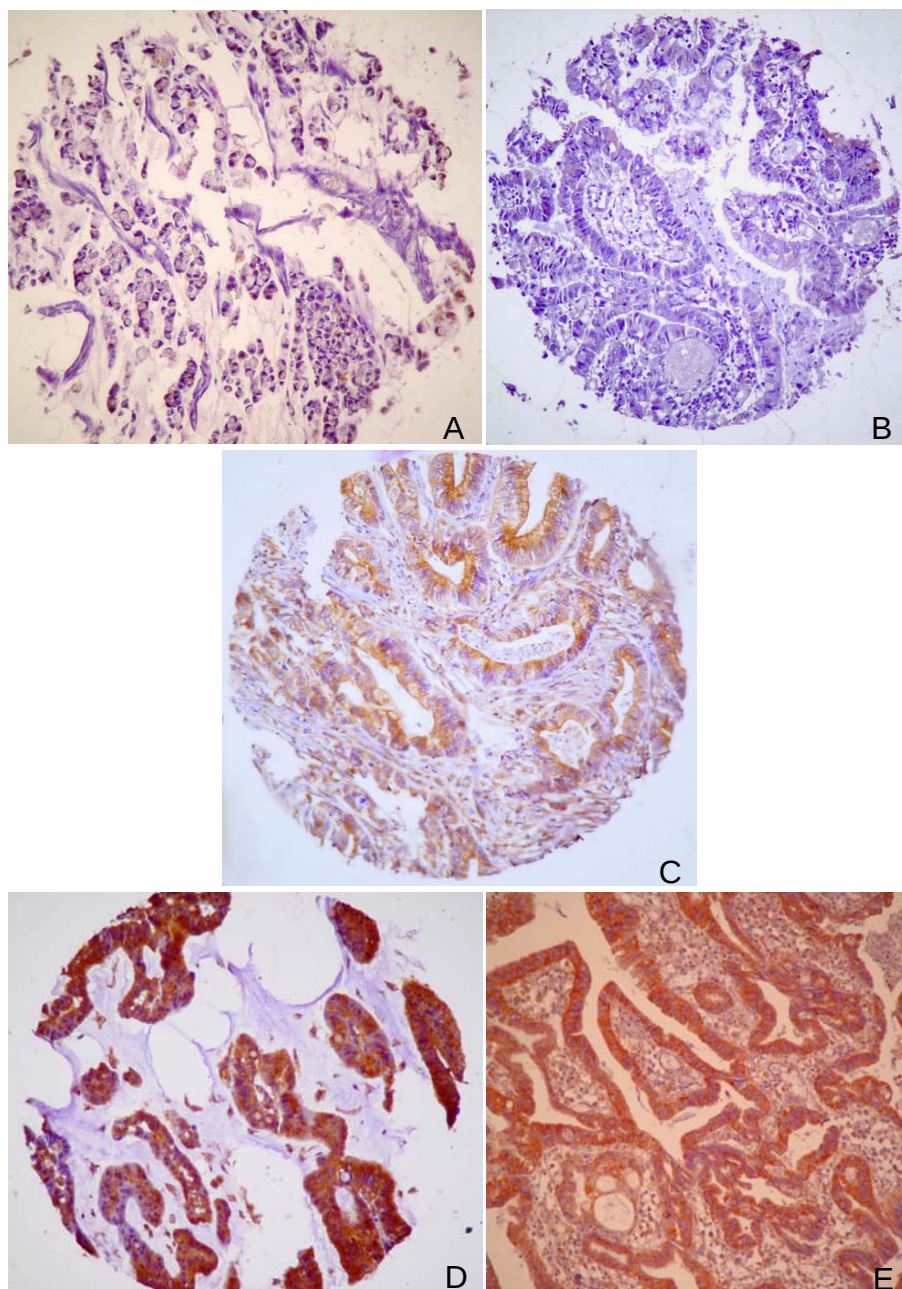


Figura 5 - Expressão imunoistoquímica de Clatrina nos adenocarcinomas gástricos.

Nas figuras **A/B**, observa-se ausência de expressão de clatrina nas células neoplásicas (Categoria 0); **C**: intensidade de expressão fracamente positiva (Categoria 1) em relação ao padrão de expressão observado em **D/E**, que foi categorizado como fortemente positivo (Categoria 2).

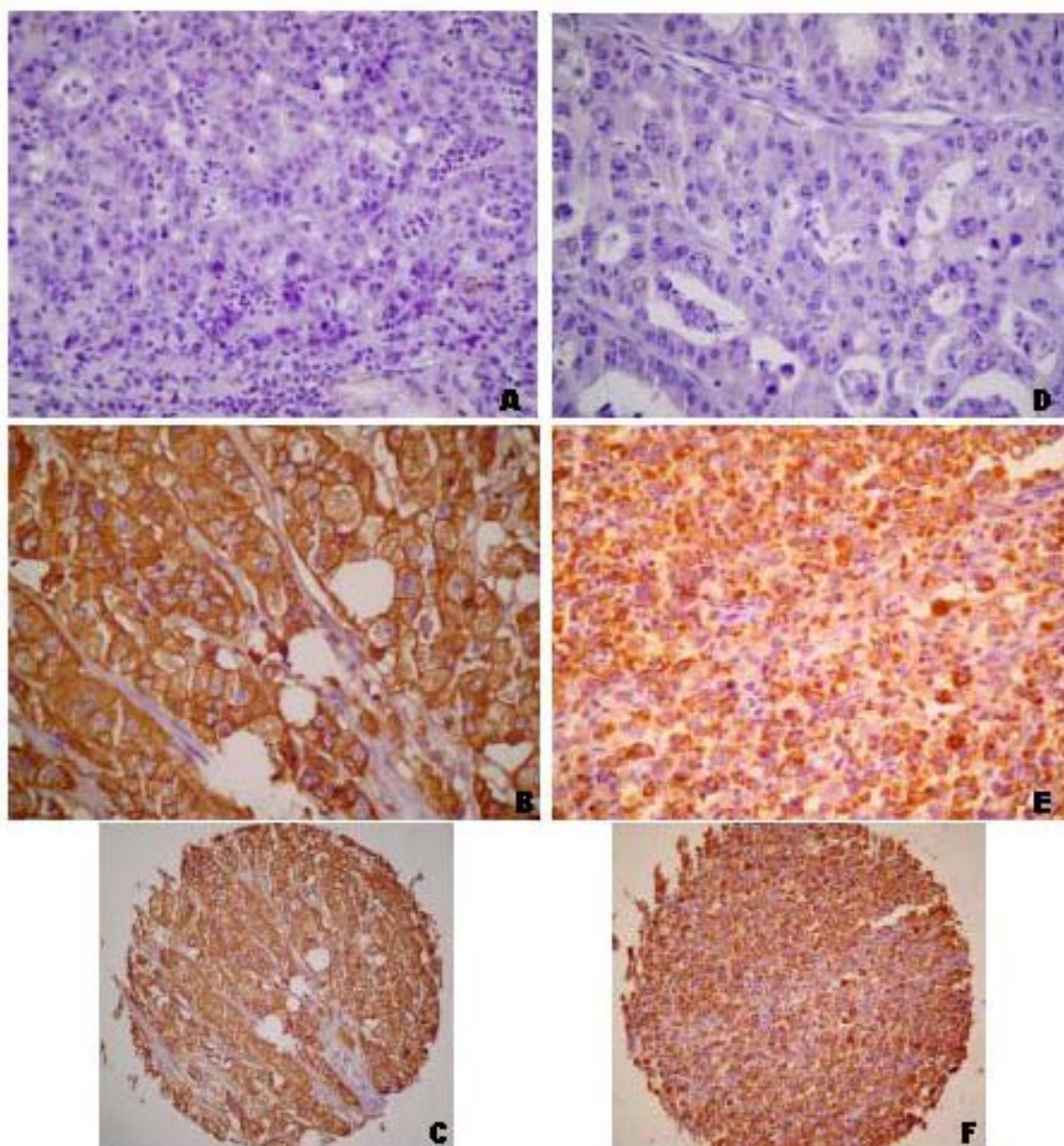


Figura 6 - Expressão imunoistoquímica das mucinas MUC 1 e MUC 2 em adenocarcinomas gástricos. Em **A**: ausência de expressão de MUC 1 nas células neoplásicas. **B/C**: expressão positiva de MUC 1 na membrana das células neoplásicas. **D**: ausência de expressão de MUC 2 nas células neoplásicas e **E/F**: expressão positiva de MUC 2 nas células neoplásicas.

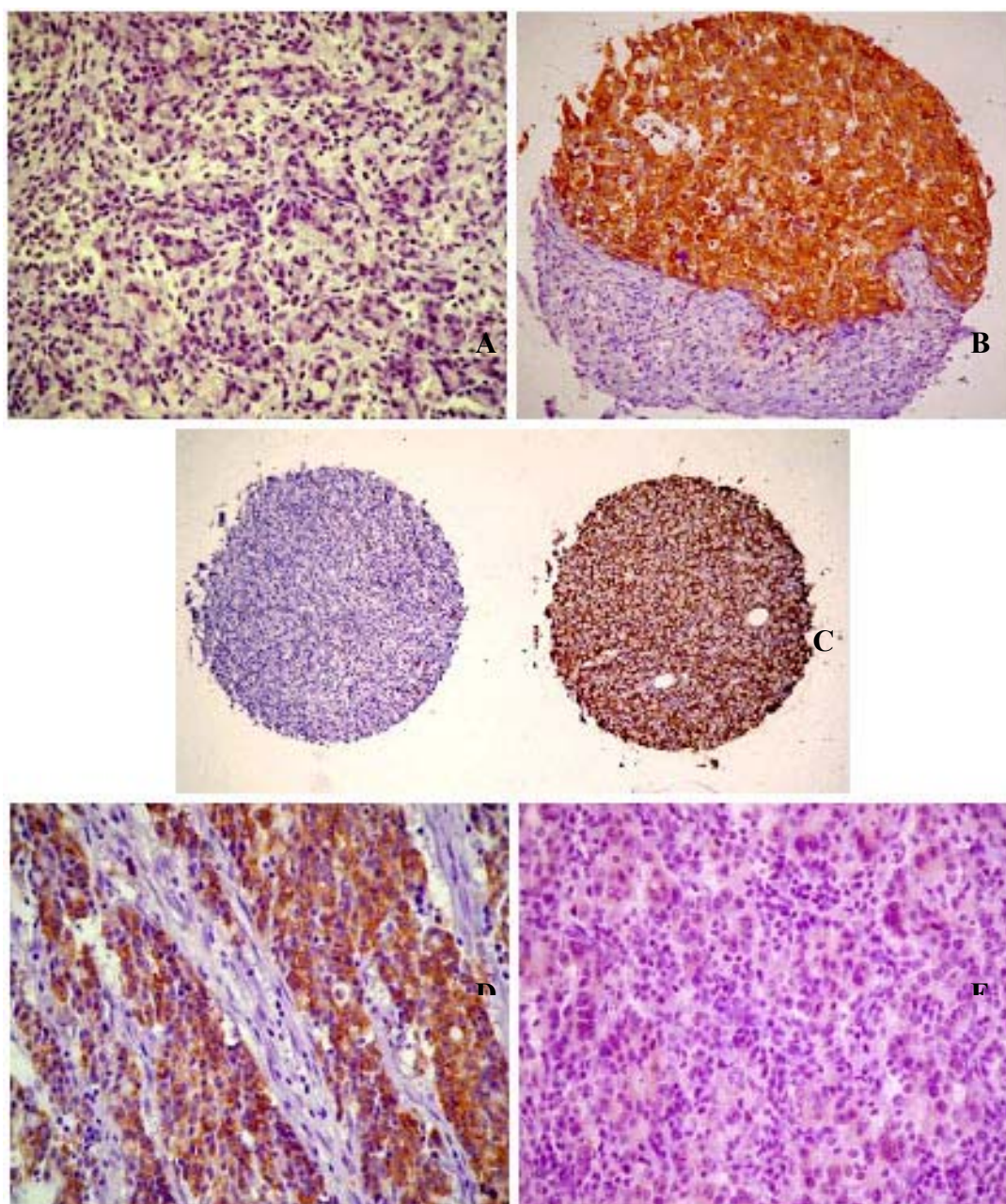


Figura 6 - Expressão imunoistoquímica das mucinas MUC 5AC e MUC 6 em adenocarcinomas gástricos. Em A/B: ausência de expressão de MUC 5AC e expressão positiva nas células neoplásicas, respectivamente. C: comparação da expressão positiva e negativa para MUC 5AC em dois *cores*, tal como visto pela técnica de TMA. D/E: expressão positiva e ausência de MUC 6 nas células neoplásicas, respectivamente.

4.2 PERFIL DOS ADG EM RELAÇÃO AOS TIPOS HISTOLÓGICOS

O perfil dos tumores classificados como ADG-D e ADG-I em relação aos dados demográficos, variáveis morfológicas e marcadores testados, pode ser visto na Tabela 1.

Ambas as variáveis demográficas apresentaram correlação significativa em relação ao tipo histológico ($p<0.001$ e $p=0.009$, respectivamente). Em ambos os tipos histológicos houve predomínio de pacientes do sexo masculino, sendo que esta diferença foi mais evidente em relação ao ADG-I. Em relação à idade, os casos de ADG-D predominaram significativamente em pacientes mais jovens (61,6% com idade ≤ 63 anos) quando comparados aos pacientes com ADG-I.

Os ADG-D apresentaram menor grau de diferenciação em relação aos ADG-I ($p<0.001$), conforme o esperado, uma vez que a classificação utilizada foi a de Laurén.

Em relação ao comprometimento linfonodal, observamos que a maioria dos casos N0 e N1 eram ADG-I, enquanto que os casos N2 e N3 estavam na maioria classificados como ADG-D ($p<0.001$).

Tamanho do tumor, estadió clínico e nível de infiltração da parede gástrica, não apresentaram diferenças quando os tipos histológicos foram comparados.

Na análise dos marcadores, a ausência de expressão da E-caderina ocorreu mais frequentemente nos ADG-D (51,7%) em relação aos ADG-I (17,2%) ($p<0.001$). Ambos os tipos histológicos apresentaram baixa porcentagem de casos com expressão preservada de β -catenina: 5,2% dos casos de ADG-D e 8,3% dos ADG-I.

Entretanto, a marcação nuclear de β -catenina foi mais freqüente nos ADG-D (41,6%) em relação aos ADG-I (26,7%) ($p < 0.001$).

A correlação entre expressão das mucinas e tipo histológico foi significativa apenas nos casos de MUC 1 e MUC 2 ($p < 0.001$ e $p = 0.014$, respectivamente). Para MUC 1, 94,6% dos ADG-D e 75,1% dos ADG-I apresentaram ausência total de coloração. Houve maior expressão de MUC 2 nos ADG-D em relação aos ADG-I. Já MUC 5AC e MUC 6 não apresentaram correlação significativa com o tipo histológico ($p = 0.330$ e $p = 0.197$, respectivamente).

Tabela 1 - Correlação entre as variáveis clinicopatológicas e os marcadores em relação ao tipo histológico.

Variável	N	Categoria	Tipo Histológico		p-valor
			Difuso N (%) *	Intestinal N (%) *	
Idade	446	≤ 63 anos	114 (61,6)	111 (42,5)	<0.001
		> 63 anos	71 (38,4)	150 (57,5)	
Gênero	446	F	88 (47,6)	92 (35,3)	0.009
		M	97 (52,4)	169 (64,7)	
Tamanho	428	≤ 6cm	98 (55,4)	139 (55,4)	0.998
		> 6cm	79 (44,6)	112 (44,6)	
Diferenciação	401	B	0 (0,0)	33 (14,1)	<0.001
		M	12 (7,2)	158 (67,2)	
		P	153 (92,2)	44 (18,7)	
Estadio	368	IA / IB	18 (11,8)	31 (14,4)	0.410
		II	27 (17,6)	39 (18,1)	
		IIIA	38 (24,8)	63 (29,3)	
		IIIB	29 (19,0)	26 (12,1)	
		IV	41 (26,8)	56 (26,1)	
Nível infiltração (T)	446	T1	18 (9,7)	40 (15,3)	0.190
		T2	38 (20,6)	45 (17,2)	
		T3 + T4	129 (69,7)	176 (67,5)	
Linfonodos (N)	441	N0	53 (28,8)	83 (32,3)	<0.001
		N1	53 (28,8)	121 (47,1)	
		N2	54 (29,3)	42 (16,3)	
		N3	24 (13,1)	11 (4,3)	
E-caderina	424	0 (ausente)	90 (51,7)	43 (17,2)	<0.001
		1 (reduzida)	64 (36,8)	107 (42,8)	
		2 (preservada)	20 (11,5)	100 (40,0)	
β-catenina	424	1 (ausente)	38 (22,0)	25 (10,0)	<0.001
		2 (preservada)	9 (5,2)	21 (8,3)	
		3 (nuclear)	72 (41,6)	67 (26,7)	
		4 (citoplasma)	54 (31,2)	138 (55,0)	
Clatrina	432	0 (ausente)	3 (1,7)	7 (2,8)	NA
		1 (fracamente +)	95 (53,4)	60 (23,6)	
		2 (fortemente +)	80 (44,9)	187 (73,6)	
MUC 1	416	0 (neg)	158 (94,6)	187 (75,1)	<0.001
		1 (pos)	9 (5,4)	62 (24,9)	
MUC 2	429	0 (neg)	139 (79,0)	222 (87,7)	0.014
		1 (pos)	37 (21,0)	31 (12,2)	
MUC 5AC	429	0 (neg)	136 (77,3)	185 (73,1)	0.330
		1 (pos)	40 (22,7)	68 (26,9)	
MUC 6	423	0 (neg)	165 (96,5)	236 (93,6)	0.197
		1 (pos)	6 (3,5)	16 (6,4)	

* NA= não avaliável

4.3 PERFIL DA EXPRESSÃO DOS MARCADORES

4.3.1 E-caderina

As correlações entre a expressão de E-caderina, as variáveis clinicopatológicas e os outros marcadores estão dispostas na Tabela 2.

Não houve diferença significativa entre a expressão de E-caderina e idade, tamanho, estadio clínico e nível de infiltração da parede gástrica.

A ausência de expressão de E-caderina ocorreu com maior frequência nos ADG-D ($p<0.001$), em tumores com menor grau de diferenciação ($p<0.001$), comprometimento linfonodal ($p=0.026$), e com expressão anômala (ausente/citoplasmática/nuclear) de β -catenina. Um fato interessante, é que 42,0% dos casos com ausência de E-caderina apresentavam marcação nuclear ($p<0.001$). Houve correlação também com a expressão das mucinas MUC 1 ($p=0.007$), MUC 2 ($p=0.003$), MUC 5AC ($p=0.001$) e MUC 6 ($p=0.006$).

Tabela 2 - Perfil da expressão de E-caderina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	N	Categoria	E-CADERINA			p-valor
			0 (ausente) N (%)	1 (reduzida) N (%)	2 (membrana) N (%)	
Idade	424	≤ 63 anos	69 (51,9)	89 (52,0)	55 (45,8)	0.522
		> 63 anos	64 (48,1)	82 (48,0)	65 (57,2)	
Tamanho	407	≤ 6cm	70 (56,9)	87 (52,1)	65 (55,6)	0.694
		> 6cm	53 (43,1)	80 (47,9)	52 (44,4)	
Diferenciação	380	B	5 (4,1)	15 (9,3)	13 (13,3)	<0.001
		M	35 (29,2)	69 (42,6)	59 (60,2)	
		P	80 (66,7)	78 (48,1)	26 (26,5)	
Estadio	348	IA / IB	14 (12,7)	19 (12,7)	11 (12,5)	0.539
		II	16 (14,6)	30 (20,0)	18 (20,4)	
		IIIA	40 (36,4)	34 (22,7)	22 (25,0)	
		IIIB	14 (12,7)	23 (15,3)	13 (14,8)	
		IV	26 (23,6)	44 (29,3)	24 (27,3)	
Nível infiltração (T)	424	T1	14 (10,5)	17 (10,0)	21 (17,5)	0.294
		T2	27 (20,3)	30 (17,5)	23 (19,2)	
		T3 + T4	92 (69,2)	124 (72,5)	76 (63,3)	
Linfonodos (N)	419	N0	34 (25,6)	50 (29,2)	47 (40,9)	0.049
		N1	52 (39,1)	70 (40,9)	41 (35,6)	
		N2	31 (25,3)	36 (21,1)	24 (20,9)	
		N3	16 (12,0)	15 (8,8)	3 (2,6)	
Metástases Linfonodais	419	Neg	34 (25,6)	50 (29,2)	47 (40,9)	0.026
		Pos	99 (74,4)	121 (70,8)	68 (59,1)	
Tipo Histológico	424	Difuso	90 (67,7)	64 (37,4)	20 (16,7)	<0.001
		Intestinal	43 (32,3)	107 (62,6)	100 (83,3)	
β-catenina	421	1 (ausente)	43 (32,8)	14 (8,2)	4 (3,3)	<0.001
		2 (preservada)	6 (4,6)	16 (9,4)	8 (6,7)	
		3 (nuclear)	55 (42,0)	58 (34,1)	26 (21,7)	
		4 (citoplasma)	27 (20,6)	82 (48,3)	82 (68,3)	
Clatrina	421	0 (ausente)	7 (5,4)	2 (1,2)	0 (0,0)	NA
		1 (fracamente +)	75 (57,7)	48 (28,0)	24 (20,0)	
		2 (fortemente +)	48 (36,9)	121 (70,8)	96 (80,0)	
MUC 1	410	0 (neg)	116 (89,9)	135 (83,3)	89 (74,8)	0.007
		1 (pos)	13 (10,1)	27 (16,7)	30 (25,2)	
MUC 2	416	0 (neg)	97 (74,6)	148 (89,2)	103 (85,3)	0.003
		1 (pos)	33 (25,4)	18 (10,8)	17 (14,2)	
MUC 5AC	419	0 (neg)	107 (81,7)	130 (77,4)	74 (61,7)	0.001
		1 (pos)	24 (18,3)	38 (22,6)	46 (38,3)	
MUC 6	416	0 (neg)	126 (96,9)	161 (97,0)	107 (89,2)	0.006
		1 (pos)	4 (3,1)	5 (3,0)	13 (10,8)	

* NA= não avaliável

4.3.2 β -catenina

As correlações entre a expressão de β -catenina, as variáveis clinicopatológicas e os outros marcadores estão dispostas na Tabela 3.

A expressão de β -catenina mostrou correlação significativa com o tipo histológico: 70% dos casos com expressão preservada na membrana eram ADG-I, enquanto que os casos com ausência de expressão de β -catenina (60,3%) e com marcação nuclear (51,8%) eram mais frequentemente ADG-D ($p<0.001$). Houve associação significativa da expressão anômala de β -catenina com a expressão de E-caderina ($p<0.001$) e MUC 5AC ($p<0.001$).

Não houve correlação significativa entre a expressão de β -catenina e idade do paciente, tamanho do tumor e pT.

Não foi possível correlacionar estatisticamente a expressão de β -catenina com o estadio clínico, grau de diferenciação, expressão de clatrina e das MUC 1, MUC 2, MUC 6 e a variável pN. Entretanto, quando avaliamos o comprometimento linfonodal em apenas dois grupos (ausência / presença de metástases), essa correlação apresenta tendência à significância ($p=0.088$).

Tabela 3 - Perfil da expressão de β -catenina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

B-CATENINA							
Variável	n	Categoria	1 (ausente) N (%)	2 (membrana) N (%)	3 (nuclear) N (%)	4 (citopl) N (%)	p-valor
Idade	424	≤ 63 anos	37 (58,7)	15 (50,0)	70 (50,4)	91 (47,4)	0.486
		> 63 anos	26 (41,3)	15 (50,0)	69 (49,6)	101 (52,6)	
Tamanho	407	≤ 6cm	33 (56,9)	17 (58,6)	68 (50,4)	103 (55,7)	0.716
		> 6cm	25 (43,1)	12 (41,4)	67 (49,6)	82 (44,3)	
Diferenciação	380	B	1 (1,7)	2 (8,7)	12 (9,3)	19 (11,2)	NA
		M	24 (40,7)	14 (60,9)	43 (33,3)	81 (48,0)	
		P	34 (57,6)	7 (30,4)	74 (57,4)	69 (40,8)	
Estadio	348	IA / IB	9 (17,3)	0 (0,0)	13 (10,9)	22 (14,2)	NA
		II	6 (11,5)	4 (18,2)	18 (15,1)	34 (21,9)	
		IIIA	24 (46,2)	7 (31,8)	29 (24,4)	38 (24,5)	
		IIIB	5 (9,6)	3 (13,6)	22 (18,5)	20 (12,9)	
		IV	8 (15,4)	8 (36,4)	37 (31,1)	41 (26,5)	
Nível infiltração(T)	424	T1	8 (12,7)	4 (13,3)	12 (8,6)	28 (14,6)	0.832
		T2	12 (19,1)	5 (16,7)	28 (20,2)	35 (18,2)	
		T3 + T4	43 (68,2)	21 (70,0)	99 (71,2)	129 (67,2)	
Linfonodos (N)	419	N0	15 (23,8)	7 (23,3)	38 (27,6)	70 (37,2)	NA
		N1	35 (55,6)	14 (46,7)	41 (29,7)	74 (39,4)	
		N2	9 (14,3)	5 (16,7)	42 (30,4)	35 (18,6)	
		N3	4 (6,3)	4 (13,3)	17 (12,3)	9 (4,8)	
Metástases Linfonodais	419	Neg	15 (23,8)	7 (23,3)	38 (27,5)	70 (37,2)	0.088
		Pos	48 (76,2)	23 (76,7)	100 (72,5)	118 (62,8)	
Tipo Histológico	424	Difuso	38 (60,3)	9 (30,0)	72 (51,8)	54 (28,1)	<0.001
		Intestinal	25 (39,7)	21 (70,0)	67 (48,2)	138 (71,9)	
E-caderina	421	0 (ausente)	43 (70,5)	6 (20,0)	55 (39,6)	27 (14,2)	<0.001
		1 (reduzida)	14 (22,9)	16 (53,3)	58 (41,7)	82 (42,9)	
		2 (preservada)	4 (6,6)	8 (26,7)	26 (18,7)	82 (42,9)	
Clatrina	422	0 (ausente)	8 (12,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,5)	NA
		1 (fracamente +)	35 (56,4)	14 (46,7)	47 (33,8)	52 (27,2)	
		2 (fortemente +)	19 (30,7)	16 (53,3)	92 (66,2)	138 (72,3)	
MUC 1	410	0 (neg)	55 (91,7)	19 (67,9)	117 (88,0)	150 (79,4)	NA
		1 (pos)	5 (8,3)	9 (32,1)	16 (12,0)	39 (20,6)	
MUC 2	415	0 (neg)	53 (84,1)	23 (82,1)	112 (84,2)	160 (83,8)	NA
		1 (pos)	10 (15,9)	5 (17,9)	21 (15,8)	31 (16,2)	
MUC 5AC	419	0 (neg)	51 (82,3)	16 (55,2)	115 (83,9)	129 (67,5)	<0.001
		1 (pos)	11 (17,7)	13 (44,8)	22 (16,1)	62 (32,5)	
MUC 6	416	0 (neg)	63 (100,0)	27 (96,4)	129 (96,3)	175 (91,6)	NA
		1 (pos)	0 (0,0)	1 (3,6)	5 (3,7)	16 (8,4)	

* NA= não avaliável

4.3.3 Mucinas

MUC 1

A Tabela 4 apresenta as correlações entre a expressão de MUC 1, as variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Houve correlação significativa entre a expressão de MUC 1 e tipo histológico ($p<0.001$), grau de diferenciação ($p=0.001$), expressão de E-caderina ($p=0.007$) e MUC 5AC ($p=0.018$). Dos casos que apresentaram expressão positiva de MUC1, 62/71 (87,3%) eram ADG-I ($p<0.001$). A correlação entre MUC 1 e MUC 6 mostrou tendência à significância ($p=0.074$).

A expressão de MUC 1 não se correlacionou com as variáveis: idade, tamanho do tumor, estadio clínico, nível de infiltração, comprometimento dos linfonodos, expressão de MUC 2 e MUC 6. Não foi possível correlacionar estatisticamente a expressão da MUC 1 com β -catenina e clatrina.

MUC 2

A Tabela 5 apresenta as correlações entre a expressão de MUC 2, as variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Dos casos expressando MUC 2, havia maior número de casos ADG-D ($p<0.001$) e mais infiltrativos ($p<0.001$). Observamos menor frequência de ADG T3/T4 nos casos positivos para MUC 2, em relação aos casos com ausência deste marcador. Também houve correlação com ausência de expressão de E-caderina ($p=0.003$) e das mucinas MUC 5AC e 6 (ambos com $p<0.001$). A frequência de casos com presença/ausência de metástases em linfonodos foi similar no grupo de

ADG positivo para MUC 2. Enquanto que no grupo com ausência de MUC 2, 72,4% dos casos apresentaram comprometimento linfonodal ($p<0.001$).

As variáveis: idade, tamanho do tumor, estadio clínico e expressão de MUC 1, não mostram correlação com a expressão de MUC 2. Não foi possível correlacionar estatisticamente a expressão de MUC 2 com o grau de diferenciação do tumor, expressão de β -catenina e clatrina.

MUC 5AC

A Tabela 6 apresenta as correlações entre a expressão de MUC 5AC, as variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

A ausência de expressão de MUC 5AC foi observada em com maior frequência nos casos que apresentavam menor grau de diferenciação ($p=0.046$), maior nível de infiltração ($p<0.001$), metástases linfonodais ($p=0.003$), perda de E-caderina (expressão ausente/reduzida) ($p=0.001$), perda de β -catenina na membrana – 37,0% dos casos possuíam marcação nuclear e apenas 5,1% possuía expressão preservada na membrana ($p<0.001$) -, ausência de expressão das mucinas MUC 1 ($p=0.0018$), MUC 2 ($p<0.001$) e MUC 6 ($p<0.001$). Observou-se maior expressão das mucinas MUC 1, MUC 2 e MUC 6 nos casos com positividade para MUC 5AC, em relação aos casos com ausência deste marcador.

A correlação entre a expressão de MUC 5AC e as variáveis idade e tamanho, mostraram tendência a significância ($p=0.063$ e $p=0.052$, respectivamente), enquanto que as variáveis estadio e tipo histológico não apresentaram correlação significativa com MUC 5AC. A correlação entre a expressão de MUC 5AC e clatrina não foi avaliável.

MUC 6

A Tabela 7 apresenta as correlações entre a expressão de MUC 6, as variáveis clinicopatológicas e outros marcadores.

Houve correlação significativa entre a expressão de MUC 6 e comprometimento linfonodal. Nos casos positivos para MUC 6, observamos que 85,7% não apresentavam metástases linfonodais, enquanto que nos casos com ausência de MUC 6, essa frequência é de 28,5% ($p<0.001$).

Houve maior frequência de casos expressando E-caderina na membrana nos casos com positividade para MUC 6 ($p=0.006$).

Quanto às mucinas, havia maior número de casos expressando as mucinas MUC 1, MUC 2 e MUC 5AC no grupo dos ADG com positividade para MUC 6 (31,8%, 63,6% e 95,5% respectivamente), em relação ao grupo com ausência de MUC 6 (16,1%, 13,6% e 31,9%, respectivamente).

As correlações entre expressão de MUC 6 e as mucinas MUC 2 e MUC 5AC foram significativas (ambos $p<0.001$). A correlação com MUC 1 mostrou tendência a significância ($p=0.074$).

A expressão de MUC 6 não mostrou correlação significativa com idade, tamanho do tumor e tipo histológico.

Para as variáveis como grau de diferenciação, estadió, nível de infiltração, expressão de β -catenina e clatrina, as correlações estatísticas não foram avaliáveis.

Tabela 4 - Perfil da expressão de MUC 1 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	n	Categoria	MUC 1		p-valor
			0 N (%)	1 N (%)	
Idade	416	≤ 63 anos	173 (50,1)	34 (47,9)	0.729
		> 63 anos	172 (49,9)	37 (52,1)	
Tamanho	399	≤ 6cm	186 (56,0)	34 (50,7)	0.428
		> 6cm	146 (44,0)	33 (49,3)	
Diferenciação	371	B	23 (7,5)	10 (15,9)	0.001
		M	125 (40,6)	36 (57,1)	
		P	160 (51,9)	17 (27,0)	
Estadio	340	IA / IB	36 (12,8)	7 (11,9)	0.805
		II	52 (18,5)	8 (13,5)	
		IIIA	79 (28,1)	18 (30,5)	
		IIIB	40 (14,2)	7 (11,9)	
		IV	74 (26,4)	19 (32,2)	
Nível infiltração(T)	416	T1	42 (12,2)	9 (12,7)	0.885
		T2	67 (19,4)	12 (16,9)	
		T3 + T4	236 (68,4)	50 (70,4)	
Linfonodos (N)	411	N0	109 (31,9)	20 (29,0)	0.531
		N1	128 (37,4)	32 (46,4)	
		N2	75 (21,9)	13 (18,8)	
		N3	30 (8,8)	4 (5,8)	
Metástases Linfonodais	411	Neg	109 (31,9)	20 (29,0)	0.637
		Pos	233 (68,1)	49 (71,0)	
Tipo Histológico	416	Difuso	158 (45,8)	9 (12,7)	<0.001
		Intestinal	187 (54,2)	62 (87,3)	
E-caderina	410	0 (ausente)	116 (34,1)	13 (18,6)	0.007
		1 (reduzida)	135 (39,7)	27 (38,6)	
		2 (preservada)	89 (26,2)	30 (42,8)	
β-catenina	410	1 (ausente)	55 (16,1)	5 (7,3)	NA
		2 (preservada)	19 (5,6)	9 (13,0)	
		3 (nuclear)	117 (34,3)	16 (23,2)	
		4 (citoplasma)	150 (44,0)	39 (56,5)	
Clatrina	409	0 (ausente)	8 (2,3)	1 (1,5)	NA
		1 (fracamente +)	122 (35,9)	17 (24,6)	
		2 (fortemente +)	210 (61,8)	51 (73,9)	
MUC 2	412	0 (neg)	287 (84,2)	57 (80,3)	0.423
		1 (pos)	54 (15,8)	14 (19,7)	
MUC 5AC	414	0 (neg)	263 (76,5)	44 (62,9)	0.018
		1 (pos)	81 (23,5)	26 (37,1)	
MUC 6	414	0 (neg)	329 (95,6)	63 (90,0)	0.074
		1 (pos)	15 (4,4)	7 (10,0)	

* NA= não avaliável

Tabela 5 - Perfil da expressão de MUC 2 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	n	Categoria	MUC 2		p-valor
			0 N (%)	1 N (%)	
Idade	429	≤ 63 anos	177 (49,0)	40 (58,8)	0.138
		> 63 anos	184 (51,0)	28 (41,2)	
Tamanho	412	≤ 6cm	190 (54,4)	39 (61,9)	0.273
		> 6cm	159 (45,6)	24 (38,1)	
Diferenciação	384	B	33 (9,7)	1 (2,3)	NA
		M	152 (44,6)	13 (30,2)	
		P	156 (45,7)	29 (67,5)	
Estadio	351	IA / IB	44 (14,1)	3 (7,7)	0.825
		II	54 (17,3)	8 (20,5)	
		IIIA	88 (28,2)	11 (28,2)	
		IIIB	43 (13,8)	5 (12,8)	
		IV	83 (26,6)	12 (30,8)	
Nível infiltração(T)	429	T1	36 (10,0)	20 (29,4)	<0.001
		T2	74 (20,5)	8 (11,8)	
		T3 + T4	251 (69,5)	40 (58,8)	
Linfonodos (N)	424	N0	99 (27,6)	33 (50,0)	0.002
		N1	152 (42,5)	17 (25,8)	
		N2	80 (22,4)	10 (15,1)	
		N3	27 (7,5)	6 (9,1)	
Metástases Linfonodais	424	Neg	99 (27,6)	33 (50,0)	<0.001
		Pos	259 (72,4)	33 (50,0)	
Tipo Histológico	429	Difuso	139 (38,5)	37 (54,4)	0.014
		Intestinal	222 (61,5)	31 (45,6)	
E-caderina	416	0 (ausente)	97 (27,9)	33 (48,5)	0.003
		1 (reduzida)	148 (42,5)	18 (26,5)	
		2 (preservada)	103 (29,6)	17 (25,0)	
β-catenina	415	1 (ausente)	53 (15,2)	10 (14,9)	NA
		2 (preservada)	23 (6,6)	5 (7,5)	
		3 (nuclear)	112 (32,2)	21 (31,3)	
		4 (citoplasma)	160 (46,0)	31 (46,3)	
Clatrina	419	0 (ausente)	9 (2,6)	0 (0,0)	NA
		1 (fracamente +)	124 (35,2)	24 (35,8)	
		2 (fortemente +)	219 (62,2)	43 (64,2)	
MUC 1	412	0 (neg)	287 (83,4)	54 (79,4)	0.423
		1 (pos)	57 (16,6)	14 (20,6)	
MUC 5AC	421	0 (neg)	278 (78,5)	35 (52,2)	<0.001
		1 (pos)	76 (21,5)	32 (47,8)	
MUC 6	419	0 (neg)	343 (97,7)	54 (79,4)	<0.001
		1 (pos)	8 (2,3)	14 (20,6)	

* NA= não avaliável

Tabela 6 - Perfil da expressão de MUC 5AC em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	n	Categoria	MUC 5AC		p-valor
			0 N (%)	1 N (%)	
Idade	429	≤ 63 anos	154 (48,0)	63 (58,3)	0.063
		> 63 anos	167 (52,0)	45 (41,7)	
Tamanho	412	≤ 6cm	161 (52,1)	65 (63,1)	0.052
		> 6cm	148 (47,9)	38 (36,9)	
Diferenciação	384	B	31 (10,0)	3 (4,0)	0.046
		M	123 (39,7)	40 (54,1)	
		P	156 (50,3)	31 (41,9)	
Estadio	353	IA / IB	35 (12,3)	11 (16,2)	0.496
		II	52 (18,3)	11 (16,2)	
		IIIA	85 (29,8)	14 (20,6)	
		IIIB	40 (14,0)	10 (14,7)	
		IV	73 (25,6)	22 (32,3)	
Nível infiltração(T)	429	T1	24 (7,5)	31 (28,7)	<0.001
		T2	64 (19,9)	18 (16,7)	
		T3 + T4	233 (72,6)	59 (54,6)	
Linfonodos (N)	424	N0	87 (27,3)	45 (42,9)	0.026
		N1	133 (41,7)	34 (32,4)	
		N2	74 (23,2)	18 (17,1)	
		N3	25 (7,8)	8 (7,6)	
Metástases Linfonodais	424	Neg	87 (27,3)	45 (42,9)	0.003
		Pos	232 (72,7)	60 (57,1)	
Tipo Histológico	429	Difuso	136 (42,4)	40 (37,0)	0.330
		Intestinal	185 (57,6)	68 (63,0)	
E-caderina	419	0 (ausente)	107 (34,4)	24 (22,2)	0.001
		1 (reduzida)	130 (41,8)	38 (35,2)	
		2 (preservada)	74 (23,8)	46 (42,6)	
β-catenina	419	1 (ausente)	51 (16,4)	11 (10,2)	<0.001
		2 (preservada)	16 (5,1)	13 (12,0)	
		3 (nuclear)	115 (37,0)	22 (20,4)	
		4 (citoplasma)	129 (41,5)	62 (57,4)	
Clatrina	417	0 (ausente)	10 (3,2)	0 (0,0)	NA
		1 (fracamente +)	117 (37,3)	29 (26,8)	
		2 (fortemente +)	187 (59,5)	79 (73,2)	
MUC 1	414	0 (neg)	263 (85,7)	81 (75,7)	0.001
		1 (pos)	44 (14,3)	26 (24,3)	
MUC 2	421	0 (neg)	278 (88,8)	76 (70,4)	<0.001
		1 (pos)	35 (11,2)	32 (29,6)	
MUC 6	420	0 (neg)	311 (99,7)	87 (80,6)	<0.001
		1 (pos)	1 (0,3)	21 (19,4)	

* NA= não avaliável

Tabela 7 - Perfil da expressão de MUC 6 em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	n	Categoria	MUC 6		p-valor
			0 N (%)	1 N (%)	
Idade	423	≤ 63 anos	199 (49,6)	14 (63,6)	0.201
		> 63 anos	202 (50,4)	8 (36,4)	
Tamanho	406	≤ 6cm	210 (54,4)	14 (70,0)	0.171
		> 6cm	176 (45,6)	6 (30,0)	
Diferenciação	378	B	34 (9,1)	0 (0,0)	NA
		M	159 (42,5)	4 (100,0)	
		P	181 (48,4)	0 (0,0)	
Estadio	346	IA / IB	45 (13,2)	1 (25,0)	NA
		II	61 (17,8)	1 (25,0)	
		IIIA	97 (28,4)	0 (0,0)	
		IIIB	48 (14,1)	0 (0,0)	
		IV	91 (26,6)	2 (50,0)	
Nível infiltração(T)	423	T1	41 (10,2)	14 (63,6)	NA
		T2	77 (19,2)	4 (18,2)	
		T3 + T4	283 (70,6)	4 (18,2)	
Linfonodos (N)	418	N0	113 (28,5)	18 (85,7)	NA
		N1	164 (41,3)	2 (9,5)	
		N2	87 (21,9)	1 (4,8)	
		N3	33 (8,3)	0 (0,0)	
Metástases Linfonodais	418	Neg	113 (28,5)	18 (85,7)	<0.001
		Pos	284 (71,5)	3 (14,3)	
Tipo Histológico	423	Difuso	165 (41,1)	6 (27,3)	0.197
		Intestinal	236 (58,9)	16 (72,7)	
E-caderina	416	0 (ausente)	126 (32,0)	4 (18,2)	0.006
		1 (reduzida)	161 (41,9)	5 (22,7)	
		2 (preservada)	107 (27,1)	13 (59,1)	
β-catenina	416	1 (ausente)	63 (16,0)	0 (0,0)	NA
		2 (preservada)	27 (6,9)	1 (4,6)	
		3 (nuclear)	129 (32,7)	5 (22,7)	
		4 (citoplasma)	175 (44,4)	16 (72,7)	
Clatrina	417	0 (ausente)	9 (2,3)	0 (0,0)	NA
		1 (fracamente +)	138 (34,9)	7 (31,8)	
		2 (fortemente +)	248 (62,8)	15 (68,2)	
MUC 1	414	0 (neg)	329 (83,9)	15 (68,2)	0.074
		1 (pos)	63 (16,1)	7 (31,8)	
MUC 2	419	0 (neg)	343 (86,4)	8 (36,4)	<0.001
		1 (pos)	54 (13,6)	14 (63,6)	
MUC 5AC	420	0 (neg)	311 (78,1)	1 (4,5)	<0.001
		1 (pos)	87 (21,9)	21 (95,5)	

* NA= não avaliável

4.3.4 Clatrina

A Tabela 8 apresenta o perfil da expressão de clatrina em relação às variáveis clinicopatológicas e outros marcadores.

Conforme comentado no item 3.3.4, a ausência de expressão de clatrina foi observada em apenas 10/432 (2,3%) casos. A expressão positiva nos demais casos diferia quanto à intensidade da coloração e não em relação à porcentagem de células positivas. Dos 422 casos com positividade para clatrina, 267(61,8%) apresentavam coloração intensa, homogênea e mais forte em comparação com os outros 155 (35,9%), nos quais se observava coloração mais fraca e menos homogênea. A correlação entre a expressão de clatrina e a idade dos pacientes não foi significativa ($P=0.329$).

A distribuição das amostras não permitiu a realização dos testes estatísticos para correlação entre a expressão de clatrina e as outras variáveis estudadas.

Tabela 8 - Perfil da expressão de clatrina em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	N	Categoria	Clatrina			p-valor
			0 (ausente) N (%)	1 (fraca +) N (%)	2 (forte +) N (%)	
Idade	432	≤ 63 anos	7 (70,0)	82 (52,9)	130 (48,7)	0.329
		> 63 anos	3 (30,0)	73 (47,1)	137 (51,3)	
Tamanho	414	≤ 6cm	7 (77,8)	89 (60,1)	130 (50,6)	NA
		> 6cm	2 (22,2)	59 (39,9)	127 (49,4)	
Diferenciação	388	B	0 (0,0)	10 (7,5)	24 (9,8)	NA
		M	6 (66,7)	39 (29,1)	119 (48,6)	
		P	3 (33,3)	85 (63,4)	102 (41,6)	
Estadio	356	IA / IB	4 (44,5)	16 (13,2)	29 (12,8)	NA
		II	2 (22,2)	24 (19,9)	38 (16,8)	
		IIIA	2 (22,2)	39 (32,2)	58 (25,7)	
		IIIB	0 (0,0)	16 (13,2)	33 (14,6)	
		IV	1 (11,1)	26 (21,5)	68 (30,1)	
Nível infiltração(T)	432	T1	2 (20,0)	25 (16,1)	30 (11,2)	NA
		T2	3 (30,0)	35 (22,6)	44 (16,5)	
		T3 + T4	5 (50,0)	95 (61,3)	193 (72,3)	
Linfonodos (N)	427	N0	7 (70,0)	48 (31,4)	79 (29,9)	NA
		N1	3 (30,0)	60 (39,2)	105 (39,8)	
		N2	0 (0,0)	31 (20,3)	59 (22,4)	
		N3	0 (0,0)	14 (9,1)	21 (7,9)	
Metástases Linfonodais	427	Neg	7 (70,0)	48 (31,4)	79 (29,9)	NA
		Pos	3 (30,0)	105 (68,6)	185 (70,1)	
Tipo Histológico	432	Difuso	3 (30,0)	95 (61,3)	80 (30,0)	NA
		Intestinal	7 (70,0)	60 (38,7)	187 (70,0)	
E-caderina	421	0 (ausente)	7 (77,8)	75 (51,0)	48 (18,1)	NA
		1 (reduzida)	2 (22,2)	48 (32,6)	121 (45,7)	
		2 (preservada)	0 (0,0)	24 (16,4)	96 (36,2)	
β-catenina	422	1 (ausente)	8 (88,9)	35 (23,6)	19 (7,2)	NA
		2 (preservada)	0 (0,0)	14 (9,5)	16 (6,0)	
		3 (nuclear)	0 (0,0)	47 (31,8)	92 (34,7)	
		4 (citoplasma)	1 (11,1)	52 (35,1)	138 (52,1)	
MUC 1	409	0 (neg)	8 (88,9)	122 (87,8)	210 (80,5)	NA
		1 (pos)	1 (11,1)	17 (12,2)	51 (19,5)	
MUC 2	419	0 (neg)	9 (100,0)	124 (83,8)	219 (83,6)	NA
		1 (pos)	0 (0,0)	24 (16,2)	43 (16,4)	
MUC 5AC	422	0 (neg)	10 (100,0)	117 (80,1)	187 (70,3)	NA
		1 (pos)	0 (0,0)	29 (19,9)	79 (29,7)	
MUC 6	417	0 (neg)	9 (100,0)	138 (95,2)	248 (94,3)	NA
		1 (pos)	0 (0,0)	7 (4,8)	15 (5,7)	

* NA= não avaliável

4.4 ANÁLISES DE SOBREVIDA

4.4.1 Sobrevida Global (SG)

O seguimento clínico dos pacientes contando a partir da data da cirurgia até a data do óbito ou da última consulta, resultou num período que variou de 1 dia a 171,6 meses (média de 42,3 meses e mediana: 24,8 meses).

Dentre os 446 pacientes estudados ocorreram 305 mortes (68,4%) e somente 30 (6,7%) foram perdidos de vista.

A SG em 5 anos foi de 38,1% e de 23,4% em 10 anos (Figura 7). A análise dessa probabilidade foi calculada para as variáveis clinicopatológicas e da expressão dos marcadores (Tabela 9).

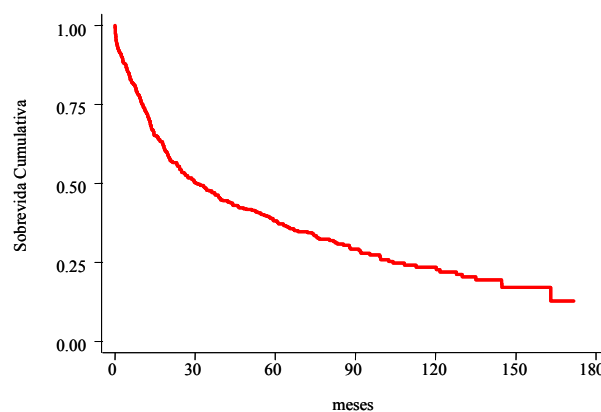


Figura 7 - Sobrevida global dos pacientes.

A SG dos pacientes não diferiu em relação ao tipo histológico e idade. A expressão dos marcadores E-caderina, β -catenina, clatrina e MUC 1 não mostraram correlação significativa com a SG dos pacientes.

As variáveis pT ($p < 0.001$) e pN ($p < 0.001$) permanecem significativas no cálculo da SG, diminuindo a probabilidade de sobrevida dos pacientes

proporcionalmente ao aumento do nível de infiltração do ADG e número de linfonodos comprometidos.

A expressão das mucinas MUC 5AC ($p= 0.0416$) e MUC 6 ($p= 0.0020$) mostraram correlação significativa com a SG. Pacientes com ausência de expressão destas mucinas apresentaram SG em 5 anos de 35,2% e 36,0% respectivamente, em relação ao grupo de pacientes com expressão positiva (43,4% e 71,6%).

O efeito da expressão de MUC 2 na curva de SG mostrou significância marginal ($p= 0.0903$). Pacientes com expressão de MUC 2 apresentavam melhor SG em 5 anos (46,5%) comparada aos pacientes que não apresentavam essa expressão (36,7%). As análises de SG para a expressão dos marcadores, que foram estatisticamente significativas, podem ser observadas nas Figuras de 8 -11.

Tabela 9 - Sobrevida global dos pacientes em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

Variável	n	Categoria	Sobrevida Global (%)		p-valor
			5 anos (%)	10 anos (%)	
Idade	225	≤ 63 anos	40,20	25,16	0.2395
	221	> 63 anos	36,00	21,78	
Laurén	185	Difuso	38,37	23,58	0.6053
	261	Intestinal	37,94	23,58	
Nível infiltração (T)	58	T1	80,7	62,8	<0.001
	83	T2	60,5	43,4	
	305	T3 + T4	24,0	10,8	
Linfonodos (N)	136	N0	70,1	48,1	<0.001
	174	N1	33,0	21,8	
	96	N2	10,4	2,3	
	35	N3	17,8	0,0	
E-caderina	133	0 (ausente)	36,5	21,8	0.3795
	171	1 (reduzida)	37,0	20,5	
	120	2 (preservada)	38,2	30,5	
β-catenina	63	1 (ausente)	42,8	15,1	0.4068
	30	2 (preservada)	40,3	34,9	
	139	3 (nuclear)	33,1	18,6	
	192	4 (citoplasma)	38,5	28,7	
Clatrina	10	0 (ausente)	51,3	25,7	0.1739
	155	1 (fracamente +)	47,1	27,0	
	267	2 (fortemente +)	32,7	22,6	
MUC 1	345	0 (neg)	37,8	22,0	0.4099
	71	1 (pos)	32,6	22,8	
MUC 2	361	0 (neg)	36,7	22,2	0.0903
	68	1 (pos)	46,5	26,1	
MUC 5AC	321	0 (neg)	35,2	20,6	0.0416
	108	1 (pos)	43,4	30,3	
MUC 6	401	0 (neg)	36,0	21,8	0.0020
	22	1 (pos)	71,6	53,7	

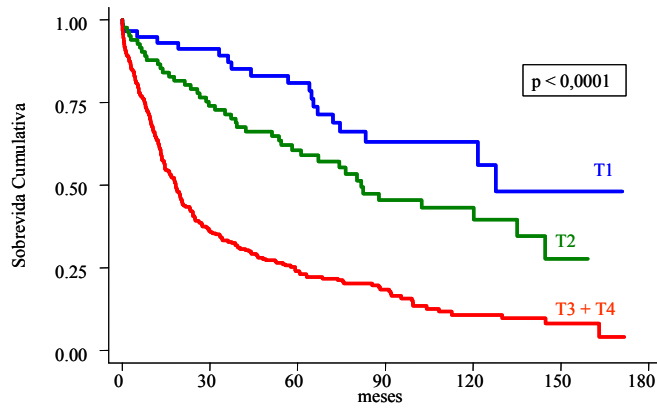


Figura 8 - Sobrevida global dos pacientes em relação ao pT.

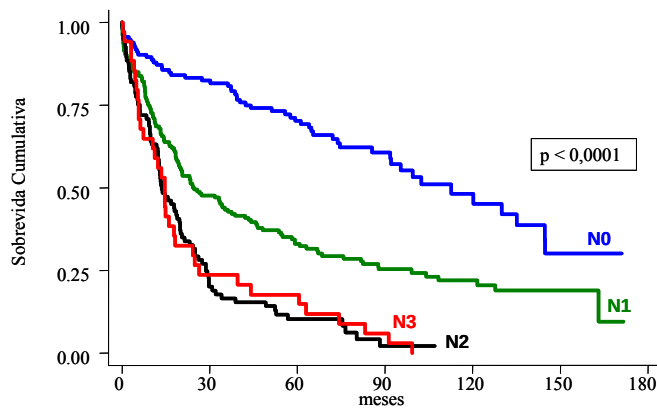


Figura 9 - Sobrevida global dos pacientes em relação ao pN.

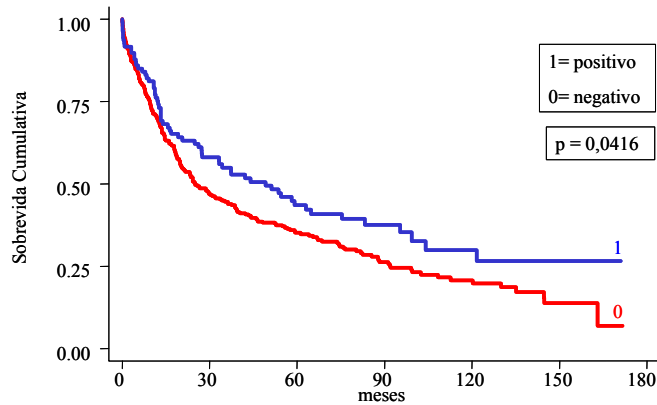


Figura 10 - Sobrevida global dos pacientes em relação à expressão de MUC 5AC.

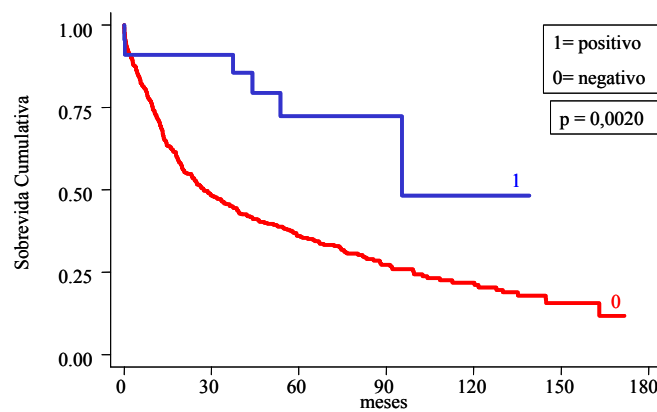


Figura 11 - Sobrevida global dos pacientes em relação à expressão de MUC 6.

4.4.2 Sobrevida Global em relação ao Tipo Histológico

Como observamos na Figura 12, não há diferença significativa nas curvas de sobrevida dos pacientes em relação aos tipos histológicos ADG-D e ADG-I segundo Laurén.

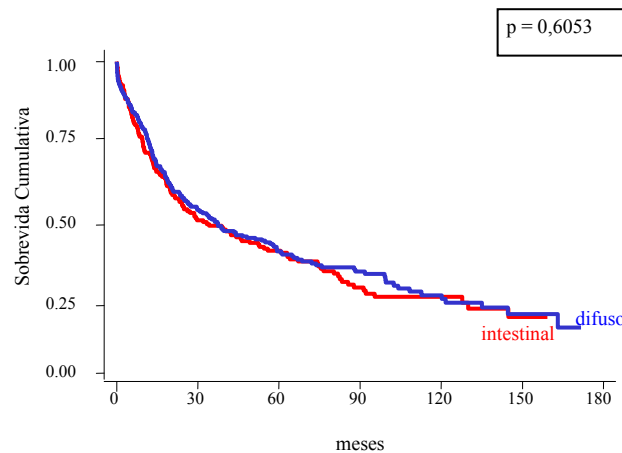


Figura 12 - Sobrevida Global em relação ao Tipo Histológico

Ao restringirmos a análise da SG apenas ao grupo dos ADG-D (Tabela 10), observamos que variáveis as idade ($p=0.0202$), pT ($p<0.001$) e pN ($p<0.001$) interferem na determinação da sobrevida. A sobrevida dos pacientes diminui ao aumento da idade, nível de infiltração da parede gástrica e do comprometimento linfonodal.

Quanto à expressão dos marcadores, a expressão de β -catenina, MUC 1 e MUC 2 não apresentaram correlação estatisticamente significativa com a SG dos pacientes com ADG-D.

Em relação à expressão de E-caderina nos casos de ADG-D, os pacientes com expressão preservada apresentaram SG em 5 anos de 68,7% enquanto que nos pacientes com expressão ausente, essa probabilidade foi de 33,8% ($p= 0.0109$).

Quando agrupamos os grupos 0 e 1 (expressão ausente e reduzida) e comparamos com o grupo 2 (expressão preservada), observamos que foi mantida a relação de melhor sobrevida para os pacientes com expressão preservada de E-caderina, porém, com maior significância ($p=0.0029$).

Para as mucinas, pacientes com expressão positiva de MUC 5AC e MUC 6 apresentaram SG em 5 anos de 50,5% e 100,0% respectivamente ($p=0.0194$ e $p=0.0224$). Nos casos com expressão negativa dessas mucinas, a SG em 5 anos foi de 33,6% para MUC 5AC e 35,8% para MUC 6. As curvas de sobrevida estatisticamente significantes conforme os marcadores estão apresentadas nas Figuras 13 a 15.

Tabela 10 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-D em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

SOBREVIDA GLOBAL ADG-D (%)					
Variável	n	Categoria	5 anos (%)	10 anos (%)	p-valor
Idade	114	≤ 63 anos	44,1	26,5	0.0202
	71	> 63 anos	29,2	18,9	
Nível infiltração (T)	18	T1	88,2	64,9	<0.001
	38	T2	66,9	42,8	
	129	T3 + T4	23,2	12,3	
Linfonodos (N)	53	N0	73,0	55,9	<0.001
	53	N1	33,7	21,1	
	54	N2	15,1	5,0	
	24	N3	13,3	0,0	
E-caderina	90	0 (ausente)	33,8	20,7	0.0109
	64	1 (reduzida)	35,0	21,3	
	20	2 (preservada)	68,7	52,0	
E-caderina*	154	0 +1 (aus / red)	34,2	20,9	0.0029
	20	2 (preservada)	68,7	52,0	
β-catenina	38	1 (ausente)	42,1	18,7	0.1895
	9	2 (preservada)	60,0	60,0	
	72	3 (nuclear)	29,4	17,0	
	54	4 (citoplasma)	44,4	32,0	
Clatrina	3	0 (ausente)	100,0	100,0	0.1515
	95	1 (fracamente +)	44,3	24,9	
	80	2 (fortemente +)	31,3	23,8	
MUC 1	158	0 (neg)	38,2	22,4	0.4093
	9	1 (pos)	13,6	13,6	
MUC 2	139	0 (neg)	39,9	24,9	0.3844
	37	1 (pos)	33,3	12,5	
MUC 5AC	136	0 (neg)	33,6	19,0	0.0194
	40	1 (pos)	50,5	35,7	
MUC 6	165	0 (neg)	35,8	21,9	0.0224
	6	1 (pos)	100,0	60,0	

* Nota: A expressão de E-caderina foi dividida em dois grupos: preservada (2) e ausente/reduzida (0+1).

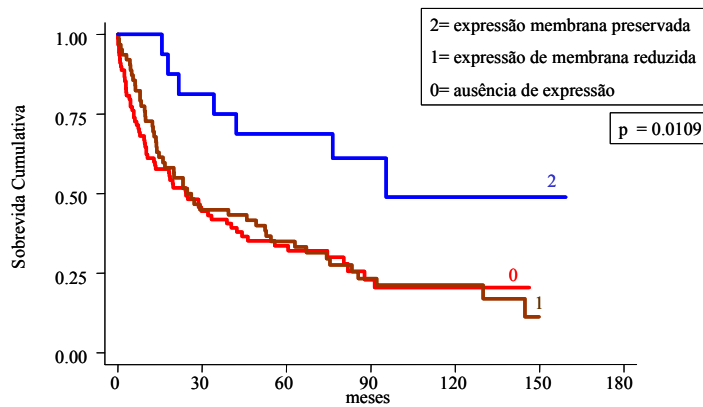


Figura 13 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de E-caderina.

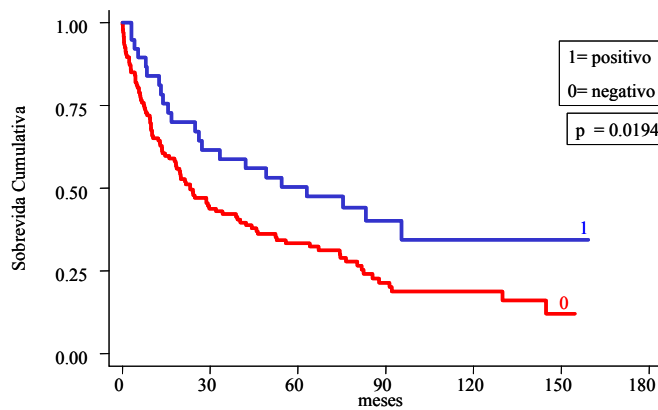


Figura 14 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de MUC 5AC.

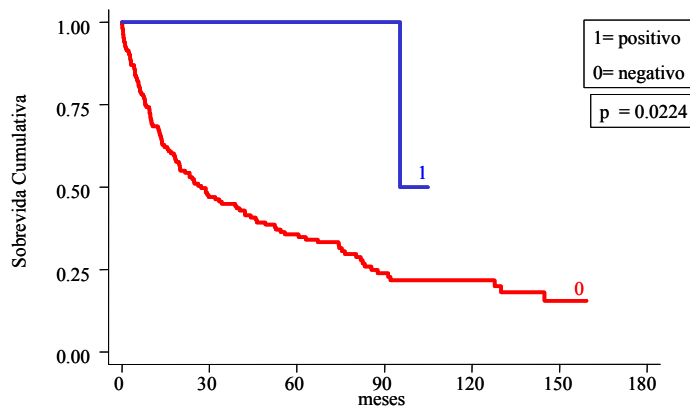


Figura 15 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-D em relação à expressão de MUC 6.

Para os ADG-I, os resultados da análise de SG são apresentados na Tabela 11.

As variáveis pT e pN foram mantidas como fatores determinantes no cálculo de SG para os pacientes com ADG-I, com menor probabilidade de sobrevida proporcional ao avanço do estadiamento dos tumores (ambos, $p < 0.001$).

Na análise dos marcadores, os pacientes com expressão positiva de MUC 2 apresentaram SG em 5 anos de 63,2%. Esta probabilidade diminuiu para 34,7% no grupo de pacientes com expressão negativa para MUC 2 ($p = 0.0019$). A expressão de MUC 6 também mostrou correlação significativa com a SG ($p = 0.0290$). Para os pacientes com expressão positiva de MUC 6, não houve variação na probabilidade de sobrevida em 5 e 10 anos. Nos pacientes que apresentaram ausência deste marcador, a SG em 5 anos foi de 36,1% e diminuiu para 21,9% em 10 anos. A idade e expressão dos marcadores E-caderina, β -catenina, clatrina, MUC 1 e MUC 5AC não apresentaram correlação significativa com a SG dos pacientes com ADG-I. Esses resultados podem ser observados nas Figuras 16 e 17.

Tabela 11 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-I em relação às variáveis clinicopatológicas e os marcadores.

SOBREVIDA GLOBAL ADG-I (%)					
Variável	n	Categoria	5 anos (%)	10 anos (%)	p-valor
Idade	111	≤ 63 anos	36,2	24,1	0.8661
	150	> 63 anos	39,1	23,3	
Nível infiltração (T)	40	T1	77,5	62,5	<0.001
	45	T2	55,4	44,5	
	176	T3 + T4	24,4	9,8	
Linfonodos (N)	83	N0	68,2	43,7	<0.001
	121	N1	32,6	21,7	
	42	N2	4,6	0,0	
	11	N3	9,1	0,0	
E-caderina	43	0 (ausente)	42,0	25,6	0.8533
	107	1 (reduzida)	38,4	20,2	
	100	2 (preservada)	32,3	26,7	
β-catenina	25	1 (ausente)	44,8	12,3	0.8935
	21	2 (preservada)	32,2	23,0	
	67	3 (nuclear)	37,2	20,7	
	138	4 (citoplasma)	36,3	27,6	
Clatrina	7	0 (ausente)	38,1	0,0	0.3216
	60	1 (fracamente +)	51,4	31,4	
	187	2 (fortemente +)	33,3	22,2	
MUC 1	187	0 (neg)	37,3	22,4	0.4722
	62	1 (pos)	35,3	24,5	
MUC 2	222	0 (neg)	34,7	20,6	0.0019
	31	1 (pos)	63,2	42,1	
MUC 5AC	185	0 (neg)	36,3	21,9	0.4840
	68	1 (pos)	39,0	27,9	
MUC 6	236	0 (neg)	36,1	21,9	0.0290
	16	1 (pos)	58,3	58,3	

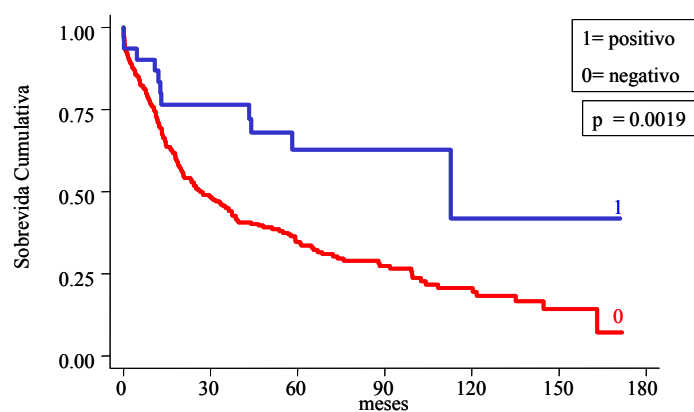


Figura 16 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-I em relação à expressão de MUC 2.

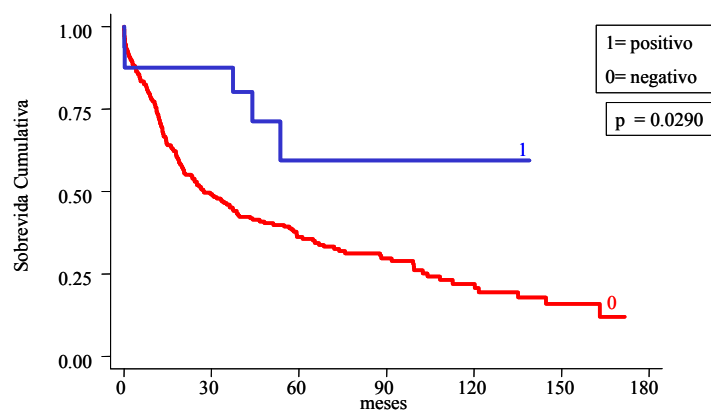


Figura 17 - Sobrevida global dos pacientes com ADG-I em relação à expressão de MUC 6.

4.4.3 Análise Multivariada

Na análise multivariada somente as variáveis pT e pN permaneceram como fatores prognósticos independentes (ambos $p < 0.001$). O modelo de regressão de COX, através da técnica *stepwise* não selecionou nenhum dos marcadores confirmando que os principais fatores prognósticos são o nível de infiltração e o número de linfonodos comprometidos (Tabela 12).

Embora MUC 2, MUC 5 AC e MUC 6 tenham mostrado significância ou tendência à significância na análise univariada, não se mostraram fatores prognósticos independentes por estarem associados ao pT e pN, sendo essas variáveis muito “fortes”.

Tabela 12 - Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95%.

Variável	Categoria	HR (95% IC)	p-value
Nível de infiltração (T)	T1	1,0 (ref.)	
	T2	1,34 (0,8 – 2,3)	0,306
	T3 + T4	3,00 (1,8 – 4,9)	< 0,0001
Linfonodos (N)	N0	1,0 (ref.)	
	N1	1,98 (1,4 – 2,7)	< 0,0001
	N2	3,80 (2,6 – 5,4)	< 0,0001
	N3	3,60 (2,3 – 5,6)	< 0,0001

Na Tabela 13, observamos que as variáveis relacionadas ao estadiamento (pT e pN) se mantiveram significativas quando estratificamos a análise de sobrevida apenas para os pacientes com ADG-D ($P=0.013$ e $P<0.001$, respectivamente).

Tabela 13 - Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95%, para os casos com ADG-D.

Variável	Categoria	HR * (95% IC)	p-value
Nível de infiltração	T1	1,0 (ref.)	
	T2	1,00 (0,4 – 2,5)	0,965
	T3 + T4	2,95 (1,2 – 6,9)	0,013
Linfonodos (N)	N0	1,0 (ref.)	
	N1	3,65 (2,0 – 6,5)	< 0,0001
	N2	5,61 (3,1 – 10,0)	< 0,0001
	N3	6,00 (3,2 – 11,4)	< 0,0001

* HR ajustado por gênero e faixa etária (≤ 63 ; > 63 anos).

Nos ADG-I, as mesmas variáveis (pT e pN) se mantiveram como fatores prognósticos independentes, como observamos na Tabela 14.

Tabela 14 - Estimativa do risco de óbito (HR) através do modelo de regressão de COX, com intervalo de confiança de 95% somente para os casos com ADG-I.

Variável	Categoria	HR (95% IC)	p-value
Nível de infiltração	T1	1,0 (ref.)	
	T2	1,78 (0,9 – 3,6)	0,104
	T3 + T4	3,33 (1,8 – 6,3)	< 0,0001
Linfonodos (N)	N0	1,0 (ref.)	
	N1	1,58 (1,0 – 2,4)	0,030
	N2	3,68 (2,2 – 6,1)	< 0,0001
	N3	2,50 (1,2 – 5,1)	0,011

5 DISCUSSÃO

Quando superficiais e cirurgicamente curáveis, os carcinomas gástricos geralmente não produzem sintomas. Conseqüentemente ao diagnóstico tardio, apresentam-se localmente avançados e metastáticos, limitando as opções de tratamento e conferindo um prognóstico ruim (FUCHS et al. 1995).

No presente estudo, utilizamos o método *tissue array* (TMA) para avaliar uma ampla série de ADG. A limitação mais discutida da técnica TMA é o tamanho das amostras dispostas nas lâminas. Vários estudos comparando resultados obtidos entre análises de TMA e de cortes correspondentes dispostos em lâminas convencionais mostraram que a heterogeneidade dos tumores não influenciava a identificação dos parâmetros prognósticos. Cada associação dos parâmetros clínicos ou morfológicos encontrada nos cortes convencionais, também foi detectada na análise de TMA. Outro ponto, é que a observação de 2-3 “*histo-spots*”, pode representar os padrões de expressão das proteínas vistos na análise das lâminas convencionais (CAMP et al. 2000, MUCCI et al. 2000, HOOS et al. 2001).

A questão se os dados do TMA podem reproduzir análises feitas nos cortes convencionais, é menos importante do que se as associações clinicopatológicas podem ser reproduzidas ou detectadas no TMA. De fato, estudos prévios de TMA puderam reproduzir inteiramente as associações conhecidas entre as alterações moleculares e o fenótipo do tumor (KONONEN et al. 1998, MOCH et al. 2001, KALLIONIEMI et al. 2001, SIMON et al. 2002).

Para solucionar as limitações potenciais do método neste estudo, em cada bloco de TMA, para cada caso, dois *cores* diferentes foram dispostos em duplicata. Para as reações imunoistoquímicas, selecionamos duas lâminas de TMA com nível de diferença de pelo menos 25 cortes entre elas. Portanto, cada caso foi analisado em quatro cores de níveis diferentes para cada marcador. Acreditamos que desse modo, pudemos analisar a expressão das proteínas em diferentes regiões do tumor, quase idênticas morfológicamente e com boa representatividade.

Na questão da heterogeneidade dos ADG, preferimos analisar nessa primeira etapa, apenas os tumores classificados como tipo intestinal e difuso de acordo com a classificação de Laurén (LAUREN 1965), o que facilitou a construção de perfis bem definidos da amostra avaliada. Os tumores classificados como mistos e inclassificáveis, excluídos dessa primeira etapa do estudo, dificultariam essa análise, uma vez que apresentam maior heterogeneidade intratumoral se comparados aos tipos intestinal e difuso.

A análise de alterações biológicas relacionadas à patogênese dessa doença, como as que ocorrem no complexo de adesão e no processo de diferenciação celular gástrica, têm auxiliado na identificação de biomarcadores que possam ser utilizados na avaliação do comportamento biológico (GABBERT et al. 1996, RAMESH et al. 1999, TANAKA et al. 2002, EBERT et al. 2003).

Neste estudo, avaliamos a expressão de proteínas relacionadas à adesão intercelular e à diferenciação gástrica em relação ao tipo histológico e outras variáveis.

Quando comparados os dois tipos histológicos de acordo com a classificação de Laurén, o estudo mostrou que os ADG-D e ADG-I diferem entre si em múltiplos

aspectos testados. Considerando a mediana de idade (63 anos) de todos os casos como parâmetro de corte, os pacientes com ADG-D foram significativamente mais jovens. Os casos de ADG-D se apresentaram como tumores com características de comportamento biológico mais agressivas, tais como menor grau de diferenciação e maior comprometimento linfonodal. Em relação ao grau de diferenciação, este é um resultado esperado uma vez que conceitualmente os ADG-D são neoplasias pouco diferenciadas. Além disso, a perda da expressão de proteínas envolvidas com a adesão celular (E-caderina, β -catenina e MUC 1) foi mais freqüente nos ADG-D. Quanto às demais mucinas, neste mesmo grupo havia maior número de casos expressando MUC 2 em relação aos ADG-I. A expressão das mucinas gástricas MUC 5AC e MUC 6 não apresentou correlação significativa com os tipos histológicos, embora tenha sido observada maior freqüência de expressão positiva dessas mucinas gástricas nos ADG-I.

A despeito destas diferenças biológicas observadas, a sobrevida global entre os dois grupos foi muito similar (Figura 12). Entretanto, as diferenças observadas reforçam a idéia de que os ADG-D e os ADG-I apresentam patogênese distinta, conforme proposto anteriormente (CORREA 1988). Recentemente, um estudo mostrou que a expressão gênica diferencia os dois grupos ADG-D e ADG-I, com ênfase para a expressão do gene da metaloprotease-2. Além deste gene, outros igualmente permitem esta diferenciação, tais como os genes *CDH1* e *CTNNB1* (MEIRELES et al. 2004).

Os resultados de comparação entre os ADG-D e os ADG-I em relação à adesão celular - no presente estudo representada pela expressão de moléculas envolvidas no processo, E-caderina, β -catenina e MUC 1 - mostram diferenças

significantes entre estes dois grupos histológicos. Estas diferenças estão de acordo com o esperado, uma vez que a caracterização morfológica destes dois subtipos depende da capacidade de adesão intercelular. Um resultado pouco esperado foi em relação à expressão de mucina de padrão intestinal MUC 2. De acordo com a teoria patogênica dos ADG-I, estes tumores seriam precedidos por alteração celular do tipo metaplasia intestinal, devendo adquirir fenótipo produtor de MUC 2 (SILVA et al. 2002), porém nossos resultados mostraram maior frequência de expressão de MUC 2 nos casos de ADG-D em relação aos ADG-I.

Os aspectos particulares de cada um dos marcadores serão discutidos adiante.

A expressão imunoistoquímica da E-caderina nos ADG mostrou relação estatística com diversos parâmetros testados. Encontramos expressão anormal de E-caderina (ausente/reduzida) em 71,3% dos ADG avaliados. Este resultado se inclui nos parâmetros relatados por outros estudos 30-75% (JAWHARI et al. 1997, RAMESH et al. 1999).

A correlação significativa com o tipo histológico concorda com outros estudos (GABBERT et al. 1996, JAWHARI et al. 1997, JOO et al. 2002) e mostra que a expressão ausente de E-caderina ocorreu mais frequentemente nos ADG-D (67,7%) em relação aos ADG-I (32,3%). Esses achados apóiam a hipótese de que a adesão celular mediada por caderina atua como “sistema supressor de invasão”, associando a perda da expressão de membrana desses componentes com a redução da adesão célula-célula, desorganização da morfologia glandular normal e diferenciação reduzida (TAKEICHI 1991, BIRCHMEIER et al. 1994). Outros estudos sugerem que E-caderina pode não ser um marcador apropriado para indicar progressão no câncer

gástrico, mas tem papel importante na formação tubular (CORREA et al. 1994, ZHANG et al. 2004).

Observamos que a ausência de expressão da E-caderina correlacionou-se com menor grau de diferenciação e com comprometimento linfonodal (pN), mas não mostrou correlação com estadio e nível de infiltração (pT). Embora nesse grupo tenha predominado o número de casos T3 e T4 e com estadio mais avançado, estas variáveis não mostraram correlação significativa com a expressão de E-caderina. Outros estudos apresentaram resultado similar quanto ao pT, mas não encontraram correlação com pN (ZHOU et al. 2002, JOO et al. 2002). A correlação com pN, confirma que a expressão ausente ou reduzida de E-caderina durante o desenvolvimento do tumor pode promover o destacamento e disseminação das células do tumor primário.

Os ADG com ausência de expressão de E-caderina, também apresentavam em sua maioria, expressão ausente de β -catenina (32,8%) e marcação nuclear (42%). Este resultado indica que a ausência de expressão de E-caderina ocorre freqüentemente nos ADG e pode levar à ruptura do complexo de adesão intercelular. Esta ruptura permite que a β -catenina adquira forma livre no citoplasma, podendo seguir dois caminhos: 1) sofra degradação na ausência de sinalização da via Wnt, resultando na não marcação imunoistoquímica e 2) outra possibilidade é que após a ativação da via Wnt, a β -catenina livre no citoplasma siga para o núcleo e atue como fator de transcrição (POLAKIS 2000), como discutido adiante.

Outra característica apresentada por este grupo foi a ausência de expressão das mucinas MUC 1, MUC 5AC e MUC 6 (89,9%, 81,7% e 96,9%, respectivamente). No caso da MUC 2, o maior número de casos positivos estava no

grupo que apresentava ausência de expressão de E-caderina (25,4%). Um estudo mostrou que a expressão de MUC 1 nos carcinomas gástricos estava negativamente correlacionada com a expressão da E-caderina (TANAKA et al. 2003). Outro sugere que tanto MUC1 como MUC 2 contribuem para a progressão do câncer gástrico, e que estas mucinas podem inibir o papel da E-caderina (ZHANG et al. 2004). Poucos estudos têm avaliado se a relação entre a expressão de mucinas e de E-caderina é alterada durante a progressão do câncer (KOSEKI et al. 2000, TANAKA et al. 2003, ZHANG et al. 2004). Os mecanismos pelos quais a expressão das mucinas interfere no complexo de adesão celular ainda não foram devidamente esclarecidos e alguns aspectos dessa relação serão apresentados adiante.

Adicionalmente, encontramos alguns tumores pouco diferenciados expressando E-caderina na membrana celular. Embora o complexo caderina-catenina seja o principal responsável pelo sistema de adesão celular nos epitélios, há outros sistemas e moléculas responsáveis pela adesão célula-célula. A interação entre a E-caderina e outras cateninas além da β -catenina (α -, γ - e p120, não incluídas neste estudo) é fundamental para a adesão célula-célula (JAWHARI et al. 1997, JAWHARI et al. 1999, ZHOU et al. 2002, KOWALCZYK et al. 2004). Proteínas como APC e c-erbB-2 também interagem com a E-caderina (SHIMOYAMA et al. 1991) e não foram avaliadas neste estudo. Outra possibilidade poderia ser um defeito funcional da E-caderina com a expressão imunoistoquímica (BECKER et al. 1993). Estudos recentes têm relatado que a expressão de E-caderina pode ser reduzida por repressores transcricionais como Snail, SIP1 e SLUG e induzir transição do fenótipo epitelial para o mesenquimal (HAJRA et al. 2002, BLANCO et al. 2002).

A análise da SG em relação à expressão de E-caderina, independente do tipo histológico, não mostra correlação significativa (Tabela 9). Porém, a curva de sobrevida desta análise sugere que perda da expressão preservada de E-caderina é indicador de pior prognóstico. Alguns estudos indicaram que há relação entre a expressão de E-caderina e o prognóstico (GABBERT et al. 1996, GRABSCH et al. 2001, CHEN et al. 2003), outros não encontraram essa correlação (JAWHARI et al. 1997, RAMESH et al. 1999). Porém quando esta análise é feita apenas no grupo dos ADG-D, a expressão preservada de E-caderina atribui uma estimativa de sobrevida de 68,7% em 5 anos (contra 33,8% nos casos com ausência desse marcador). Esse resultado sugere a relação entre a perda da expressão de E-caderina e a perda da organização celular - alterações bem freqüentes nos ADG-D - interferem significativamente na sobrevida do paciente. Nesse amplo painel de interações é difícil afirmar com certeza que apenas a expressão da E-caderina, como vista na imunohistoquímica, seja conclusiva como fator prognóstico no ADG.

Ainda em relação ao complexo caderina-catenina, observamos que a perda da expressão de β -catenina ocorre na maioria dos ADG.

Em relação ao tipo histológico, nossos resultados confirmam a importância do papel estrutural da β -catenina. A perda de expressão de β -catenina e marcação nuclear ocorreram mais freqüentemente nos ADG-D, enquanto nos ADG-I (onde a interação célula-célula está aumentada) predominavam os casos com expressão preservada e citoplasmática. Resultado similar foi demonstrado em alguns estudos anteriores (RAMESH et al. 1999, NABAIS et al. 2003).

Além do seu papel estrutural, a β -catenina também desempenha um papel importante na via de sinalização Wnt, conforme comentado anteriormente

(POLAKIS 2000). A modificação pós-traducional da molécula de β -catenina rompe a interação entre a E-caderina e a α -catenina levando à perda da adesão celular mediada pela caderina, potencializando o processo neoplásico (BEHRENS et al. 1996). Por isso em alguns casos de ADG-D, podemos observar a perda de adesão entre as células neoplásicas mesmo quando há expressão de E-caderina preservada na membrana. Pelo menos nesse grupo de ADG-D a β -catenina parece desempenhar papel essencial na perda da adesão celular a despeito da E-caderina. A correlação da expressão de β -catenina com os marcadores E-caderina e MUC 5AC, mostra que nos ADG avaliados, a expressão anômala da β -catenina contribui para a ruptura do complexo célula-célula adicionalmente à perda da E-caderina. Quanto à relação entre a expressão da β -catenina e MUC 5AC, provavelmente há uma correlação entre a perda da β -catenina e a perda do fenótipo gástrico caracterizado pela perda da MUC 5AC, porém com base nos resultados não podemos esclarecer essa relação.

Fisiologicamente, o nível da β -catenina no citoplasma é baixo, devido a sua degradação pelo sistema ubiquitina-proteassomo através de marcação pela proteína APC. Mutações no gene *APC* podem levar ao aumento do nível citoplasmático e nuclear da β -catenina livre (INOMATA et al. 1996). Sabe-se que a β -catenina no núcleo atua como fator de transcrição ativando genes como *Ciclina D1* e *c-myc*, interferindo na proliferação e controle do ciclo celular.

Dos 424 casos avaliados nestes estudo, 139 (32,8%) apresentaram marcação nuclear, sendo que 72/139 (51,8%) eram ADG-D. Este resultado difere de dados apresentados previamente por outro estudo (GRABSCH et al. 2001).

Em muitos estudos, mutações no gene da β -catenina podem ser demonstradas como um possível evento molecular que ativa a via de sinalização Wnt (GAMALLO

et al. 1999, CHUNG et al. 2004). Entretanto, nesses estudos também havia tumores com marcação nuclear/citoplasmática de β -catenina que não apresentavam mutações. Nesses casos, outros fatores moleculares além das mutações genéticas podem ter influenciado o padrão de expressão de β -catenina nas células neoplásicas (MULLER et al. 2000).

Apenas com a análise da expressão imunoistoquímica da proteína em nosso estudo, não pudemos correlacionar a marcação nuclear da β -catenina com a ativação da via Wnt ou mutações no gene *CTNNB1*. São necessários estudos posteriores que avaliem a expressão de genes que sabidamente são ativados pela interação da β -catenina /TCF-LEF (BRABLETZ et al. 2002) para confirmar a ativação da via Wnt.

A expressão de β -catenina não apresentou correlação com as variáveis demográficas e clinicopatológicas. A correlação com pN mostrou apenas uma tendência à significância. Estes achados estão de acordo com outro estudo e sugerem que a redução da expressão de membrana de β -catenina nos ADG avaliados não influencia diretamente a progressão ou metástase do carcinoma gástrico (JAWHARI et al. 1997).

Na análise da SG, embora não tenha mostrado significância estatística, a expressão de β -catenina mostrou indícios de correlação com sobrevida favorável. A estimativa de sobrevida em 10 anos para os pacientes que possuíam expressão de β -catenina preservada na membrana, era de 34,9% enquanto que para os pacientes com ausência de expressão ou marcação nuclear essa estimativa era menor (15,1% e 18,6%). No grupo dos ADG-D, essa correlação foi mais intensa: para os pacientes com expressão de membrana, a SG não variou em 5 anos e 10 anos (60,0%). Já os pacientes com expressão ausente, a SG em 5 anos se reduz à 42,1%, e para aqueles

com marcação nuclear, uma estimativa de sobrevida pior em 5 anos em relação aos outros padrões de expressão de β -catenina (29,4%). Não observamos esse mesmo perfil na análise de SG no grupo dos ADG-I.

Há varias explicações possíveis para estas discrepâncias entre os achados atuais e outros. A expressão do complexo E-caderina-catenina relatada em diferentes estudos é comparada com dificuldade devido aos diferentes sistemas de escores e anticorpos utilizados. A disfunção do complexo caderina-catenina pode ocorrer como resultado de mutação no gene, hipermetilação do promotor, transcrição anormal ou modificação pós-transcricional pela fosforilação da tirosina (JAWHARI et al. 1997, PEIFER 1997, BEXX et al. 1998). Estes mecanismos que interferem na função do complexo caderina-catenina, podem ocorrer no câncer, mesmo na presença do complexo caderina-catenina estruturalmente normal. Considerando este fato, a presença das proteínas do complexo caderina-catenina, tal como mostrada pela imunohistoquímica, não indica que o complexo E-caderina-catenina está necessariamente funcional.

Nossos resultados mostram que a expressão reduzida da E-caderina e β -catenina ocorrem em uma considerável proporção de tumores gástricos e correlaciona com o rompimento da morfologia glandular e perda de diferenciação. Porém não podemos concluir, apenas com esses dados, que a expressão reduzida do complexo caderina-catenina pode acrescentar valor prognóstico aos fatores convencionais tais como estadio e status de metástases, como visto na análise multivariada.

Nos ADG avaliados quanto à expressão de MUC 1, observamos predomínio de casos com perda de MUC 1. Este resultado discorda de outros estudos que

relataram alta expressão de MUC 1 em ADG (BALDUS et al. 1998, UTSUNOMIYA et al. 1998, ZHANG et al. 2004).

A expressão de MUC 1 nos casos avaliados não mostrou correlação com as variáveis demográficas e clinicopatológicas, exceto o grau de diferenciação, mostrando que a perda da expressão de MUC 1 foi mais freqüente nos tumores com menor grau de diferenciação. Os casos que expressavam MUC 1 eram na maioria ADG-I e com expressão de E-caderina preservada, mostrando associação entre a expressão das moléculas envolvidas com a adesão celular e a manutenção do fenótipo glandular nos ADG. Ainda em relação à manutenção do fenótipo gástrico, observamos que a perda da expressão de MUC 1 se associava à perda da expressão das mucinas MUC 5AC e MUC 6 ($p=0.018$ e $p=0.074$, respectivamente).

A expressão positiva de MUC 1 não apresentou correlação com a SG, mesmo quando analisamos essa expressão em relação aos tipos histológicos separadamente. Consideramos que a expressão de MUC 1 afeta a sobrevida dos pacientes com ADG-I e ADG-D no mesmo nível em concordância com outro estudo (UTSUNOMIYA et al. 1998).

Um dos mecanismos pelo qual MUC 1 acelera a invasão tumoral é interferindo no complexo de adesão mediado pela E-caderina. A expressão de MUC1 antecede a anormalidade da E-caderina e contribui para invasão do câncer gástrico (TANAKA et al. 2003). Estudos indicam associação da expressão de MUC 1 com aumento da motilidade e propriedade de invasão celular em cultura de células (SUWA et al. 1998) e associação da expressão aumentada de MUC 1 com prognóstico desfavorável (BALDUS et al. 1998, UTSUNOMIYA et al. 1998,

BALDUS et al. 2002). Em contraste a esses estudos, Wang *et al.* associaram a expressão de MUC 1 com prognóstico favorável (WANG et al. 2003).

Um estudo *in vitro* mostra que a MUC 1, quando expressa em altos níveis, pode competir com a E-caderina pela interação com a β -catenina nas junções aderentes (YAMAMOTO et al. 1997). Outros estudos também relatam que a MUC 1 pode interferir de várias maneiras no complexo de adesão induzindo alterações que facilitam o processo metastático (LI et al. 1998, LI et al. 2001, SCHROEDER et al. 2001).

Quanto à mucina intestinal MUC 2, não é usualmente expressa na mucosa gástrica normal (HO et al. 1993a, FILIPE et al. 1996, REIS et al. 1998), porém apresenta expressão *de novo* nos casos de metaplasia intestinal e carcinoma gástricos (HO et al. 1995, UTSUNOMIYA et al. 1998, REIS et al. 2000, BALDUS 2003). Observamos a expressão de MUC 2 em uma minoria dos casos avaliados (15,8%), em concordância com estudos prévios (HO et al. 1995, MACHADO et al. 2000). A frequência de expressão de MUC 2 foi baixa no presente estudo se comparada com a literatura pertinente (LEE et al. 2001, PINTO-DE-SOUSA et al. 2004, ZHANG et al. 2004). Diferenças na metodologia e anticorpos provenientes de diferentes fornecedores comerciais podem justificar as diferenças entre os resultados obtidos neste estudo em comparação à outros na literatura.

Estudos que têm investigado se os carcinomas gástricos classificados como tipo intestinal de Laurén são derivados da metaplasia intestinal, afirmam que a expressão de antígenos de mucina pode ser influenciada por tais relações histogenéticas (LEE et al. 2001). Um estudo prévio baseado na afirmação de que a expressão de mucinas no ADG reflete o tipo de célula original, relatou que a maioria

dos ADG-I avaliados expressava MUC 2 (HO et al. 1995). Entretanto, nossos dados não confirmam essa teoria, já que dentre os casos expressando MUC 2, havia maior número de ADG-D (54,4%) em relação aos ADG-I. Essa proporção se inverteu no grupo que não apresentava expressão de MUC 2 (61,5% eram ADG-I). Há relatos de que as mucinas de fenótipo gástrico (MUC 1, MUC 5AC e MUC 6) são expressas também na metaplasia intestinal e em alguns carcinomas gástricos de tipo intestinal (CARRATO et al. 1994, NOGUEIRA et al. 1999) e a MUC 2 expressava em 94,4% dos carcinomas mucinosos (AALTONEN e HAMILTON 2000) os quais eram usualmente classificados como difusos, discordando da relação “expressão de mucinas e fenótipo do tumor”.

Nos ADG avaliados, a expressão de MUC 2 não mostrou correlação com as variáveis demográficas, estágio e grau de diferenciação. As associações da expressão de MUC 2 incluem variáveis que conferem pior comportamento biológico ao tumor (pT, pN), perda de moléculas associadas à adesão celular (E-caderina e MUC 1) e de diferenciação gástrica (MUC 5AC e MUC 6). Se estes dados não permitem associar a presença de MUC 2 com prognóstico favorável, a análise de SG indica que os pacientes com expressão positiva de MUC 2 apresentam melhor SG em 5 anos (46,5%) em relação aos pacientes que não possuíam essa expressão (36,7%). Quando avaliamos a influência da expressão de MUC 2 na SG dos pacientes com ADG-D, não encontramos correlação significativa. Nos ADG-I, porém, a expressão de MUC 2 aparece novamente como fator indicativo de melhor sobrevida para os pacientes (estimativa de SG em 5 anos de 63,2%). A expressão de MUC 2 como indicador de bom prognóstico foi sugerida anteriormente (UTSUNOMIYA et al. 1998), e contestada por outros estudos (STERNBERG et al. 1999, ZHANG et al. 2004). A

expressão de MUC 2 foi considerada previamente como fator prognóstico de sobrevida favorável para pacientes com ADG devido à alta expressão de MUC 2 em ADG de estadio precoce e baixa expressão de MUC 2 em pacientes com metástases em linfonodos. Uma possível explicação nesse caso, é que os domínios de MUC 2 ricos em cisteína, devem desempenhar um papel na regulação da proliferação celular, contribuindo para o melhor comportamento biológico (UTSUNOMIYA et al. 1998).

A diminuição da expressão de MUC 5AC durante a progressão da doença, representa um marcador de diferenciação gástrica (CARRATO et al. 1994, HO et al. 1995). Nossos resultados concordam com estudos que relatam expressão reduzida de MUC 5AC nos ADG (REIS et al. 1997, BALDUS et al. 2002). Um estudo prévio descreveu que a expressão de MUC 5AC era mais freqüente nos carcinomas precoces (100%) em relação aos avançados (58,6%) sugerindo que todos os ADGs retêm o fenótipo gástrico durante as primeiras etapas do desenvolvimento neoplásico (REIS et al. 1997).

Nos casos avaliados, não houve correlação significativa da expressão de MUC 5AC com a idade dos pacientes, tamanho, estadio clínico e tipo histológico. Estes resultados se assemelham a um estudo publicado anteriormente (BALDUS 2003) e diferem de outros que associaram a maior freqüência de positividade de MUC 5AC com ADG-D (REIS et al. 1997, PINTO DE SOUZA et al. 2002).

A perda da expressão de MUC 5AC associou-se com menor grau de diferenciação, maior nível de infiltração e metástases em linfonodos, com a ausência/redução da expressão de E-caderina, expressão ausente ou marcação nuclear de β -catenina e com perda de expressão das mucinas MUC 1, MUC 2 e MUC 6. Essas associações indicam que a perda da expressão de MUC 5AC

contribui para o aumento da capacidade do tumor em invadir e produzir metástases (influência da perda da adesão celular) e perda do fenótipo gástrico dos tumores.

Analisando se a imunorreatividade de MUC 5AC representa um marcador prognóstico útil no ADG, observamos que os casos que mantinham MUC 5AC apresentavam uma probabilidade de sobrevida melhor em relação aos que perderam essa expressão (SG em 5 anos de 43,4% e 35,2%, respectivamente). Essa estimativa se manteve na análise da SG para os ADG-D (SG em 5 anos de 50,5% e 33,6%, respectivamente), porém a SG dos ADG-I não diferiu significativamente quanto à expressão de MUC 5AC, embora a manutenção da expressão de MUC 5AC tenha atribuído melhor sobrevida aos pacientes.

A expressão de MUC 6 foi observada em uma pequena porcentagem de ADGs (5,2%), como relatada em estudos anteriores (HO et al. 1995, REIS et al. 2000, PINTO-DE-SOUSA et al. 2002). Porém outros estudos relatam porcentagens maiores (57% e 32%) que a da nossa série. As diferenças na especificidade e diferentes níveis de tolerância à glicosilação entre os anticorpos podem contribuir para as discrepâncias entre os resultados (REIS et al. 2000).

Nos ADG avaliados, a expressão de MUC 6 não mostrou correlação com o tipo histológico. Este fato está de acordo com a presença de células heterogêneas nos diferentes tipos de carcinomas gástricos (FIOCCA et al. 1987, CARNEIRO et al. 1995). A expressão desse marcador está associada com a diferenciação mucopéptica em tecido gástrico normal. Nossos resultados indicam que a diferenciação mucopéptica não é uma característica proeminente nos carcinomas gástricos e, além disso, quando está presente não associa-se com um tipo histológico específico (DE BOLOS et al. 1995, REIS et al. 2000).

A expressão de MUC 6 correlacionou-se com a ausência de metástases em linfonodos, expressão de E-caderina e MUC 5AC preservadas, e expressão positiva de MUC 2. Essas correlações indicam que a perda da expressão de MUC 6 também contribui para o aumento da capacidade do tumor em invadir e produzir metástases e perda do fenótipo gástrico dos tumores.

Avaliando o comportamento biológico dos ADG em relação à expressão de MUC 6, observamos que os tumores com expressão positiva de MUC 6 eram menos invasivos (63,6% dos tumores T1) comparados aos tumores que perderam a expressão de MUC 6 (70,6% eram T3 e T4), embora essa correlação não tenha sido significativa.

Embora não tenha mostrado correlação com a β -catenina, nossos resultados sugerem que os ADG que mantêm a expressão de MUC 6 apresentam menor capacidade de invasão e produção de metástases, maior preservação da estrutura e organização epitelial (associação com as moléculas relacionadas à adesão) conferindo aos pacientes deste grupo um melhor prognóstico em relação ao grupo que perde essa expressão. Esse prognóstico favorável é confirmado na análise de SG, atribuindo aos pacientes com expressão positiva de MUC 6, uma estimativa de SG em 5 anos de 71,6%. Mesmo quando estratificamos esta análise em relação aos tipos histológicos, a SG em 5 anos para esse grupo continua favorável (ADG-D 100% e ADG-I 58,3%). Com base nesses dados podemos concluir que a expressão de MUC 6 pode ser um indicador de melhor prognóstico, embora a análise multivariada não a tenha selecionado como fator prognóstico independente.

Em relação aos nossos resultados, podemos inferir que a presença de mucinas normalmente expressas no epitélio gástrico normal (MUC 5AC e MUC 6) ou

intestinal (MUC 2), está associada com um melhor prognóstico no ADG. Essa associação está de acordo com estudos prévios (BALDUS et al. 1998, UTSUNOMIYA et al. 1998, BALDUS et al. 2002) e indica que a ausência/perda da diferenciação gástrica pode estar relacionada com a progressão tumoral, aumentando dos carcinomas precoces para os avançados, tanto nos ADG-D quanto nos ADG-I.

A inclusão da clatrina no painel de marcadores para o presente estudo foi baseada em relatos que apontam uma interação entre a clatrina e o complexo de adesão caderina-catenina. Uma redução nos níveis de clatrina, interfere nos níveis de E-caderina na superfície celular e conseqüentemente na interação entre E-caderina e β -catenina (BEHRENS et al. 1996, LE et al. 1999). Porém há contradições quanto ao papel da clatrina na reciclagem da E-caderina (AKHTAR et al. 2001, IVANOV et al. 2004).

Estudo recente, avaliando a expressão diferencial de genes no carcinoma gástrico, relatou uma superexpressão de β -catenina nos tumores gástricos e redução nos níveis de clatrina em relação ao tecido normal (MEIRELES et al. 2003). Este resultado não pode ser confirmado pela expressão imunoistoquímica, uma vez que a grande maioria dos casos apresentou positividade para clatrina. A mensuração da intensidade da expressão da clatrina no presente estudo foi realizada de forma subjetiva, agrupando os casos como “expressão forte e fraca”. Eventualmente, a mensuração objetiva da intensidade de reação pode trazer novos subsídios no entendimento da participação da clatrina no ADG. Diferentemente dos outros marcadores, não foi considerada a porcentagem de células tumorais positivas para clatrina, uma vez que quando havia expressão, praticamente todas as células do corte eram positivas.

Não foi possível realizar análises estatísticas entre a expressão de clatrina e as demais variáveis, devido ao número reduzidos de casos com ausência de expressão. O teste foi realizado apenas para correlação da expressão da clatrina com a idade dos pacientes, mas não mostrou significância estatística. A correlação com a SG também não foi significativa.

Aparentemente os resultados sugerem que há relação entre a expressão de clatrina e dos outros marcadores analisados. Porém, não podemos afirmar a relação entre os mecanismos envolvendo a clatrina e a expressão da E-caderina. Outra observação, é que talvez a imunoistoquímica não seja o método mais adequado para avaliação do papel da clatrina nos ADG. Como afirmamos anteriormente, esse método não nos permite concluir sobre a funcionalidade da proteína.

6 CONCLUSÃO

As correlações entre as variáveis demográficas e clinicopatológicas apresentadas neste estudo estão de acordo com dados na literatura. Isso nos permite afirmar que os métodos e categorizações utilizados são válidos para análises de perfil dos ADG.

Em relação à clatrina, são necessários outros métodos mais específicos para análise de sua relação com as moléculas do complexo de adesão e do papel desempenhado nos ADG.

No presente estudo, observamos que as alterações na expressão dos marcadores testados ocorrem em uma considerável proporção de tumores gástricos e sugerem relação com o rompimento da morfologia glandular e perda de diferenciação. Estas alterações são fundamentais na determinação do fenótipo tumoral e podem interferir na sobrevida global dos pacientes acometidos com câncer gástrico.

Os tumores do tipo histológico difuso, de acordo com Laurén, estão associados com as variáveis demográficas e perda da expressão de moléculas envolvidas na adesão celular (E-caderina, β -catenina e MUC 1) atribuindo pior comportamento biológico para estes tumores.

Embora a expressão da β -catenina não tenha apresentado correlação com a sobrevida, a manutenção da expressão de membrana está associada com melhor comportamento biológico do tumor (em relação aos casos que apresentaram ausência

ou marcação nuclear), sugerindo que este marcador deve ser melhor investigado nestes casos de ADG em estudos posteriores.

A expressão de MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 estão correlacionadas com melhor prognóstico na análise de sobrevida global, independente de tipo histológico.

A correlação com a sobrevida sugere que os padrões de expressão de E-caderina, MUC 2, MUC 5AC e MUC 6 podem ser marcadores prognósticos úteis, particularmente E-caderina, MUC 5AC e MUC 6 para os pacientes apresentando tumores do tipo difuso; e MUC 2 e MUC 6 para os pacientes com tumores de tipo intestinal.

O sistema de estadiamento TNM persistiu como o principal indicador de prognóstico no câncer gástrico, o que pode ter afetado a análise do valor prognóstico dos marcadores analisados na análise multivariada.

Essas correlações indicam que os padrões de expressão destas proteínas podem ser marcadores prognósticos úteis, porém estudos posteriores incluindo outros fatores que participem na morfogênese, adesão celular e sinalização da via Wnt são necessários para melhor entendimento da relação dessas proteínas com a morfogênese do adenocarcinoma gástrico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaltonen LA, Hamilton SR. **Pathology and genetics of tumors of the digestive system**. Lyon: IARC Press; 2000. Tumor of the stomach; p. 38-52. (World Health Organization, International Agency for Research on Cancer).

Ai Z, Fischer A, Spray DC, Brown AM, Fishman GI. Wnt-1 regulation of connexin43 in cardiac myocytes. **J Clin Invest** 2000; 105:161-71.

Akhtar Ne Hotchin NA. RAC1 regulates adherens junctions through endocytosis of E-cadherin. **Mol Biol Cell** 2001; 12:847-62.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. **The molecular biology of the cell**. 4th. New York: Garland Science; 2002. Intracellular vesicular traffic; p.711-66.

Allgayer H, Heiss MM, Schildberg FW. Prognostic factors in gastric cancer. **Br J Surg** 1997; 84:1651-64.

Altschuler Y, Kinlough CL, Poland PA, Bruns JB, Apodaca G, Weisz OA et al. Clathrin-mediated endocytosis of MUC-1 is modulated by its glycosylation state. **Mol Biol Cell** 2000; 11:819-31.

Anzai H, Kitadai Y, Bucana CD, Sanchez R, Omoto R, Fidler IJ. Expression of metastasis-related genes in surgical specimens of human gastric cancer can predict disease recurrence. **Eur J Cancer** 1998; 34:558-65.

Ascano JJ, Frierson H, Jr., Moskaluk CA, Harper JC, Roviello F, Jackson CE et al. Inactivation of the E-cadherin gene in sporadic diffuse-type gastric cancer. **Mod Pathol** 2001; 14:942-9.

Baldus SE. [Clinical, pathological and molecular prognostic factors in colorectal carcinomas]. **Pathologe** 2003; 24:49-60.

Baldus SE, Monig SP, Arkenau V, Hanisch FG, Schneider PM, Thiele J et al. Correlation of MUC5AC immunoreactivity with histopathological subtypes and prognosis of gastric carcinoma. **Ann Surg Oncol** 2002; 9:887-93.

Baldus SE, Zirbes TK, Engel S, Hanisch FG, Monig SP, Lorenzen J et al. Correlation of the immunohistochemical reactivity of mucin peptide cores

MUC1 and MUC2 with the histopathological subtype and prognosis of gastric carcinomas. **Int J Cancer** 1998; 79:133-8.

Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR et al. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. **Cancer Res** 1994; 54:3845-52.

Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Huang HH, Nekarda H, Siewert JR et al. Exon skipping in the E-cadherin gene transcript in metastatic human gastric carcinomas. **Hum Mol Genet** 1993; 2:803-4.

Becker KF, Keller G, Hoefler H. The use of molecular biology in diagnosis and prognosis of gastric cancer. **Surg Oncol** 2000; 9:5-11.

Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R et al. Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. **Nature** 1996; 382:638-42.

Berx G, Nollet F, van Roy F. Dysregulation of the E-cadherin/catenin complex by irreversible mutations in human carcinomas. **Cell Adhes Commun** 1998; 6:171-84.

Birchmeier We Behrens J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. **Biochim Biophys Acta** 1994; 1198:11-26.

Blanco MJ, Moreno-Bueno G, Sarrio D, Locascio A, Cano A, Palacios J et al. Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast carcinomas. **Oncogene** 2002; 21:3241-6.

Blok P, Craanen ME, Dekker W, Tytgat GN. Loss of E-cadherin expression in early gastric cancer. **Histopathology** 1999; 34:410-5.

Brabletz T, Jung A, Kirchner T. Beta-catenin and the morphogenesis of colorectal cancer. **Virchows Arch** 2002; 441:1-11.

Byrd JCe Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. **Cancer Metastasis Rev** 2004; 23:77-99.

Caca K, Kolligs FT, Ji X, Hayes M, Qian J, Yahanda A et al. Beta- and gamma-catenin mutations, but not E-cadherin inactivation, underlie T-cell factor/lymphoid enhancer factor transcriptional deregulation in gastric and pancreatic cancer. **Cell Growth Differ** 1999; 10:369-76.

Caldas C, Carneiro F, Lynch HT, Yokota J, Wiesner GL, Powell SM et al. Familial gastric cancer: overview and guidelines for management. **J Med Genet** 1999; 36:873-80.

Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. **Lab Invest** 2000; 80:1943-9.

Candidus S, Bischoff P, Becker KF, Hofler H. No evidence for mutations in the alpha- and beta-catenin genes in human gastric and breast carcinomas. **Cancer Res** 1996; 56:49-52.

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

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

Carrato C, Balague C, de Bolos C, Gonzalez E, Gambus G, Planas J et al. Differential apomucin expression in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. **Gastroenterology** 1994; 107:160-72.

Chen HC, Chu RY, Hsu PN, Hsu PI, Lu JY, Lai KH et al. Loss of E-cadherin expression correlates with poor differentiation and invasion into adjacent organs in gastric adenocarcinomas. **Cancer Lett** 2003; 201:97-106.

Choi YW, Heath EI, Heitmiller R, Forastiere AA, Wu TT. Mutations in beta-catenin and APC genes are uncommon in esophageal and esophagogastric junction adenocarcinomas. **Mod Pathol** 2000; 13:1055-9.

Christofori Ge Semb H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. **Trends Biochem Sci** 1999; 24:73-6.

Chung GG, Zerkowski MP, Ocal IT, Dolled-Filhart M, Kang JY, Psyrrri A et al. beta-Catenin and p53 analyses of a breast carcinoma tissue microarray. **Cancer** 2004; 100:2084-92.

Clements WM, Wang J, Sarnaik A, Kim OJ, MacDonald J, Fenoglio-Preiser C et al. beta-Catenin mutation is a frequent cause of Wnt pathway activation in gastric cancer. **Cancer Res** 2002; 62:3503-6.

Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. **Cancer Res** 1988; 48:3554-60.

Correa Pe Shiao YH. Phenotypic and genotypic events in gastric carcinogenesis. **Cancer Res** 1994; 54:1941s-3s.

Crawford HC, Fingleton BM, Rudolph-Owen LA, Goss KJ, Rubinfeld B, Polakis P et al. The metalloproteinase matrilysin is a target of beta-catenin transactivation in intestinal tumors. **Oncogene** 1999; 18:2883-91.

De Bolos C, Garrido M, Real FX. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach. **Gastroenterology** 1995; 109:723-34.

Ebert MP, Yu J, Hoffmann J, Rocco A, Rocken C, Kahmann S et al. Loss of Beta-catenin expression in metastatic gastric cancer. **J Clin Oncol** 2003; 21:1708-14.

El Rifai W, Frierson HF, Jr., Harper JC, Powell SM, Knuutila S. Expression profiling of gastric adenocarcinoma using cDNA array. **Int J Cancer** 2001; 92:832-8.

Filipe MI, Linehan JM, Durrant LG, Price MR, Smeeton NC, Pathak S et al. Expression of a peptide epitope of the colonic mucin MUC2 in precursor lesions to gastric carcinoma. **Eur J Cancer Prev** 1996; 5:287-95.

Fiocca R, Villani L, Tenti P, Solcia E, Cornaggia M, Frigerio B et al. Characterization of four main cell types in gastric cancer: foveolar, mucopeptic, intestinal columnar and goblet cells. An histopathologic, histochemical and ultrastructural study of "early" and "advanced" tumours. **Pathol Res Pract** 1987; 182:308-25.

Flucke U, Steinborn E, Dries V, Monig SP, Schneider PM, Thiele J et al. Immunoreactivity of cytokeratins (CK7, CK20) and mucin peptide core antigens (MUC1, MUC2, MUC5AC) in adenocarcinomas, normal and metaplastic tissues of the distal oesophagus, oesophago-gastric junction and proximal stomach. **Histopathology** 2003; 43:127-34.

Fuchs CSe Mayer RJ. Gastric carcinoma. **N Engl J Med** 1995; 333:32-41.

Gabbert HE, Mueller W, Schneiders A, Meier S, Moll R, Birchmeier W et al. Prognostic value of E-cadherin expression in 413 gastric carcinomas. **Int J Cancer** 1996; 69:184-9.

Gamallo C, Palacios J, Moreno G, Calvo dM, Suarez A, Armas A. beta-catenin expression pattern in stage I and II ovarian carcinomas : relationship with beta-catenin gene mutations, clinicopathological features, and clinical outcome. **Am J Pathol** 1999; 155:527-36.

Gayther SA, Goringe KL, Ramus SJ, Huntsman D, Roviello F, Grehan N et al. Identification of germ-line E-cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. **Cancer Res** 1998; 58:4086-9.

Grabsch H, Takeno S, Noguchi T, Hommel G, Gabbert HE, Mueller W. Different patterns of beta-catenin expression in gastric carcinomas: relationship with clinicopathological parameters and prognostic outcome. **Histopathology** 2001; 39:141-9.

Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. **Nature** 1998; 392:402-5.

Guilford PJ, Hopkins JB, Grady WM, Markowitz SD, Willis J, Lynch H et al. E-cadherin germline mutations define an inherited cancer syndrome dominated by diffuse gastric cancer. **Hum Mutat** 1999; 14:249-55.

Gulmann C, Butler D, Kay E, Grace A, Leader M. Biopsy of a biopsy: validation of immunoprofiling in gastric cancer biopsy tissue microarrays. **Histopathology** 2003; 42:70-6.

Gurbuz Y, Kahlke V, Kloppel G. How do gastric carcinoma classification systems relate to mucin expression patterns? An immunohistochemical analysis in a series of advanced gastric carcinomas. **Virchows Arch** 2002; 440:505-11.

Hajra KMe Fearon ER. Cadherin and catenin alterations in human cancer. **Genes Chromosomes Cancer** 2002; 34:255-68.

Handschuh G, Candidus S, Luber B, Reich U, Schott C, Oswald S et al. Tumour-associated E-cadherin mutations alter cellular morphology, decrease cellular adhesion and increase cellular motility. **Oncogene** 1999; 18:4301-12.

Haugstvedt TK, Visto A, Eide GE, Soreide O. Norwegian multicenter study of survival and prognostic factors in patients undergoing curative resection for gastric carcinoma. **Br J Surg** 1993; 80:475-8.

He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW. PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Cell** 1999; 99:335-45.

He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. **Science** 1998; 281:1509-12.

Heiss MM, Babie R, Allgayer H. Tumor-associated proteolysis and prognosis: new functional risk factors in gastric cancer defined by the urokinase-type plasminogen activator system. **J Clin Oncol** 1995; 13:2084-93.

Hirohashi Se Kanai Y. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. **Cancer Sci** 2003; 94:575-81.

Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET et al. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues. **Cancer Res** 1993; 53:641-51.

Ho SB, Shekels LL, Toribara NW, Kim YS, Lyftogt C, Cherwitz DL et al. Mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium. **Cancer Res** 1995; 55:2681-90.

Hoos A, Urist MJ, Stojadinovic A, Mastorides S, Dudas ME, Leung DH et al. Validation of tissue microarrays for immunohistochemical profiling of cancer specimens using the example of human fibroblastic tumors. **Am J Pathol** 2001; 158:1245-51.

Humar B, Toro T, Graziano F, Muller H, Dobbie Z, Kwang-Yang H et al. Novel germline CDH1 mutations in hereditary diffuse gastric cancer families. **Hum Mutat** 2002; 19:518-25.

Inomata M, Ochiai A, Akimoto S, Kitano S, Hirohashi S. Alteration of beta-catenin expression in colonic epithelial cells of familial adenomatous polyposis patients. **Cancer Res** 1996; 56:2213-7.

Instituto Nacional do Câncer. Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 2005. 2005;

Ivanov AI, Nusrat A, Parkos CA. Endocytosis of epithelial apical junctional proteins by a clathrin-mediated pathway into a unique storage compartment. **Mol Biol Cell** 2004; 15:176-88.

Jawhari A, Jordan S, Poole S, Browne P, Pignatelli M, Farthing MJ. Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: relationship with patient survival. **Gastroenterology** 1997; 112:46-54.

Jawhari AU, Noda M, Pignatelli M, Farthing M. Up-regulated cytoplasmic expression, with reduced membranous distribution, of the src substrate p120(ctn) in gastric carcinoma. **J Pathol** 1999; 189:180-5.

Joo YE, Rew JS, Choi SK, Bom HS, Park CS, Kim SJ. Expression of e-cadherin and catenins in early gastric cancer. **J Clin Gastroenterol** 2002; 35:35-42.

Kallioniemi OP, Wagner U, Kononen J, Sauter G. Tissue microarray technology for high-throughput molecular profiling of cancer. **Hum Mol Genet** 2001; 10:657-62.

Kielhorn E, Provost E, Olsen D, D'Aquila TG, Smith BL, Camp RL et al. Tissue microarray-based analysis shows phospho-beta-catenin expression in malignant melanoma is associated with poor outcome. **Int J Cancer** 2003; 103:652-6.

Kim JP, Kwon OJ, Oh ST, Yang HK. Results of surgery on 6589 gastric cancer patients and immunochemosurgery as the best treatment of advanced gastric cancer. **Ann Surg** 1992; 216:314-8.

Koh TJ, Bulitta CJ, Fleming JV, Dockray GJ, Varro A, Wang TC. Gastrin is a target of the beta-catenin/TCF-4 growth-signaling pathway in a model of intestinal polyposis. **J Clin Invest** 2000; 106:533-9.

Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nat Med** 1998; 4:844-7.

Koseki K, Takizawa T, Koike M, Ito M, Nihei Z, Sugihara K. Distinction of differentiated type early gastric carcinoma with gastric type mucin expression. **Cancer** 2000; 89:724-32.

Kowalczyk AP, Reynolds AB. Protecting your tail: regulation of cadherin degradation by p120-catenin. **Curr Opin Cell Biol** 2004; 16:522-7.

Kremer M, Quintanilla-Martinez L, Fuchs M, Gamboa-Dominguez A, Haye S, Kalthoff H et al. Influence of tumor-associated E-cadherin mutations on tumorigenicity and metastasis. **Carcinogenesis** 2003; 24:1879-86.

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

Le TL, Yap AS, Stow JL. Recycling of E-cadherin: a potential mechanism for regulating cadherin dynamics. **J Cell Biol** 1999; 146:219-32.

Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim WH. Tumour suppressor gene expression correlates with gastric cancer prognosis. **J Pathol** 2003; 200:39-46.

Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. **Cancer** 2001a; 92:1427-34.

Lee JH, Koh JT, Shin BA, Ahn KY, Roh JH, Kim YJ et al. Comparative study of angiostatic and anti-invasive gene expressions as prognostic factors in gastric cancer. **Int J Oncol** 2001b; 18:355-61.

Li Y, Bharti A, Chen D, Gong J, Kufe D. Interaction of glycogen synthase kinase 3 β with the DF3/MUC1 carcinoma-associated antigen and beta-catenin. **Mol Cell Biol** 1998; 18:7216-24.

Li Y, Ren J, Yu W, Li Q, Kuwahara H, Yin L et al. The epidermal growth factor receptor regulates interaction of the human DF3/MUC1 carcinoma antigen with c-Src and beta-catenin. **J Biol Chem** 2001; 276:35239-42.

Lustig Be Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. **J Cancer Res Clin Oncol** 2003; 129:199-221.

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

Meireles SI, Carvalho AF, Hirata R, Montagnini AL, Martins WK, Runza FB et al. Differentially expressed genes in gastric tumors identified by cDNA array. **Cancer Lett** 2003; 190:199-211.

Meireles SI, Cristo EB, Carvalho AF, Hirata R, Jr., Pelosof A, Gomes LI et al. Molecular classifiers for gastric cancer and nonmalignant diseases of the gastric mucosa. **Cancer Res** 2004; 64:1255-65.

Miwa K. Evaluation of the TNM classification of stomach cancer and proposal for its rational stage-grouping. **Jpn J Clin Oncol** 1984; 14:385-410.

Moch H, Kononen T, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? **Adv Anat Pathol** 2001; 8:14-20.

Mucci NR, Akdas G, Manely S, Rubin MA. Neuroendocrine expression in metastatic prostate cancer: evaluation of high throughput tissue microarrays to detect heterogeneous protein expression. **Hum Pathol** 2000; 31:406-14.

Muller W, Grabsch H, Takeno S, Noguchi T, Hommel G, Gabbert HE. Prognostic value of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 in gastric cancer. **Anticancer Res** 2000; 20:1787-92.

Nabais S, Machado JC, Lopes C, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simoes M. Different patterns of beta-catenin expression in gastric carcinomas: relationship with clinicopathological parameters and prognostic outcome. **Histopathology** 2002; 41:368-9.

Nabais S, Machado JC, Lopes C, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simoes M. Patterns of beta-Catenin Expression in Gastric Carcinoma: Clinicopathological Relevance and Mutation Analysis. **Int J Surg Pathol** 2003; 11:1-9.

Nakajima K, Ota H, Zhang MX, Sano K, Honda T, Ishii K et al. Expression of gastric gland mucous cell-type mucin in normal and neoplastic human tissues. **J Histochem Cytochem** 2003; 51:1689-98.

Nogueira AM, Machado JC, Carneiro F, Reis CA, Gott P, Sobrinho-Simoes M. Patterns of expression of trefoil peptides and mucins in gastric polyps with and without malignant transformation. **J Pathol** 1999; 187:541-8.

Nollet F, Berx G, van Roy F. The role of the E-cadherin/catenin adhesion complex in the development and progression of cancer. **Mol Cell Biol Res Commun** 1999; 2:77-85.

Peifer M. Beta-catenin as oncogene: the smoking gun. **Science** 1997; 275:1752-3.

Pennica D, Swanson TA, Welsh JW, Roy MA, Lawrence DA, Lee J et al. WISP genes are members of the connective tissue growth factor family that are up-regulated in wnt-1-transformed cells and aberrantly expressed in human colon tumors. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1998; 95:14717-22.

Pinto-de-Sousa J, David L, Reis CA, Gomes R, Silva L, Pimenta A. Mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 expression in the evaluation of differentiation and clinico-biological behaviour of gastric carcinoma. **Virchows Arch** 2002; 440:304-10.

Pinto-de-Sousa J, Reis CA, David L, Pimenta A, Cardoso-de-Oliveira M. MUC5B expression in gastric carcinoma: relationship with clinico-pathological parameters and with expression of mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6. **Virchows Arch** 2004; 444:224-30.

Polakis P. Wnt signaling and cancer. **Genes Dev** 2000; 14:1837-51.

Ramesh S, Nash J, McCulloch PG. Reduction in membranous expression of beta-catenin and increased cytoplasmic E-cadherin expression predict poor survival in gastric cancer. **Br J Cancer** 1999; 81:1392-7.

Reis CA, David L, Carvalho F, Mandel U, de Bolos C, Mirgorodskaya E et al. Immunohistochemical study of the expression of MUC6 mucin and co-expression of other secreted mucins (MUC5AC and MUC2) in human gastric carcinomas. **J Histochem Cytochem** 2000; 48:377-88.

Reis CA, David L, Nielsen PA, Clausen H, Mirgorodskaya K, Roepstorff P et al. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. **Int J Cancer** 1997; 74:112-21.

Reis CA, Sorensen T, Mandel U, David L, Mirgorodskaya E, Roepstorff P et al. Development and characterization of an antibody directed to an alpha-N-acetyl-D-galactosamine glycosylated MUC2 peptide. **Glycoconj J** 1998; 15:51-62.

Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Olsen DA, Provost E. Amplification of tissue by construction of tissue microarrays. **Exp Mol Pathol** 2001; 70:255-64.

Roder JD, Bottcher K, Siewert JR, Busch R, Hermanek P, Meyer HJ. Prognostic factors in gastric carcinoma. Results of the German Gastric Carcinoma Study 1992. **Cancer** 1993; 72:2089-97.

Schroeder JA, Thompson MC, Gardner MM, Gendler SJ. Transgenic MUC1 interacts with epidermal growth factor receptor and correlates with mitogen-activated protein kinase activation in the mouse mammary gland. **J Biol Chem** 2001; 276:13057-64.

Shimoyama Ye Hirohashi S. Expression of E- and P-cadherin in gastric carcinomas. **Cancer Res** 1991; 51:2185-92.

Silva E, Teixeira A, David L, Carneiro F, Reis CA, Sobrinho-Simoes J et al. Mucins as key molecules for the classification of intestinal metaplasia of the stomach. **Virchows Arch** 2002; 440:311-7.

Simon Re Sauter G. Tissue microarrays for miniaturized high-throughput molecular profiling of tumors. **Exp Hematol** 2002; 30:1365-72.

Sobin LH, Wittekind CH. **TNM classificação dos tumores malignos**. 5ed. Trad. de INCA. Rio de Janeiro: INCA; 1998. Estômago; p.64-7.

Sternberg LR, Byrd JC, Yunker CK, Dudas S, Hoon VK, Bresalier RS. Liver colonization by human colon cancer cells is reduced by antisense inhibition of MUC2 mucin synthesis. **Gastroenterology** 1999; 116:363-71.

Suriano G, Oliveira C, Ferreira P, Machado JC, Bordin MC, de Wever O et al. Identification of CDH1 germline missense mutations associated with functional inactivation of the E-cadherin protein in young gastric cancer probands. **Hum Mol Genet** 2003; 12:575-82.

Suwa T, Hinoda Y, Makiguchi Y, Takahashi T, Itoh F, Adachi M et al. Increased invasiveness of MUC1 and cDNA-transfected human gastric cancer MKN74 cells. **Int J Cancer** 1998; 76:377-82.

Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. **Science** 1991; 251:1451-5.

Tanaka M, Kitajima Y, Edakuni G, Sato S, Miyazaki K. Abnormal expression of E-cadherin and beta-catenin may be a molecular marker of submucosal invasion and lymph node metastasis in early gastric cancer. **Br J Surg** 2002; 89:236-44.

Tanaka M, Kitajima Y, Sato S, Miyazaki K. Combined evaluation of mucin antigen and E-cadherin expression may help select patients with gastric cancer suitable for minimally invasive therapy. **Br J Surg** 2003; 90:95-101.

Tetsu Oe McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. **Nature** 1999; 398:422-6.

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

Utsunomiya T, Yonezawa S, Sakamoto H, Kitamura H, Hokita S, Aiko T et al. Expression of MUC1 and MUC2 mucins in gastric carcinomas: its relationship with the prognosis of the patients. **Clin Cancer Res** 1998; 4:2605-14.

Wang RQe Fang DC. Alterations of MUC1 and MUC3 expression in gastric carcinoma: relevance to patient clinicopathological features. **J Clin Pathol** 2003; 56:378-84.

Werner M, Becker KF, Keller G, Hofler H. Gastric adenocarcinoma: pathomorphology and molecular pathology. **J Cancer Res Clin Oncol** 2001; 127:207-16.

Yamamoto M, Bharti A, Li Y, Kufe D. Interaction of the DF3/MUC1 breast carcinoma-associated antigen and beta-catenin in cell adhesion. **J Biol Chem** 1997; 272:12492-4.

Zhang HK, Zhang QM, Zhao TH, Li YY, Yi YF. Expression of mucins and E-cadherin in gastric carcinoma and their clinical significance. **World J Gastroenterol** 2004; 10:3044-7.

Zhou YN, Xu CP, Han B, Li M, Qiao L, Fang DC et al. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival. **World J Gastroenterol** 2002; 8:987-93.

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina
1	241909 A	A	M	69	Antro (PC)	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/10	jan/88	dez/88	11	29/12/88	MPD	bem	intestinal	2	4	0	0	0	0	1
2	242047 A	A	M	27	Antro (PC)	3,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	6/27	jan/88	fev/99	135		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
3	242448 A	A	M	80	Antro	11,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/45	fev/88	out/89	20	28/10/89	MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	1	0	1
4	244275 A	A	F	77	Corpo (PC)	5,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/7	mar/88	abr/88	0	05/04/88	MPD	bem	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
5	253875 A1	A	F	73	Antro	10,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	5/20	jan/89	fev/91	25	??/??/93	VCD	moderado	intestinal	2	2	1	1	1	0	1
6	253154 A	A	M	68	Antro (PC/GC)	3,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/15	dez/88	ago/89	8	19/08/89	MOC	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
7	252869 A	A	M	64	Antro(PC/GC)/Corpo	10,0	serosa	T3N1Mx		T3	N1	4/8	dez/88	jul/89	8	11/08/89	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	1
8	250804 A	A	M	76	Antro (PC/GC)	7,0	serosa	T4N1Mx		T4	N1	2/10	out/88	jul/89	10		MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
9	250695 A	A	M	57	Antro (GC)	4,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/9	out/88	dez/89	14	15/06/90	MPD	bem	intestinal	2	4	1	0	0	0	1
10	254122 A1	A	M	58	Antro/Corpo	11,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/6	jan/89	abr/89	2		MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	2
11	254447 A	A	M	78	(GC)	8,5	serosa	T3N1Mx		T3	N1	1/6	jan/89	jul/89	6	21/07/89	MPD	bem	intestinal	0	3	0	0	0	0	2
12	254802 A	A	M	67	Pré-pilórica	3,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/7	fev/89	mai/00	137		VSD	bem	intestinal	0	2	0	0	0	0	1
13	255369 B	A	M	66	Cárdia(PC)	5,0	serosa	T3N1Mx		T3	N1	2/11	mar/89	abr/89	2	18/04/89	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
14	256111 A1	A	M	67	Colo	4,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/8	mar/89	dez/90	21	31/03/91	MPD	bem	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
15	266350 F	A	F	63	Fundo (PP)esôfago	6,0	serosa	T3N1Mx		T3	N1	2/8	fev/90	fev/91	12	12/04/91	MPD	moderado	intestinal	1	1	1	0	0	0	1
16	265743 A	A	M	36	Antro (PC)	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/11	jan/90	jan/90	0		MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	1
17	265111 A1	A	M	47	Corpo	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/27	dez/89	ago/93	45		MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	1
18	264529 F	A	F	69	Antro/Corpo (PC)	6,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	6/32	dez/89	dez/93	49	04/12/93	MPD	moderado	intestinal	1	1	0	0	0	0	0
19	267079 A	A	M	56	Antro	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/10	fev/90	fev/90	0		MPD	moderado	intestinal	0	4	0	0	0	0	2
20	267501 A	A	M	59	Cárdia (PC)	5,0	serosa	T3N1Mx		T3	N1	3/7	mar/90	fev/91	12	23/02/91	MPD	moderado	intestinal	2	2	0	0	0	0	1
21	268091 A	A	M	60	Antro	8,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/4	mar/90	jun/98	100	24/06/98	MPD	bem	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
22	268326 A1	A	F	75	Antro (GC)	?	serosa	T3N1Mx		T3	N1	1/13	abr/90	ago/90	4		MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	1	0
23	270117 A	A	M	53	Antro (PC)	6,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/6	mai/90	jul/93	38	09/07/93	MPD	bem	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
24	244864 A2	A	M	58	Cárdia (GC)	7,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/2	abr/88	mai/88	0	07/12/88	MPD	bem	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
25	245096 A	A	F	33	Parede post corpo	3,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/33	abr/88	jul/96	101		VSD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	1
26	245336 A	A	M	73	Antro (PC)	2,5	muscular	T2N1M1	IV	T2	N1	2/12	mai/88	ago/95	89	25/08/95	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
27	246090 A	A	M	56	Antro (PC/GC)	7,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N0	0/15	mai/88	nov/90	31	28/11/90	MPD	bem	intestinal	2	4	1	0	0	0	2
28	249774 A	A	M	57	Antro (PC/GC)	3,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	4/9	set/88	nov/88	2	06/11/88	MOC	bem	intestinal	2	4	1	0	0	0	1
29	249581 A	A	M	69	Antro(PC/GC)	4,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/19	set/88	dez/02	174		VSD	bem	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
30	249181 A	A	M	57	Antro (PC/GC)	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/7	ago/88	out/88	2		VSD	bem	intestinal	2	3	0	0	0	0	1
31	247979 A	A	M	59	Corpo (PC/GC)	8,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/14	jul/88	out/88	3	12/10/88	MPD	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
32	256554 A1	A	F	68	Antro/Corpo(PC)	3,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	2/18	abr/89	mai/99	123	22/05/99	MOC	moderado	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
33	258792 A1	A	M	56	Antro (PC)	4,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/2	jun/89	jan/03	165		MOC	bem	intestinal	NA	1	0	0	0	0	1
34	259121 C	A	F	75	Antro (PC)	5,6	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/17	jun/89	jul/89	1	09/07/89	MOC	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
35	264372 B	A	F	61	Cárdia (PC)	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/9	nov/89	mar/91	16	30/04/91	MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	0
36	263336 A1	A	M	72	Corpo(PC)/Cárdia	6,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	5/7	out/89	dez/92	38	16/01/93	MPD	bem	intestinal	0	4	0	0	0	0	2
37	262369 A1	A	F	47	Antro (PC)	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/20	set/89	ago/93	47	02/08/93	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
38	261739 I	A	F	74	Antro (PC)	3,5	serosa	T3N1Mx		T3	N1	5/31	set/89	set/89	0	07/09/89	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
39	271338 A	A	M	48	Cárdia	3,0	serosa	T3N1Mx		T3	N1	1/3	jun/90	jul/90	0		MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
40	271575 A2	A	M	69	Corpo (GC)	10,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/16	jul/90	ago/92	26	28/08/92	MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
41	273924 A2	A	M	55	Antro/corpo	7,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/8	set/90	fev/03	152		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
42	274262 A1	A	M	67	Antro	4,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/19	set/90	nov/01	137		VSD	bem	intestinal	1	2	1	0	0	0	2
43	277756 A	A	M	78	Antro (PC)	2,4	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/5	dez/90	out/91	10		MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
44	277636 A1	A	F	63	Antro (PC)	4,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/8	dez/90	jul/91	7		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
45	276742 A	A	F	43	Antro	5,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	2/8	nov/90	jan/03	148		VSD	moderado	difuso	0	3	x	0	1	0	1
46	276489 A	A	F	71	Antro (GC)	4,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/16	nov/90	nov/90	0		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
47	277996 A	A	M	48	Antro (PC)	6,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	1/17	dez/90	jul/01	129	14/08/01	MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	0	x	0	1
48	278108 A	A	M	49	Antro	3,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	1/20	jan/91	jun/03	152		VSD	pouco	difuso	1	1	x	0	0	0	1
49	278215 A	A	M	76	Antro	5,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	1/6	jan/91	mai/03	151		VSD	bem	intestinal	1	4	1	0	1	0	2
50	278761 A1	A	M	78	Antro-Piloro (PC)	2,2	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/13	jan/91	mar/91	1		MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
51	289853 A	A	M	54	Antro	8,0	tec.adiposo	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/11	ago/92	nov/92	3	23/11/92	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
52	287575 A	A	M	62	Cárdia	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/16	nov/91	ago/97	69		MPD	moderado	intestinal	0	1	1	0	0	0	1
53	286887 A1	A	M	64	Antro	6,0	tec.adiposo	T3N1M1	IV	T3	N1	3/12	out/91	out/93	23	02/10/93	MPD	bem	intestinal	1	3	1	0	0	0	2
54	286016 A	A	F	74	Antro	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/28	out/91	fev/03	138		VSD	moderado	intestinal	0	4	1	0	0	0	2
55	290112 A	A	M	54	fundo(?)	8,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	3/14	fev/92	nov/92	9		MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
56	290554 A	A	M	60	Corpo (PC)	2,0	tec.adiposo	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/24	mar/92	mai/93	14		MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	0
57	291308 A	A	M	70	Antro	?	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/15	abr/92	jun/92	2	09/06/92	MOC	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina
58	291946 A	A	F	48	Antro (PC)	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/15	mai/92	mai/92	1	25/05/92	MOC	moderado	intestinal	1	2	0	0	1	0	2
59	292436 O	A	M	63	Antro/Corpo	8,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	3/8	mai/92	jul/01	111		VSD	pouco	intestinal	1	4	x	0	0	0	2
60	300322 A	A	F	46	Antro (PC)	5,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/21	mar/93	mar/93	0		MPD	pouco	difuso	0	1	x	0	0	0	1
61	298576 A1	A	F	65	Antro	10,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/24	jan/93	jan/02	110	12/01/02	MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
62	298435 A	A	F	79	Antro	13,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/36	dez/92	jul/96	44		MPD	pouco	intestinal	1	4	0	1	0	0	2
63	298316 A	A	F	79	Antro/Corpo (PC)	4,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/2	dez/92	nov/97	60	19/11/97	MOC	bem	intestinal	1	4	1	0	0	0	2
64	298143 A	A	F	84	Antro	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/14	dez/92	dez/92	0		MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
65	275450 A	A	F	48	Antro	7,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/2	out/90	abr/92	18	13/04/92	MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2
66	275359 A1	A	F	75	Antro	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/12	out/90	ago/94	47		SI	moderado	intestinal	1	2	1	0	0	0	1
67	275219 A3	A	F	64	Cárdia	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N2	14/66	out/90	fev/91	4		MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
68	275218 A2	A	M	55	Antro	12,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/32	out/90	fev/92	16	14/02/92	MOC	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
69	274653 A2	A	M	64	Cárdia	8,5	serosa	T3N1Mx		T3	N1	2/20	set/90	mar/92	18		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
70	279862 A	A	M	65	Antro (PC)	5,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/4	mar/91	dez/91	9	07/12/91	MPD	moderado	intestinal	1	4	1	0	0	0	1
71	279968 A	A	M	52	Cárdia	2,5	mucosa	T1N1Mx		T1	N1	2/10	mar/91	out/96	68		MPD	moderado	intestinal	2	1	x	0	0	0	2
72	279969 A	A	M	56	Corpo	4,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/7	mar/91	fev/96	60		MPD	bem	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
73	281845 A	A	M	82	Antro	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/16	mai/91	dez/92	19	07/12/92	MPD	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
74	285131 A	A	F	59	Antro (PC)	3,0	tec.adiposo	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/24	set/91	mar/96	56		MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	1
75	285108 A	A	M	40	Cárdia/Corpo	4,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/17	set/91	out/91	1	07/10/91	MPD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
76	283414 A	A	F	46	Antro (PC)	4,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/9	jul/91	ago/02	135		VSD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
77	294147 A	A	M	46	Antro/Corpo (PC)	4,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/81	jul/92	abr/02	119		VSD	pouco	difuso	1	NA	x	0	x	x	1
78	295591 A	A	M	73	Antro/Corpo (PC)	4,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	7/18	set/92	mai/01	105		MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	1	0	1
79	295907 A	A	M	65	Corpo/Antro (PC)	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/16	set/92	jan/99	77	16/01/99	MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	2
80	297575 A	A	F	76	Corpo	4,5	serosa	T3N1Mx		T3	N1	4/48	nov/92	dez/92	0	06/12/92	MPD	moderado	intestinal	0	4	0	0	0	0	2
81	297157 A	A	M	70	Corpo	3,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/64	nov/92	jun/93	8		MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
82	297021 A	A	M	54	Antro/Corpo(PC)	3,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/11	nov/92	mar/02	114		VSD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	2
83	296233 D	A	F	71	Antro	4,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/19	out/92	dez/02	124		VSD	bem	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
84	300484 A1	A	M	70	Antro/Corpo	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/41	mar/93	mai/94	15	26/05/94	MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
85	301817 A	A	M	77	Corpo/Cárdia	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/31	abr/93	nov/94	19	22/11/94	MPD	moderado	intestinal	2	3	1	0	0	0	2
86	303682 A	A	F	63	Antro/Corpo	7,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/5	jun/93	jul/95	24	02/07/95	MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	2
87	304816 A	A	F	80	Antro/Corpo	6,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N2	8/9	ago/93	fev/95	19	28/02/95	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
88	311143 A2	A	F	79	Antro/Corpo	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N3	16/26	abr/94	out/95	18	02/10/95	MPD	moderado	intestinal	1	2	1	0	0	0	2
89	310629 A	A	M	76	Antro/Corpo	?	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/12	mar/94	ago/95	17	01/08/95	MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	1	0	2
90	310397 A2	A	F	61	Antro	5,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/17	mar/94	dez/96	34	30/12/96	MPD	moderado	intestinal	0	2	0	0	0	0	1
91	310274 A	A	M	59	Corpo (PC)	3,0	serosa	T3NxM0		T3	N1	4/21	mar/94	jun/99	64	12/06/99	MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	0	x	x	x
92	311665 A	A	M	60	Antro	5,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N1	2/3	abr/94	abr/96	24	08/04/96	MPD	moderado	intestinal	1	2	0	0	0	0	2
93	312479 A	A	M	35	Antro	14,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/11	mai/94	fev/95	9	05/02/95	MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	x	0	x	x
94	312653 A	A	M	70	Antro	5,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/7	mai/94	dez/95	19		MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
95	319592 A	A	M	64	Antro/Corpo	11,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/3	jan/95	fev/96	13	16/02/96	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	1	0	2
96	319199 A	A	M	38	Antro/Corpo	13,0	tec.adiposo adj.	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/20	abr/95	abr/95	0	06/04/95	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
97	318156 A2	A	M	48	Antro (PC/GC)	8,0	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	5/48	nov/94	set/01	83		MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
98	317362 A	A	M	63	Antro/Corpo	10,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/11	out/94	jul/98	45		VSD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	2
99	321985 A	A	M	76	Antro/Corpo (PC/GC)	7,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	1/18	mar/95	jun/99	52		VSD	pouco	intestinal	0	4	1	0	0	0	1
100	323017 A2	A	M	60	Antro/Corpo (PC/GC)	8,0	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N1	2/43	mai/95	mar/02	84		MPD	pouco	difuso	NA	1	0	0	0	0	1
101	324096 A	A	M	26	PC (ant/post)	10,0	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N1	4/14	mai/95	dez/00	68		MPD	pouco	difuso	1	1	0	0	0	0	1
102	324412 A2	A	M	78	Antro	11,5	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	5/43	jun/95	jul/03	99		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
103	305011 A	A	F	63	Antro/Corpo	10,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/12	ago/93	jun/94	10	13/06/94	MPD	bem	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
104	306697 A	A	M	54	Antro/Corpo	7,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/7	out/93	ago/97	47	22/08/97	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	2
105	307027 A1	A	M	61	Antro	1,5	mucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	4/47	nov/93	jun/95	20	17/06/95	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
106	310163 A	A	M	67	Antro/Corpo	5,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	6/22	mar/94	set/95	18	09/95	MPD	pouco	difuso	NA	NA	0	0	0	0	x
107	309933 A	A	F	75	Antro	5,5	tec.adiposo adj.	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/41	mar/94	set/94	7	26/09/94	MPD	moderado	intestinal	1	4	1	0	1	0	2
108	308209 A	A	M	72	Antro/Corpo	8,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/9	dez/93	jan/94	0		SI	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
109	307420 A	A	M	68	Antro/Corpo	8,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/7	nov/93	mar/03	113		VSD	moderado	intestinal	0	4	0	0	0	0	1
110	313339 A	A	F	73	Antro	4,2	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/9	jun/94	jul/99	62	16/07/99	MPD	moderado	intestinal	NA	NA	1	0	x	x	x
111	314087 A	A	M	72	Fundo	10,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/62	mai/94	jul/95	14	09/08/95	MPD	moderado	intestinal	1	4	1	0	0	0	2
112	314407 A	A	F	57	Antro	4,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/27	jul/94	out/96	28	29/10/96	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	2
113	315081 A	A	M	74	Corpo/Fundo	16,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	6/23	ago/94	set/94	1	26/11/94	MPD	moderado	intestinal	0	3	0	0	0	0	1
114	316734 A	A	M	64	Antro	6,0	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	3/6	out/94	set/97	36	10/09/97	MPD	pouco	intestinal	NA	NA	0	0	0	0	x

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina
115	316308 A	A	F	69	Antro/Corpo	?	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	3/13	set/94	abr/95	7	12/04/95	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
116	316185 A	A	F	61	Antro/Corpo	8,0	tec.adiposo adj.	T3N1M1	IV	T3	N1	4/21	set/94	jul/97	34	31/07/97	MPD	bem	intestinal	1	4	1	0	1	0	2
117	324768 A	A / C	F	81	Antro/Corpo	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/20	jun/95	mai/96	11		MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
118	324876 A	A	F	52	Antro (PC/GC)	9,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N1	4/22	jun/95	fev/96	8	15/02/96	MPD	pouco	intestinal	2	1	0	0	0	0	2
119	325830 A1	A	F	71	Antro/Corpo	13,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	1/24	jul/95	jun/03	96		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
120	326620 A	A	F	62	Cárdia	7,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/33	ago/95	abr/97	21	21/04/97	MPD	pouco	intestinal	2	1	0	0	0	0	2
121	337265 A	A	M	81	Corpo	7,6	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/59	jul/96	jul/00	49		VSD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
122	335167 A	A	M	75	Antro/Corpo (PC/GC)	5,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/58	mai/96	dez/97	20	22/12/97	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
123	334453 A	A	M	70	Corpo	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/32	abr/96	ago/03	89		VSD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
124	333357 A	A	F	65	Antro/Corpo (PC)	10,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	1/38	mar/96	ago/03	91		VSD	bem	intestinal	1	3	x	0	0	0	2
125	330164 A	A	F	56	Cárdia/Esôfago	3,6	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	5/20	nov/95	set/98	34		MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
126	339230 A	A	M	72	Antro	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/31	out/96	abr/03	80		VSD	moderado	intestinal	1	1	0	0	0	0	2
127	341068 A	A / C	F	77	Antro	12,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/35	dez/96	jan/98	13	20/01/98	MPD	pouco	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
128	B97-1688 A	A	F	38	Corpo/Cárdia	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	4/24	abr/97	jan/00	34		MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	1	0	1
129	B97-5265 A	A	F	47	Antro/Corpo (PC/GC)	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/25	ago/97	abr/98	8	22/04/98	MPD	pouco	intestinal	1	3	1	0	0	0	2
130	B98-6881 A	A	M	69	esôfago / antro	8,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	2/9	16/09/98	mai/01	33	09/05/01	MPD	moderado	intestinal	1	1	0	0	0	0	2
131	329736 A	A	M	50	Antro (PC)	2,7	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	3/8	nov/95	jun/03	93		VSD	moderado	intestinal	NA	NA	x	0	x	x	x
132	329246 A2	A	F	36	Corpo/Antro (PC)	10,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/23	out/95	fev/03	89		MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	1
133	329244 A	A	M	26	Antro (PC/GC)	6,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/16	out/95	mai/00	55	05/05/00	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	1	0	1
134	327400 A	A	F	64	transição esôfago/gastrica	6,8	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/29	ago/95	mai/03	94		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
135	B97-5408 A	A	M	56	Antro-Piloro (PC)	9,5	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	4/16	ago/97	nov/99	27	04/11/99	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
136	B97-7896 A	A	F	37	Antro/Corpo	7,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	2/14	nov/97	jul/98	8	21/07/98	MPD	pouco	difuso	1	4	0	1	1	0	2
137	B97-8528 A	A	M	50	Corpo	6,3	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	5/10	dez/97	nov/98	11	16/11/98	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
138	B98-2243 A	A	M	73	Corpo	6,5	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	3/15	abr/98	jul/98	4		MPD	moderado	intestinal	0	1	1	0	0	0	1
139	B98-5163 A	A	M	38	Cárdia	9,5	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	2/30	jul/98	jan/03	54	06/01/03	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	1	2
140	B98-5104 A	A	M	76	Cárdia	4,0	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	1/11	jul/98	set/03	62		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
141	B98-4631 A	A	F	72	Cárdia/Corpo	4,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N1	4/19	jul/98	ago/03	62		VCD	moderado	intestinal	0	4	0	1	0	0	2
142	B98-4051 A	A	M	63	Antro-Piloro (PC)	8,5	tec.adiposo	T3N1M0	IIIA	T3	N3	18/25	jun/98	dez/99	19	09/12/99	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2
143	B98-2959 B	A	M	72	Cárdia(1)/Antro(2)	2,5	tec.adiposo adj.	T3N1Mx	T3	N3		31/35	mai/98	mai/03	61		MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	x	0	1
144	242919 A	B	M	69	Antro	2,6	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/17	fev/88	mai/99	137	25/05/99	MOC	bem	intestinal	1	3	0	0	0	0	1
145	244009 A	B	F	59	Antro (PC)	3,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/39	mar/88	abr/00	147	06/04/00	MOC	moderado	intestinal	1	4	1	0	0	0	1
146	245335 A	B	F	70	Antro (PC/GC)	5,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0		mai/88	ago/96	101		MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	1
147	245941 A	B	F	66	Antro	2,5	submucosa	T1N0M0	IA	T1	N0		mai/88	ago/94	76		MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
148	260765 A	B	M	51	Cárdia (PC)	5,0	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/40	ago/89	dez/89	5	29/12/89	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	1	1	0	2
149	260572 A	B	M	62	Corpo/Cárdia	8,0	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/21	ago/89	nov/89	3		MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	1
150	259991 A	B	F	63	Corpo(PC)/Cárdia	12,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/19	jul/89	nov/90	16	22/11/90	MPD	pouco	intestinal	NA	NA	x	x	0	x	0
151	259860 A	B	M	41	Antro/Corpo(PC)	8,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/19	jul/89	jul/89	0		MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
152	258945 A2	B	F	53	Antro	1,2	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/13	jun/89	abr/02	157		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
153	263229 A	B	F	69	Corpo (PC)	5,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/25	out/89	abr/90	6		MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	1
154	264261 C	B	M	81	Antro/Cárdia	15,0	serosa	T4N0M1	IV	T4	N0	0/10	nov/89	abr/90	4		MPD	pouco	difuso	1	4	x	0	0	0	1
155	265244 A	B	M	70	Antro/Corpo	7,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/15	dez/89	mai/02	151		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	1
156	265507 A	B	M	72	Cárdia	5,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/51	jan/90	jan/90	0		MPD	pouco	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
157	266502 A	B	F	58	Cárdia	5,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/16	fev/90	mar/93	38		MPD	moderado	intestinal	2	1	0	0	1	0	1
158	294369 A	B	M	58	Antro	2,5	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0		jul/92	nov/02	125		VSD	moderado	intestinal	0	3	0	0	0	0	1
159	293567 A	B	F	67	Antro (GC)	1,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/15	jul/92	abr/00	95	10/01/01	MOC	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	0
160	291619 A	B	M	80	Cárdia (PC)	2,2	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/24	abr/92	abr/02	122		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
161	291004 A	B	F	59	Antro/Corpo	7,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/10	mar/92	ago/93	17	24/08/93	MPD	pouco	difuso	1	1	0	0	1	0	1
162	290865 A	B	M	78	Antro (PC)	?	tec.adiposo	T3N0M0	II	T3	N0	0/40	mar/92	ago/01	114	11/08/01	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	1	0	0	2
163	297420 A	B	M	66	Corpo/Cárdia	?	tec.adiposo adj.	T3N0M0	II	T3	N0		nov/92	ago/93	9	24/09/93	MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
164	299207 A	B	F	37	Antro (PC)	2,5	submucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/8	jan/93	set/94	20		VSD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
165	299902 A	B	M	56	Piloro	2,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	fev/93	jun/93	4	21/06/93	MOC	moderado	intestinal	0	NA	1	0	0	0	x
166	300679 A	B	M	47	Corpo/Cárdia	5,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mar/93	mar/93	0		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
167	300912 A	B	F	69	Antro	6,8	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mar/93	nov/01	105		VCD	pouco	difuso	1	3	x	x	x	x	1
168	248575 A	B	F	66	Antro (PC/GC)	6,5	muscular	T2N0M1	IV	T2	N0	0/32	ago/88	set/93	62	13/09/93	MPD	pouco	intestinal	2	4	1	0	0	0	1
169	250421 A	B	M	49	Cárdia(GC)/Corpo(PC)	?	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/6	set/88	dez/91	39	21/12/91	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
170	252907 A	B	M	57	Antro (PC/GC)	12,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/17	dez/88	dez/88	0		MPD	pouco	intestinal	1	2	x	x	x	x	1
171	253007 A	B	F	68	Corpo (PC/GC)	8,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/13	dez/88	out/99	132	09/10/99	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina
172	253212 A1	B	F	52	Corpo	3,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0	dez/88	mar/93	52		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
173	258133 A	B	F	71	Antro	6,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0	jun/89	set/02	161		VSD	pouco	difuso	2	4	0	0	1	0	1
174	253783 B	B	M	51	Antro	2,0	submucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/14	jan/89	dez/90	24		SI	pouco	intestinal	1	4	0	0	1	0	2
175	269025 A	B	M	64	pré-pilórica (PC)	7,0	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/28	abr/90	mai/95	62	15/06/96	MPD	moderado	intestinal	1	3	1	0	0	0	2
176	269225 A	B	F	71	Antro	2,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mai/90	jun/97	87		MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
177	273772 A	B	F	75	Antro (PC/GC)	5,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/14	ago/90	fev/03	151		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
178	274519 A	B	M	65	Antro (PC)	3,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/28	set/90	jul/96	71		SI	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	1
179	276931 A	B	M	60	Antro (PC)	3,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/10	nov/90	dez/02	147	14/12/02	VSD	pouco	difuso	1	4	0	1	0	0	2
180	289750 A	B	F	68	Antro	5,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/16	abr/92	nov/96	56	16/12/96	MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
181	288026 A	B	F	78	Antro	7,5	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/12	dez/91	ago/99	93	08/08/99	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
182	282239 A	B	M	68	Antro/Corpo	3,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/15	jun/91	fev/03	142		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	1
183	302025 P	B	M	74	Cárdia	6,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mai/93	mai/93	0	30/04/94	MPD	bem	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
184	302681 A	B	F	53	Cárdia	4,0	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0	abr/93	mar/98	60	24/03/98	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
185	304268 A	B	F	72	Antro/Corpo	7,2	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0	jul/93	abr/94	9	02/04/94	MOC	pouco	difuso	1	1	0	0	1	0	2
186	304715 A	B	F	67	Corpo	5,0	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0	ago/93	set/94	14	23/09/94	MPD	pouco	difuso	1	4	0	1	0	0	2
187	312530 A	B	F	76	PC	1,0	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/20	mai/94	jun/97	37		MOC	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
188	312282 A	B	F	69	Antro/Corpo	11,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/54	mai/94	set/99	65		SI	moderado	intestinal	0	4	0	0	1	0	2
189	312129 A	B	M	56	Antro/Corpo	6,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mai/94	set/97	41		SI	bem	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
190	311899 A	B	F	43	Corpo	3,5	submucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0	mai/94	dez/02	105		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
191	311140 A	B	M	58	Antro	4,0	serosa	T3N1M0	II	T3	N1	2/16	abr/94	jan/00	71		VSD	moderado	intestinal	1	4	1	1	0	0	1
192	312699 A	B	M	70	Corpo	6,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mai/94	mar/99	58	19/03/99	MPD	bem	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
193	313481 A	B	M	62	Corpo	3,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0	jun/94	jul/94	1		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
194	314110 A1	B	M	54	Antro/Corpo	6,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	jul/94	mar/02	93	08/03/02	MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
195	317898 A	B	M	72	Corpo	5,0	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0	nov/94	abr/00	66	28/04/00	MOC	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
196	332944 A	B	F	51	Antro (PC)	12,0	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/11	mar/96	mar/02	73	06/03/02	MPD	moderado	intestinal	NA	NA	x	0	x	0	1
197	332706 A	B	M	53	Antro	5,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/29	fev/96	jun/00	54		VSD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
198	334268 A	B	M	60	Corpo	4,1	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/37	abr/96	jun/03	88		VSD	moderado	intestinal	1	4	0	1	0	0	1
199	335350 T	B	F	64	Antro/Corpo (PC/GC)	10,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/41	mai/96	abr/02	72		VSD	pouco	difuso	0	3	0	1	1	0	2
200	336489 A	B	F	63	Antro (PC)	3,2	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/23	jun/96	mai/97	11	14/05/97	MPD	moderado	intestinal	2	2	0	0	1	0	2
201	337593 A	B	M	55	Antro (PC)	3,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/24	jul/96	fev/98	19		VSD	moderado	difuso	0	1	1	0	0	0	0
202	B98-1950 A	B	M	62	Corpo/Antro (PC/GC)	14,5	serosa	T4N0M0	IIIA	T4	N0	0/42	mar/98	jun/03	63		VSD	pouco	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
203	B98-1563 A	B	M	73	Cárdia	6,0	subserosa esof	T2N0M1	IV	T2	N0	0/74	mar/98	mai/03	63		VSD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
204	B97-8460 A	B	F	74	Corpo/Antro	11,5	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/16	dez/97	mai/01	42		VSD	moderado	intestinal	2	4	1	1	1	1	2
205	B97-7715 A	B	F	74	Corpo/Antro/Piloro	9,0	subserosa	T2N0M0	IB	T2	N0	0/21	nov/97	fev/03	64		VSD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2
206	310856 A	B	M	62	Antro	3,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	mar/94	dez/00	82		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
207	306132 A	B	F	46	Antro	4,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0	out/93	fev/03	114		VSD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	1
208	305013 A	B	M	44	Corpo	2,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	ago/93	dez/02	113		VSD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	0
209	318110 A	B	M	52	Antro	5,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0	nov/94	mai/00	67		VSD	pouco	difuso	2	4	1	0	0	0	2
210	318376 A	B	F	80	Antro	9,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	dez/94	out/02	96		VSD	pouco	difuso	2	4	0	0	0	0	2
211	319797 A	B	F	71	Antro/Corpo	8,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	jan/95	fev/95	1		SI	pouco	difuso	0	4	0	0	1	0	2
212	319833 A	B	M	64	Antro/Corpo	9,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0	jan/95	ago/01	80		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
213	321508 A	B	F	54	Antro/Corpo	8,3	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/56	jun/95	ago/97	27	25/09/97	MPD	moderado	intestinal	0	4	1	0	1	0	2
214	330920 A	B	M	54	Cárdia	4,0	subserosa	T2N0M0	IB	T2	N0	0/30	dez/95	mar/99	40	24/03/99	MPD	moderado	intestinal	1	1	0	0	0	0	2
215	328376 A	B	F	77	Antro (PC)	4,5	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/26	set/95	set/02	85		VSD	moderado	intestinal	NA	NA	x	x	x	x	2
216	338156 A	B	M	64	Antro (GC)	3,4	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/20	ago/96	jun/03	83		VSD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
217	338541 A	B	M	68	Antro	10,0	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0/25	set/96	out/97	14	26/10/97	MPD	moderado	difuso	1	3	0	0	0	0	2
218	339759 A	B	F	32	Corpo	5,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/28	out/96	nov/96	1		MPD	moderado	difuso	1	3	0	1	0	0	2
219	340592 A	B	F	44	Cardíar/Fundo/Corpo	9,5	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/26	dez/96	mar/00	40	15/03/00	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
220	B97-2882 A	B	M	31	Antro	5,0	subserosa	T2N0M0	IB	T2	N0	0/28	mai/97	abr/02	60		VSD	moderado	intestinal	0	3	0	0	0	0	1
221	B97-7638 A	B	F	63	Antro (GC)	5,4	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/25	nov/97	jul/98	8		SI	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
222	B97-7523 A	B	M	75	Antro-Piloro (PC)	4,0	muscular	T2N0M1	IV	T2	N0	0/22	nov/97	dez/01	50		VCD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2
223	B97-4921 A	B	M	66	Antro-Piloro (PC)	7,2	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/15	ago/97	mai/01	46		VSD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
224	B97-3710 A	B	M	69	Antro/Corpo	12,5	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/11	jun/97	mar/03	70		VSD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2
225	B97-3114 A	B	M	38	Antro/Corpo	5,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/18	mai/97	fev/02	58		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	1	0	2
226	B98-3674 A	B	M	50	Antro/Corpo (PC)	5,2	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/21	mai/98	dez/01	44		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
227	B98-4354 A	B	F	33	Antro	2,5	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/17	ago/98	out/01	38		VSD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	0
228	B98-4747 A	B	M	60	Cárdia	3,2	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/15	jul/98	ago/03	61		VSD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina
229	275563 A	B	M	68	Antro	9,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/15	out/90	jul/00	118		VSD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	2
230	209905 A	C	F	49	Pré-pilórica (PC)	12,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	11/18	abr/85	nov/92	92		MPD	moderado	difuso	0	1	0	0	0	0	1
231	241983 O	C	M	50	Fundo	8,5	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	9/13	jan/88	mai/89	16	15/05/89	MPD	pouco	difuso	2	4	0	0	1	0	2
232	242089 A	C	F	42	Antro (PC)	5,0	muscular	T2N2M1	IV	T2	N2	2/20	jan/88	fev/88	1	26/03/89	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	2
233	242155 A	C	F	59	Antro/Corpo	14,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	2/5	jan/88	jan/88	0	31/01/88	MPD	moderado	intestinal	0	4	0	1	1	0	2
234	242199 A	C	F	75	Fun/Corp/Antro	8,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	37/39	fev/88	set/89	20	27/09/89	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
235	243202 A	C	F	72	Antro	7,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	8/26	mar/88	abr/88	2		SI	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
236	243205 A	C	F	74	Antro/Corpo	10,0	muscular	T2N2M1	IV	T2	N2		mar/88	mar/89	13	06/04/89	MPD	bem	intestinal	1	4	0	1	0	0	2
237	243464 A	C	M	71	Antro	6,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	9/19	mar/88	abr/89	13	08/04/89	MPD	moderado	difuso	1	3	0	0	0	0	1
238	244378 A	C	M	67	Gde curvatura?	3,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N0	0/4	abr/88	jun/88	2	16/06/88	MPD	pouco	intestinal	0	3	0	0	0	0	2
239	245121 A	C	M	63	Cárdia (GC)	7,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	10/17	abr/88	jun/88	2	02/07/88	MPD	moderado	intestinal	1	3	1	0	0	0	2
240	247519 A	C	F	67	Antro/Corpo	4,5	muscular	T2N3Mx		T2	N3	17/21	jul/88	nov/89	16		MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
241	248532 A	C	F	55	Corpo (GC)	4,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	15/21	ago/88	ago/88	0		SI	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
242	250120 A	C	M	72	Antro	4,0	serosa	T3NxM1	IV	T3			set/88	mar/89	5		MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2
243	250636 A	C	M	68	Antro (PC/GC)	8,0	muscular	T2N3M0	IV	T2	N3	24/26	out/88	abr/89	7	13/12/94	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	1
244	251016 A	C	M	47	Corpo (GC)	2,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/5	out/88	ago/90	22		SI	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
245	252960 A	C	M	33	Piloro (GC)	3,0	serosa	T3N3M1	IV	T3	N3	7/8	dez/88	mai/90	18	19/03/89	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	2
246	253192 A	C	M	79	Antro (PC/GC)	4,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	8/12	dez/88	mai/89	5		MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	1
247	253326 A	C	M	79	Corpo / Cárdia	2,0	mucosa	T1NxMx		T1			dez/88	dez/89	12	29/12/89	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	1	1	0	2
248	253538 A	C	M	63	Antro(PC)	13,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	10/11	jan/89	out/89	9	18/10/89	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
249	254065 A	C	M	75	Corpo	3,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N1	4/40	jan/89	mar/00	136		VSD	moderado	intestinal	NA	NA	x	x	x	x	1
250	255615 A	C	M	48	Antro (GC)	5,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	7/24	mar/89	mar/94	61		SI	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1
251	256458 A	C	F	74	Antro (PC)	5,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	10/28	abr/89	fev/92	35	05/02/92	MOC	moderado	intestinal	NA	NA	x	x	x	x	x
252	257382 A	C	F	50	Corpo	5,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	15/37	mai/89	out/91	30	23/10/91	MPD	pouco	difuso	0	1	0	1	0	0	1
253	258399 A	C	M	66	Antro (GC)	4,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/15	jun/89	jul/90	14	20/07/90	MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
254	258555 A	C	M	79	pré-pilórica	2,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	12/17	jun/89	jul/89	2	29/10/89	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	1
255	258685 A	C	F	74	Antro (PC)	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	12/23	jun/89	mar/90	9		MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
256	258897 A	C	M	57	Corpo (GC)	4,5	serosa	T3N3Mx		T3	N3	20/23	jun/89	jul/89	1	03/09/90	MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
257	259049 A	C	M	49	Antro (GC)	4,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	13/27	jun/89	jan/91	19	16/01/91	MPD	pouco	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
258	259397 A	C	F	43	Antro/Corpo	8,5	serosa	T3N3Mx		T3	N3	19/19	jun/89	dez/89	6	19/12/89	MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1
259	261318 A	C	M	63	Cárdia (PC)	7,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	8/14	ago/89	ago/89	0	31/08/89	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	1	2
260	263800 A	C	M	64	Corpo/Antro (PC)	10,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/34	nov/89	nov/90	13		MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2
261	265598 A	C	M	68	Corpo (PC)	9,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	7/10	jan/90	fev/92	25		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2
262	266501 A	C	F	60	pré-pilórica (PC)	1,5	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N2	8/15	fev/90	jun/93	41	30/04/93	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
263	266777 A	C	F	39	Antro	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/22	fev/90	nov/92	34		SI	bem	intestinal	0	4	0	0	0	0	1
264	268606 A	C	F	58	Antro	2,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	13/20	abr/90	jul/96	76		MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	1
265	269679 A	C	F	45	Corpo (PC)	3,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	6/19	mai/90	mai/91	13	31/05/91	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	2
266	269741 A	C	F	52	Antro	10,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	13/16	mai/90	jan/93	32	12/01/93	MOC	pouco	difuso	0	3	1	0	0	0	1
267	270018 A	C	F	46	Antro	3,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	14/22	mai/90	mar/91	10	09/03/91	MPD	pouco	difuso	1	3	0	x	0	0	2
268	271193 A	C	M	76	Corpo	12,5	serosa	T3N3Mx		T3	N3	19/34	jun/90	jul/90	0	05/07/90	MPD	pouco	difuso	1	1	0	1	0	0	1
269	271244 A	C	M	41	Antro	8,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/15	jun/90	dez/92	30	01/12/92	MOC	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
270	271335 A	C	M	49	Antro,Corpo,Cárdia	10,0	serosa	T3N3Mx		T3	N3	22/29	jun/90	nov/90	5	24/11/90	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
271	272749 A	C	F	45	Antro	3,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	15/23	jul/90	jul/91	12		SI	moderado	intestinal	2	4	0	1	1	0	2
272	273692 A	C	M	79		2,5	serosa	T3NxMX		T3			ago/90	mai/92	21	29/05/92	MPD	bem	intestinal	2	3	1	0	0	0	2
273	273753 A	C	F	68	Antro (GC)	4,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	27/36	ago/90	fev/91	6	17/02/91	MPD	moderado	intestinal	2	2	0	0	0	0	2
274	275533 A	C	M	60	Antro (PC)	3,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/22	out/90	fev/93	28		MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2
275	276226 A	C	F	57	Antro	2,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	11/19	nov/90	abr/93	30		SI	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	2
276	277032 A	C	F	46	Centro (PC/GC)	3,5	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	11/27	nov/90	mai/91	6		MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	0	x	x	x
277	277166 A	C	M	68	Antro (PC)	5,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/16	dez/90	jan/91	1	15/01/91	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
278	278496 A	C	F	51	Antro (GC)	4,3	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	8/12	jan/90	ago/92	31	22/08/92	MPD	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2
279	280714 A	C	F	45	Antro	9,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/15	abr/91	mai/91	1		MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2
280	281104 A	C	F	44	Corpo/Cárdia	?	serosa	T3N3Mx		T3	N3	18/20	mai/91	set/91	5	16/09/91	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2
281	281995 A	C	M	76	Antro	4,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/7	jun/91	jun/91	1		MPD	moderado	intestinal	0	3	0	0	0	0	1
282	284619 A	C	M	74	Antro	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	12/14	ago/91	abr/93	20	07/05/93	MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	x	x	x	x
283	284620 A	C	M	64	Antro (toda circunf)	5,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	27/29	ago/91	out/92	14	04/10/92	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	1
284	285474 A	C	M	26	Antro	6,0	tec.adiposo adj.	T3N2M1	IV	T3	N2	8/18	set/91	jul/92	10	18/07/92	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1
285	286680 A	C	M	65	Antro	6,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/11	out/91	mai/93	19		SI	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	2

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina	
286	289576 A	C	F	74	Antro	2,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/12	fev/92	mai/92	3		MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	1	
287	289704 A	C	M	64	Antro	6,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	7/21	mai/92	jun/93	13	14/06/93	MPD	pouco	intestinal	1	4	0	1	0	0	1	
288	290214 A	C	M	67	Antro/Corpo	? (2)	serosa	T3N3M1	IV	T3	N3	19/19	mar/92	out/92	7	15/10/92	MPD	pouco	difuso	0	2	1	0	0	0	1	
289	291331 A	C	M	83	Antro/Corpo (PC)	7,5	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	22/29	abr/92	jul/92	3	14/07/92	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	1	0	2	
290	291870 A	C	F	72	Antro (PC/GC)	4,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/14	abr/92	jun/93	13	09/06/93	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2	
291	293997 H	C	F	57	(PC)	13,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	10/11	jul/92	ago/96	50	18/08/96	MPD	pouco	difuso	1	4	1	1	1	0	2	
292	294939 A	C	M	71	Antro/Corpo	9,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	17/44	ago/92	nov/93	15	14/11/93	MPD	moderado	intestinal	0	4	0	0	0	0	1	
293	295111 A	C	M	65	Antro (PC/GC)	11,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	16/24	ago/92	fev/93	6	08/02/93	MPD	pouco	difuso	1	2	1	0	1	0	2	
294	295911 A	C	M	62	Antro (PC/GC)	?	tec.adiposo adj.	T3N3M1	IV	T3	N3	28/44	set/92	dez/93	15	13/12/93	MPD	pouco	difuso	NA	NA	x	x	x	x	1	
295	297350 A	C	F	72	Antro/Corpo	9,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	15/20	nov/92	jan/93	2	06/01/93	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2	
296	297873 A	C	M	62	Antro	4,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	15/19	dez/92	abr/93	5	19/04/93	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	2	
297	298311 A	C	M	52	Antro/Corpo/Cárdia	14,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	14/22	dez/92	ago/94	20	16/08/94	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	1	
298	298963 A	C	F	63	Antro	4,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	11/17	jan/93	jan/94	12		MPD	moderado	difuso	1	1	0	0	0	0	2	
299	299437 A	C	F	73	Antro/Corpo	14,0	serosa	T3N3M1	IV	T3	N3	40/50	fev/93	mai/01	101		MPD	moderado	intestinal	1	1	0	0	1	0	2	
300	299671 A	C	M	70	Antro/Corpo/Cárdia	14,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	31/35	fev/93	mar/93	1	10/03/93	MPD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	1	
301	300172 A	C	M	52	Antro/Corpo	9,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	10/33	mar/93	out/94	20	19/10/94	MPD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2	
302	300908 A	C	F	45	Antro (PC)	3,0	serosa	T3N3M1	IV	T3	N3	43/68	mar/93	jun/98	64	24/06/98	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	1	0	2	
303	301326 A	C	M	74	Antro	7,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	35/45	abr/93	ago/93	4	14/08/93	MOC	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2	
304	301408 A	C	M	64	Fundo	8,0	serosa	T4N2M0	IV	T4	N2	13/19	abr/93	abr/93	1	28/04/93	MPD	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2	
305	302507 A	C	M	70	Antro/Corpo/Cárdia	17,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	46/50	mai/93	abr/94	11	23/04/94	MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2	
306	302547 A	C	F	44	Antro/Corpo	13,0	tec.adiposo adj.	T3N3M0	IV	T3	N3	38/49	mai/93	mai/93	0		SI	pouco	difuso	2	4	0	0	0	0	2	
307	303131 A	C	M	49	Corpo	7,0	tec.adiposo	T3N2M0	IIIB	T3	N2	12/40	jun/93	mar/94	9	18/03/94	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
308	303268 A	C	F	75	Antro	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/15	jun/93	ago/95	26	18/08/95	MPD	pouco	difuso	1	2	0	0	1	0	2	
309	305188 A	C	F	38	Antro	10,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	?	ago/93	out/93	2		SI	pouco	difuso	1	2	0	0	0	0	2	
310	306360 A	C	F	68	Antro	3,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/8	out/93	mai/95	20	31/05/95	MOC	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	2	
311	307020 A	C	M	52	Antro/Corpo	10,0	tec.adiposo adj.	T3N3M0	IV	T3	N3	20/30	nov/93	dez/95	25	07/12/95	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	1	0	1	
312	307367 A	C	F	50	Antro/Corpo/Cárdia	19,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	1/5	nov/93	jul/94	8	19/07/94	MPD	pouco	difuso	0	3	0	x	0	0	1	
313	308206 A	C	F	57	Antro	3,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/29	dez/93	jan/00	74		VSD	pouco	difuso	1	2	x	x	0	x	1	
314	308853 A	C	F	70	Antro/Corpo/Cárdia	9,0	tec.adiposo adj.	T3N2M0	IIIB	T3	N2	15/42	jan/94	nov/94	10	07/95	MPD	pouco	difuso	2	3	0	0	0	0	2	
315	309645 A	C	M	65	Cárdia	8,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/49	fev/94	ago/95	19		MPD	pouco	difuso	0	3	x	x	x	x	1	
316	311970 A	C	M	45	Antro/Corpo	16,0	tec.adiposo adj.	T3N2M0	IIIB	T3	N2	15/44	mai/94	nov/94	6	09/11/94	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2	
317	312873 A	C	F	69	Antro (PC/GC)	6,0	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N2	7/44	jun/94	mai/03	108		VSD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1	
318	313145 A	C	M	66	Corpo	12,5	tec.adiposo adj.	T3N2M0	IIIB	T3	N2	12/29	jun/94	abr/95	10	07/04/95	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2	
319	313320 A	C	M	57	Antro/Corpo	10,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/35	jun/94	fev/02	93		VSD	bem	intestinal	1	4	1	0	0	0	2	
320	313432 A	C	M	48	Corpo	10,0	tec.adiposo adj.	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/28	jun/94	out/01	89	27/10/01	MPD	pouco	intestinal	1	3	0	0	0	0	2	
321	313763 A	C	F	82	Antro/Corpo	8,0	tec.adiposo adj.	T3N2M0	IIIB	T3	N2	?	jul/94	nov/95	17	28/11/95	MPD	moderado	intestinal	0	2	0	0	0	0	2	
322	315413 A	C	M	60	Cárdia	7,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	7/17	ago/94	ago/96	25	30/08/96	MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2	
323	315991 A	C	M	51	Antro/Corpo	9,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/27	set/94	jun/96	22	22/01/99	MPD	pouco	difuso	1	3	1	1	0	0	1	
324	316901 A	C	F	77	Antro (GC)	3,5	serosa/tec.adip. adj	T3N3M0	IV	T3	N3	18/39	out/94	ago/95	11	27/08/95	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1	
325	317073 A	C	M	66	Antro	8,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	11/16	out/94	dez/94	2	28/12/94	MOC	pouco	difuso	0	3	x	0	0	0	x	1
326	317503 A	C	M	45	Antro	7,5	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	20/37	nov/94	nov/96	25	10/11/96	MOC	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	x	2
327	317524 A	C	M	76	Antro	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/20	nov/94	jul/96	20	01/07/96	MPD	pouco	intestinal	1	3	1	0	0	0	2	
328	320029 A	C	M	48	Antro/Corpo	?	tec.adiposo adj.	T3N3M0	IV	T3	N3	32/36	jan/95	abr/96	15	13/04/96	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	2	
329	320289 A	C	M	74	Antro (PC/GC)	7,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	3/13	fev/95	set/95	8	26/09/95	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
330	320498 A	C	M	70	Corpo (PC)	3,3	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/12	fev/95	jul/95	6		SI	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2	
331	320944 A	C	F	55	Antro (PC/GC)	9,0	subserosa	T2N1M0	II	T2	N1	2/24	fev/95	jul/03	102		VSD	moderado	intestinal	2	4	0	0	0	0	2	
332	321083 A	C	F	55	Antro/Corpo	7,0	subserosa	T2N2M1	IV	T2	N2	8/34	mar/95	nov/01	81		MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1	
333	321511 A	C	F	77	Corpo (PC)	5,0	submucosa	T1N2M0	II	T1	N2	9/16	mar/95	nov/99	57	06/12/99	MPD	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	1	
334	322602 A	C	F	83	Fundo/Corpo	12,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	11/23	abr/95	abr/96	12	10/04/96	MPD	moderado	intestinal	1	2	0	0	0	0	1	
335	323015 A	C	M	65	Antro/Corpo	9,0	subserosa	T2N2M0	IIIA	T2	N2	11/24	mai/95	set/97	29	21/09/97	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1	
336	324311 A	C	M	42	Antro	4,0	subserosa	T2N2M0	IIIA																		

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Clatrina	
343	328242 A	C	M	72	Antro (PC)	7,0	tec.adiposo	T3N2M0	IIIB	T3	N2	8/16	set/95	fev/00	53	15/02/00	MOC	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	2	
344	328534 A	C	F	40	Corpo	5,0	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N2	9/35	out/95	fev/02	78		MPD	pouco	difuso	2	4	0	0	0	0	2	
345	328897 A	C	F	70	Antro (GC)	3,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	6/12	out/95	out/00	61		VSD	pouco	difuso	NA	NA	x	x	0	x	2	
346	329115 A	C	F	65	Antro (PC)	12,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/21	out/95	dez/01	74		VSD	bem	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
347	332699 A	C	M	60	Corpo (PC)	4,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	3/18	fev/96	fev/97	12	07/02/97	MPD	moderado	intestinal	1	4	1	0	0	1	0	2
348	334200 A	C	M	53	Corpo (GC)	4,0	subserosa	T2N2M0	IIIA	T2	N2	11/22	abr/96	jul/00	52		SI	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	2	
349	334474 A	C	F	69	Antro	4,0	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N2	10/32	abr/96	jun/96	3	26/06/96	MPD	pouco	difuso	0	4	0	1	0	0	1	
350	335111 A	C	M	84	Cárdia	7,0	serosa	T3N0M0	II	T3	N0	0/43	abr/96	fev/98	22	17/02/98	MPD	pouco	difuso	2	3	1	0	0	0	2	
351	335285 C	C	M	53	Cárdia	11,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/12	mai/96	mai/98	25	29/05/98	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2	
352	335967 A	C	F	65	Cárdia	13,8	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	1/7	mai/96	jun/96	1	19/06/96	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2	
353	336071 A	C	M	50	Antro	6,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	14/48	jun/96	mar/97	10	27/03/97	MPD	pouco	difuso	0	1	0	0	0	0	x	
354	336096 R	C	M	42	Antro	?	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/17	jun/96	jun/96	1	28/06/96	MOC	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
355	336253 A	C	M	57	Antro	5,0	tec.adiposo	T3N2M1	IV	T3	N2	10/19	jun/96	set/97	15	01/09/97	MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2	
356	336610 A	C	M	56	Antro/Corpo (PC)	5,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	7/38	jun/96	jul/97	13	19/07/97	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	2	
357	336685 A	C	M	77	Antro	10,0	tec.adiposo	T3N2M1	IV	T3	N2	11/19	jul/96	ago/97	13	06/08/97	MPD	moderado	intestinal	2	4	0	0	1	0	2	
358	337042 A	C	M	60	Antro	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/27	jul/96	mar/98	20		VSD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	1	
359	337136 A	C	M	35	Cárdia	8,5	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	11/32	jul/96	dez/98	29		MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	2	
360	337481 A	C	M	48	Antro (PC)	4,0	submucosa	T1N1M0	IB	T1	N1	4/9	jul/96	ago/96	0		MPD	pouco	difuso	0	3	1	1	0	0	2	
361	337702 R	C	M	60	Cárdia	7,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	15/32	ago/96	set/96	1	12/09/96	MPD	pouco	intestinal	2	3	1	0	0	0	2	
362	337954 A	C	M	75	Antro	6,0	subserosa	T2N2M1	IV	T2	N2	12/18	ago/96	jan/99	30	30/01/99	MPD	pouco	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
363	338619 A	C	M	78	Corpo	7,3	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	9/29	set/96	out/98	25	04/10/98	MPD	pouco	intestinal	0	3	0	0	0	0	1	
364	338962 A	C	F	74	Antro	4,5	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	8/17	set/96	mar/97	6	22/03/97	MPD	moderado	intestinal	1	3	x	0	0	0	x	2
365	339407 A	C	M	65	Antro	15,0	serosa	T3N2M1	IV	T3	N2	10/34	out/96	set/98	23	14/09/98	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	2	
366	339695 A	C	M	76	Corpo	8,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	19/36	out/96	jan/99	27	03/01/99	MPD	pouco	intestinal	0	3	0	x	0	0	2	
367	341068 A	C / A	F	77	Antro	12,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/24	dez/96	jan/98	13	20/01/98	MPD	pouco	intestinal	2	4	1	0	1	0	2	
368	341434 A	C	F	51	Antro	?	mucosa	T1N0M0	IA	T1	N0	0/22	jan/97	jan/99	25		VSD	moderado	intestinal	0	1	0	0	0	0	0	
369	341975 A	C	F	67	Cárdia	9,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	4/17	jan/97	fev/98	13	20/02/98	MPD	moderado	intestinal	1	2	1	0	0	0	1	
370	341977 A	C	F	51	Cárdia	9,0	serosa	T3N3M0	IV	T3	N3	18/25	jan/97	ago/97	6	08/08/97	MPD	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2	
371	9700112 A	C	M	51	GC	4,6	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	13/18	fev/97	mar/97	1		MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	0	0	2	
372	9700189 A	C	F	64	Antro (GC)	4,7	serosa	T3N3M1	IV	T3	N3	29/41	fev/97	fev/98	13	18/02/98	MPD	moderado	intestinal	0	3	0	0	0	0	1	
373	9700710 A	C	F	73	Antro	4,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	1/63	fev/97	out/99	32		SI	moderado	intestinal	1	2	0	0	1	0	2	
374	9700905 A	C	M	64	Cárdia	9,0	muscular	T2N0M0	IB	T2	N0	0/41	mar/97	jul/03	78		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2	
375	9701045 A	C	M	58	Antro (PC)	3,5	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	4/22	mar/97	mar/00	37	17/03/00	MPD	moderado	intestinal	1	1	1	0	0	0	2	
376	9701460 A	C	F	71	Cárdia	9,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/28	mar/97	out/97	7		SI	moderado	intestinal	1	2	0	0	0	0	2	
377	9703254 A	C	M	50	Antro	7,0	serosa	T3N1M1	IV	T3	N1	4/6	jun/97	abr/00	35	07/04/00	MPD	pouco	difuso	2	4	0	0	0	0	2	
378	9704071 A	C	M	70	Cárdia	5,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	2/14	jul/97	mar/99	21	25/03/99	MPD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2	
379	9705794 A	C	M	73	Cárdia	8,9	muscular	T2N2Mx		T2	N2	7/24	set/97	mai/98	9		MPD	moderado	intestinal	2	3	0	0	0	0	2	
380	9706008 A	C	M	28	Cárdia	4,0	subserosa	T2N0M0	IB	T2	N0	0/21	set/97	mar/01	42		VSD	moderado	difuso	0	1	0	1	0	0	1	
381	9706109 A	C	M	67	Antro	5,5	subserosa	T2N2M0	IIIA	T2	N2	15/21	set/97	set/98	12	23/09/98	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
382	9708035 A	C	M	44	Corpo (PC)	2,1	subserosa	T2N0M0	IB	T2	N0	0/14	nov/97	jun/01	43	04/06/01	MPD	pouco	difuso	0	3	0	1	0	0	2	
383	9708643 A	C	M	52	transição esôfago/gastrica	6,0	serosa	T3N3Mx		T3	N3	22/27	dez/97	ago/01	45	18/08/01	MPD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2	
384	9708829 A	C	M	67	Antro/piloro	7,4	tec.adiposo epipl.	T3N3M0	IV	T3	N3	26/32	dez/97	abr/01	40	09/04/01	MPD	pouco	intestinal	0	3	0	0	0	0	2	
385	9800316 A	C	M	68	Cárdia	4,0	serosa	T3N2Mx		T3	N2	13/18	jan/98	fev/98	1	07/02/98	MPD	moderado	intestinal	2	4	1	0	1	0	2	
386	9800724 A	C	M	67	Antro	6,0	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/38	fev/98	jan/00	24	17/01/00	MPD	pouco	difuso	1	3	0	0	0	0	2	
387	9803750 A	C	F	56	Antro	3,0	muscular	T2N1M0	II	T2	N1	2/10	mai/98	jul/03	63		VSD	pouco	difuso	0	4	0	0	0	0	2	
388	9804729 A	C	M	60	Antro	6,2	tec.adiposo adj.	T3N1M0	IIIA	T3	N1	5/31	jul/98	jun/99	11	01/06/99	MPD	pouco	intestinal	1	2	1	1	1	0	2	
389	9805117 A	C	M	68	Antro	10,7	serosa	T3N1M0	IIIA	T3	N1	6/28	jul/98	mai/99	10	13/05/99	MPD	moderado	difuso	1	3	0	0	0	0	2	
390	9805386 A	C	M	57	Cárdia	11,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	13/17	jul/98	set/98	1		SI	pouco	difuso	2	3	0	0	1	0	2	
391	9805862 A	C	M	60	Corpo	1,3	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	9/21	set/98	jun/03	58		VSD	moderado	intestinal	1	3	0	x	0	0	2	
392	9805973 A	C	M	55	Antro (GC)	5,7	subserosa	T2N1M1	IV	T2	N1	5/26	ago/98	ago/00	24	02/08/00	MPD	moderado	intestinal	1	3	0	0	0	0	2	
393	9806080 A	C	F	42	Antro (PC)	6,2	muscular	T2N2M0	IIIA	T2	N2	12/18	ago/98	nov/98	3	22/11/98	MPD	pouco	difuso	0	3	0	0	0	0	1	
394	9806476 A	C	M	65	Antro	10,3	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2	13/13	set/98														

Nº	Block Code	TMA	GEN	Idade	Loc. Lesão	Tamanho	Nível invasão	TNM	Estadio	T	N	Linfonodos	Data Diag. Inicial	Data Ult. Consulta	Follow Up (meses)	Óbito	Sobrevida	Diferenciação	Laurén	E-cad	β-cat	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	Claulina
400	9809762 A	C	M	50	Corpo	5,2	peritônio adjacente	T3N0M0	II	T3	N0	0/42	jan/99	mai/03	54		VSD	moderado	intestinal	1	4	0	0	0	0	2
401	269648 A	C	F	69	(GC)	11,0	serosa	T3N2M0	IIIB	T3	N2		mai/90	jun/90	1	13/06/90	MOC	pouco	difuso	1	4	0	0	0	0	2
402	248843	P	M	70	Corpo (GC)	2,5	mucosa	T1N0M1	IV	T1	N0	0/22	ago/88	nov/02	173		VSD		intestinal	2	4	0	1	1	0	2
403	249294	P	M	60	Antro (GC)	1,5	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/26	ago/88	ago/02	170		VSD		intestinal	0	1	0	1	1	0	2
404	259341	P	F	43	Corpo	5,0	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/25	jun/89	jan/97	92		VSD		difuso	2	4	0	0	1	1	1
405	269024	P	F	65	Antro (PC)	3,0	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/20	abr/90	mar/03	157		VSD		difuso	2	4	0	0	0	0	2
406	270790	P	F	56	Corpo (PC)	1,5	mucosa	T1NxMx		T1			jun/90	fev/03	154		SI		difuso	2	4	0	0	1	0	1
407	274424	P	M	61	Corpo (PC)	1,5	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/17	set/90	abr/02	141		VSD		intestinal	1	4	1	0	1	1	2
408	275978	P	M	35	Antro (GC)	3,0	muscular	T2N0Mx		T2	N0	0/23	nov/90	ago/02	144		VSD		difuso	2	3	0	0	1	0	1
409	282433	ñ P	F	82	Antro	2,5	submucosa	T1NxMX		T1			jun/91	jun/94	37		SI		intestinal	2	4	0	1	1	1	1
410	286017	ñ P	M	66	Cárdia/Fundo	5,5	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/25	out/91	nov/95	50		SI		intestinal	2	3	0	0	0	0	2
411	287110	ñ P	M	59	Cárdia	4,0	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/30	nov/91	fev/95	40	17/03/95	MPD		difuso	0	4	0	1	0	0	2
412	294662	P	M	49	Antro	3,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/35	ago/92	jul/00	97				intestinal	2	4	0	1	1	0	2
413	296111	P	F	54	Antro/Corpo	4,5	submucosa	T1N3Mx		T1	N3	3/20	out/92	set/99	84	04/09/99	MOC		difuso	1	3	0	0	1	0	1
414	304818	P	F	50	Antro	4,5	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/10	ago/93	jan/00	79		VSD		intestinal	2	4	1	1	1	1	1
415	305620	P	F	38	Antro/Corpo	7,5	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	set/93	dez/98	64		VSD		intestinal	2	2	0	0	0	0	1
416	305799	P	M	37	Antro	1,8	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	set/93	out/00	86		VSD		difuso	0	1	0	0	0	0	1
417	306767	P	F	38	Píloro	2,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	out/93	nov/02	110		VSD		intestinal	0	4	0	0	1	0	1
418	307246	ñ P	M	44	Corpo	7,0	serosa	T3N0M1	IV	T3	N0	0	nov/93	out/01	97	27/10/01	MPD		difuso	2	4	0	1	1	1	2
419	307262	P	M	64	Antro	1,5	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/23	nov/93	dez/93	1		SI		intestinal	1	4	1	1	1	1	2
420	308692	P	M	73	Antro	1,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/4	jan/94	jan/94	0	19/01/94	MOC		intestinal	0	3	1	1	1	1	2
421	312567	P	F	57	Anast.gastrojejunal	3,5	muscular	T2N0Mx		T2	N0	0	mai/94	fev/03	106		VCD		difuso	1	4	0	0	1	1	1
422	314041	P	F	73	Corpo	1,1	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	jul/94	ago/02	99				difuso	0	1	0	0	1	0	1
423	316549	P	F	66	Antro	2,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	set/94	fev/03	102		VSD		intestinal	2	3	1	1	0	0	2
424	319792	P	M	54	Corpo	2,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0	jan/95	ago/95	7		VSD		difuso	2	3	0	1	1	1	2
425	321047	P	M	40	Antro (PC/GC)	2,0	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/30	mar/95	ago/98	43		SI		intestinal	1	4	0	1	1	1	2
426	322797	P	M	57	Antro/Corpo	8,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/26	abr/95	set/00	66	15/09/00	MOC		intestinal	1	2	0	0	1	0	1
427	325313	P	M	74	Antro/Corpo (PC)	12,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/19	jul/95	ago/98	38	16/08/98	MPD		intestinal	2	4	0	0	1	1	2
428	326083	P	F	36	Corpo (PC)	3,0	muscular	T2N0Mx		T2	N0	0/24	jul/95	mar/03	93		VSD		difuso	0	2	0	0	1	0	1
429	326327	P	F	78	Antro (posterior)	1,5	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/28	ago/95	dez/02	89		VSD		intestinal	1	3	0	1	1	1	2
430	328028	P	F	70	Antro/Corpo	2,5	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/13	set/95	jun/03	94		SI		intestinal	2	4	0	1	0	0	1
431	330683	P	M	68	Antro (PC)	3,0	submucosa	T1N1Mx		T1	N1	1/32	dez/95	dez/99	49		VSD		intestinal	2	2	1	1	1	1	2
432	333247	ñ P	M	48	Antro (PC)	2,5	muscular	T2N0Mx		T2	N0	0/23	mar/96	mar/02	73		VSD		difuso	0	2	0	1	1	0	1
433	336614	ñ P	M	72	Antro	0,8	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/18	jun/96	fev/00	45	26/02/00	MPD		intestinal	2	4	0	1	1	1	2
434	337001	P	F	63	Corpo (PC)	2,2	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/26	jul/96	dez/02	78		VSD		difuso	0	3	0	1	1	1	1
435	337522	P	F	25	Corpo	7,0	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/14	jul/96	nov/02	77		VSD		difuso	2	4	0	0	1	1	1
436	337585	ñ P	F	42	Antro/Corpo	5,0	serosa	T3N0Mx		T3	N0	0/26	jul/96	ago/03	86		VSD		difuso	2	2	0	1	1	0	2
437	9702114	P	F	75	Antro	0,4	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/21	mai/97	ago/03	77		VSD		intestinal	NA	NA	0	0	0	0	x
438	9703985	P	F	74	Antro	19,2	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/25	jul/97	ago/03	75		VSD		intestinal	1	1	0	0	1	0	1
439	9800047	P	F	72	Antro	2,9	mucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/10	jan/98	mai/03	65		VSD		intestinal	1	4	0	0	0	0	0
440	9800653	P	F	57	Cárdia	0,6	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/15	jan/98	set/03	69		SI		intestinal	0	3	1	1	1	0	2
441	9801041	P	F	62	Antro	3,1	mucosa	T1N1Mx		T1	N1	1/21	fev/98	out/98	8		SI		difuso	2	2	0	0	1	0	2
442	9801042	P	F	67	Antro-Píloro (PC)	3,5	serosa	T3N1Mx		T3	N1	1/39	fev/98	jun/03	64		SI		difuso	0	4	0	1	1	0	2
443	9801127	P	M	50	Antro	4,0	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/21	fev/98	jul/98	5	25/07/98	MPD		difuso	0	3	0	1	0	0	1
444	9805468	P	M	46	Antro	2,1	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/22	ago/98	jan/03	54		SI		intestinal	2	4	0	1	1	1	1
445	9807189	P	F	60	Antro	3,0	submucosa	T1N0Mx		T1	N0	0/36	out/98	set/00	24		VSD		intestinal	2	4	0	1	0	0	1
446	9809124	P	M	55	Antro	0,6	muscular	T2N0Mx		T2	N0	0/26	dez/98	ago/03	57		SI		intestinal	0	4	1	1	1	1	2

Anexo 2: TNM Classificação dos Tumores Gástricos

T - Tumor Primário

Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : tumor intra-epitelial sem invasão da lâmina própria
T1	Invasão da lâmina própria ou submucosa
T2	Invasão da muscular própria
T3	Penetração da serosa
T4	Invasão das estruturas adjacentes

N - Linfonodos Regionais

NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Ausência de Metástases em linfonodos regionais
N1	Metástase em 1 a 6 linfonodos regionais
N2	Metástase em 7 a 15 linfonodos regionais
N3	Metástase em mais de 15 linfonodos regionais

M - Metástase à Distância

MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada
M0	Ausência de metástase à distância
M1	Metástase à distância

Estadio

0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
II	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
IIIB	T3	N2	M0
IV	T4	N1-3	M0
	T1-3	N3	M0
	T1-4	N1-2	M1

ANEXO 3: PROTOCOLO DE REAÇÕES IMUNOISTOQUÍMICAS

1. Desparafinização dos cortes de 3µm de espessura, do material incluído em parafina, em lâminas previamente tratadas com 3-amino-propyltriethoxy-silane (Sigma, A-3648, USA), e deixadas por 24 horas em estufa a 60°C.
2. Duas passagens em xilol (60°C por 20 minutos e à temperatura ambiente por 20 minutos)
3. Três passagens em etanol (100% 30'', 95% 30'' e 70% 30'')
4. Lavar as lâminas em água corrente e destilada.
5. Incubação em solução tampão citrato 10mM ph 6.0 em panela de pressão (Eterna®, Nigro).
6. Lavar as lâminas em água corrente e destilada.
7. Proceder ao bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂ 3%, (água oxigenada 10 vol) com 4 trocas de 5 minutos cada.
8. Lavar em água corrente e destilada.
9. Lavar com solução salina tamponada com fosfatos (PBS-phosphate buffered saline) 10mM ph 7.4 por 5 minutos.
10. Incubar as lâminas com o anticorpo primário diluído em título pré-estabelecido conforme tabela abaixo em tampão PBS contendo albumina bovina (BSA) 1% (Sigma, A9647, USA) e azida sódica (NaN₃) 0,1% por 18 horas a 4°C em câmara úmida.

Anticorpos	Clones	Títulos	Fabricantes
Mouse anti βcatenin	14	1:1000	BD Transduction, USA – cód 610154
Mouse anti E cadherin	36	1:750	BD Transduction, USA – cód 610182
Clathrin Heavy Chain	23	1:2000	BD Transduction, USA – cód 610500
MUC 1 glycoprotein	Ma 695	1:500	Novocastra, UK. Cód NCL-MUC-1
MUC 2 glycoprotein	CCp58	1:1000	Novocastra, UK. Cód NCL-MUC-2
MUC5AC glycoprotein	CLH2	1:500	Novocastra, UK. Cód NCL-MUC-5AC
MUC 6 glycoprotein	CLH5	1:600	Novocastra, UK. Cód NCL-MUC-6

11. Lavar em tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada.

12. Incubar com o anticorpo secundário biotinilado-reagente C (Biotinylated goat anti-mouse/rabbit Ig) do kit Strept ABCComplex / HRP Duet (mouse/rabbit) (Dako A/S, K492, Denmark) no título pré-estabelecido de 1:200, diluído em PBS, por 30 minutos a 37°C.
 13. Lavar em tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada.
 14. Incubar as lâminas em solução substrato: 3,3' Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB) 60mg% (Sigma, D-5637, USA); 1 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO); 1ml de H₂O₂ 6% (água oxigenada 20 vol); 100 ml de PBS; por 5 minutos a 37°C, ao abrigo da luz.
 15. Observar ao microscópio, nas lâminas controles, o desenvolvimento de precipitado castanho dourado, como produto final da reação.
 16. Lavar em água corrente e água destilada por 3 minutos.
 17. Contracorar com hematoxilina de Harris por 1 minuto.
 18. Lavar bem em água corrente e destilada.
 19. Imergir 2 vezes em água amoniacal (solução de hidróxido de amônio 0,5%), lavando em seguida em água corrente e destilada.
 20. Desidratação das lâminas em etanol (50% , 80% e 95% - 30 segundos cada)
 21. Etanol 100% 3 vezes, 30 segundos cada
 22. Xilol 4 vezes, 30 segundos cada
 23. Montagem das lâminas em Entellan neu (Merck, 1.07961, Germany)
-