

A oncoproteína mutante p53 como factor de apoio à decisão terapêutica no carcinoma gástrico

Mutant p53 can support decision making in the treatment of gastric cancer

*Caldeira Fradique¹, Guedes da Silva², Luísa Quaresma², Gualdino Silva³,
Alexandra Pupo⁴, Mário Oliveira⁵, Lígia Costa⁶, Jorge Esteves⁷, Mateus Marques⁸,
Gonçalo Fernandez⁹, Fernanda Cabrita¹⁰, Filomena Pina¹¹*

¹ Chefe de Serviço de Cirurgia do CHLC; Professor Associado de Cirurgia da FCML.

² Assistente Graduado de Cirurgia do CHLC; Professor Associado de Cirurgia da FCML.

³ Assistente Graduado de Cirurgia do CHLC.

⁴ Assistente Hospitalar de Cirurgia do CHLC; Assistente Convidada de Cirurgia da FCML.

⁵ Chefe de Serviço de Anatomia Patológica do CHLC; Assistente Convidado de Anatomia Patológica da FCML.

⁶ Assistente Graduada de Oncologia do CHLC.

⁷ Assistente Graduado de Gastreenterologia do CHLC.

⁸ Chefe de Serviço de Imagiologia do CHLC. Professor Associado de Imagiologia da FCML.

⁹ Assistente Hospitalar de Radio-oncologia do IPOFG (Lisboa).

¹⁰ Chefe de Serviço de Anatomia Patológica do CHLC.

¹¹ Assistente Graduada de Radio-oncologia do CHLN.

Unidade Funcional de Patologia Esofago-Gástrica do Centro Hospitalar de Lisboa Central

RESUMO

Introdução – O carcinoma gástrico constitui a terceira causa oncológica de morte em Portugal. A metastização ganglionar, em particular a relação entre o número de gânglios ressecados e o número de gânglios metastizados, constitui o mais importante factor de prognóstico independente no carcinoma gástrico. A metastização das cadeias ganglionares distais assume um significado prognóstico pejorativo e condiciona as opções terapêuticas cirúrgicas e não cirúrgicas. Assim, na programação da terapêutica, torna-se importante encontrar marcadores da metastização ganglionar em geral e, em particular, da metastização das cadeias ganglionares distais. A proteína p53, produto do gene supressor tumoral TP53, funciona normalmente como um travão à replicação do ADN, como supressor da angiogénese e como factor desencadeante da apoptose. As mutações do gene TP53 constituem uma das alterações moleculares mais frequentes no carcinoma gástrico, levando à formação da proteína mutante p53. A sobre-expressão de p53 tem sido considerada factor de mau prognóstico e associada à metastização ganglionar. **Objectivos** – O presente estudo procura determinar a relação entre a expressão de p53 e a metastização das cadeias ganglionares distais. **Material e Métodos** – Foram estudados 50 doentes com carcinoma gástrico submetidos a cirurgia radical de intenção curativa, com linfadenectomia alargada. Foram estudados 1786 gânglios ressecados. Este número representa uma média de 35,7 gânglios ressecados por doente, uma das maiores a nível internacional. Correlacionou-se a expressão de p53 com a localização, dimensão, tipo histológico, invasão em profundidade, número de gânglios metastizados, metastização das cadeias ganglionares distais e estádio TNM. **Resultados** – Em todos os parâmetros estudados, a proteína mutante p53 relacionou-se com indicadores de mau prognóstico. Em particular, demonstrou relação com significado estatístico ($p = 0.019$) com a



metastização das cadeias ganglionares distais, ou seja, cadeias da segunda estação ganglionar ou mais distais. **Conclusão** – A proteína mutante p53 é um bom indicador de prognóstico no adenocarcinoma gástrico. Ao identificar os tumores em risco de metastização das cadeias ganglionares distais é um elemento de apoio à decisão terapêutica, em particular no que respeita à extensão da linfadenectomia e à terapêutica neo-adjuvante e adjuvante.

Palavras chave: *Carcinoma gástrico; p53; Metastização ganglionar; Linfadenectomia alargada.*

ABSTRACT

Introduction – Gastric cancer is now the third leading cause of death by cancer in Portugal. Nodal metastases are the most important factor of prognosis in gastric cancer. Metastases in distal nodal stations mean bad prognosis and bring more difficulties in the treatment of the tumor. So it is important to have a marker of nodal status before operating. Mutations on the gene *TP53* are the most frequent molecular alterations in gastric cancer, and generates mutant p53, with loss of function. Over-expression of mutant p53 is generally considered as a bad prognosis factor, associated with nodal metastases. **Objective** – In this study we intend to identify the relationship between the expression of p53 and several prognosis factors, namely the metastases in distal nodes. Pre-operative knowledge of this metastases can influence the options in treatment. **Patients and Methods** – In the evaluation of 50 patients, were studied 1786 nodes, with a rate of 35,7 nodes resected per patient. **Results** – Over-expression of mutant p53 as a relation with several markers of bad prognosis. Namely, the expression of p53 showed a relation highly significant with metastases in distal nodes ($p=0.019$), meaning metastases in the second nodal station or over. **Conclusion** – In this series, mutant p53 is a marker of prognosis in gastric cancer. Patients whose tumors express mutant p53 should be considered for extended lymphadenectomy to get curative surgery. They must also be considered in what respects to peri-operative treatment.

Key words: *Gastric carcinoma; p53; Nodal metastases; Extended lymphadenectomy.*

INTRODUÇÃO

De acordo com os últimos dados disponíveis (IARC/GLOBOCAN- dados referentes a 2012), o carcinoma gástrico sofreu uma redução de incidência e passou a ser o quinto tumor mais frequente a nível mundial (^{1;2;3;7}), depois do pulmão, da mama, do colo-rectal e da próstata. É agora a terceira causa de morte por doença oncológica, com 723 000 casos, depois do pulmão com 1 590 000, muito próximo do fígado com 745 000, e à frente do colo-rectal com 694 000. Atinge uma dimensão significativa em Portugal, com a mais elevada taxa de incidência e mortalidade da Europa Ocidental, sendo predominante no sexo masculino. Em Portugal é igualmente a terceira causa de morte, com 2 285 casos por 100 000 habitantes, depois do colon+recto com 3797 casos e do pulmão+traqueia+brônquios, com 3441. Na Europa é a quinta causa de morte por cancro.

Quanto ao grupo etário, a incidência do cancro do estômago sobe abruptamente a partir dos 65 anos. Apenas menos que 10% dos doentes têm menos de 45 anos.

Na União Europeia, a incidência média é de 21,3 para os homens e 10,4 para as mulheres; quanto à mortalidade, é de 15,6 para os homens e 7,7 para as mulheres, ou seja, cerca de metade dos valores verificados em Portugal.

Em termos comparativos, na Coreia a incidência é de 70 para os homens e 25,7 para as mulheres. No Japão a incidência é 69,2 para os homens e 28,6 para as mulheres. No Brasil é o 2º tumor como causa de mortalidade (⁴). No Reino Unido é o sexto tumor mais prevalente (⁵). Nos Estados Unidos representa o 13º tumor em termos de prevalência e é o 10º como causa de morte (⁶).

Apesar de a incidência e a mortalidade por carcinoma gástrico terem sofrido uma progressiva diminuição nas últimas décadas, o cancro do estômago continua a ser um problema grave a nível mundial, mantendo-se como a terceira causa de morte por doença oncológica (⁷).

O prognóstico do cancro gástrico mantém-se grave. Apesar de se verificarem avanços nas terapêuticas não cirúrgicas, a cirurgia radical com linfadenectomia



alargada mantém-se a base do tratamento. A extensão da linfadenectomia foi alvo de consenso publicado na Revista Portuguesa de Cirurgia em Março de 2014 (116), envolvendo o conceito tradicional de linfadenectomia D2, alargada a algumas cadeias que tradicionalmente se consideravam D3. No entanto verifica-se no pós-operatório que alguns doentes não teriam necessitado de linfadenectomia alargada. O mesmo consenso definiu que os doentes com metastização ganglionar significativa devem fazer quimioterapia peri-operatória. Por estes motivos a caracterização pré-operatória do estado ganglionar assume progressiva importância. Conjugada com a identificação intra-operatória do gânglio sentinela, em fase de investigação, pode contribuir para a selecção de doentes candidatos a abordagens menos agressivas.

O grau de metastização ganglionar e a relação entre os gânglios ressecados e os gânglios invadidos constituem o mais importante factor prognóstico independente no carcinoma gástrico (8; 9; 10). A metastização das cadeias ganglionares distais assume um significado prognóstico pejorativo. O seu conhecimento pré-operatório poderá influenciar as opções terapêuticas, cirúrgicas e não cirúrgicas.

Assim, na programação da terapêutica, torna-se importante encontrar marcadores da metastização ganglionar em geral e, em particular, da metastização das cadeias ganglionares distais. Consideram-se como metástases ganglionares distais as que se verificam na segunda estação ganglionar ou mais distais.

O produto do gene supressor tumoral *TP53* (proteína p53) funciona normalmente como um travão à replicação do ADN, como supressor da angiogénese e como factor desencadeante da apoptose (11).

Em tecidos normais a p53 funciona como guardião do genoma, induzindo a apoptose em situações de lesão do ADN. Quando há inactivação do gene (por mutação ou perda), as células com ADN alterado não morrem e continuam a replicar-se (12). Nesta situação há também activação da angiogénese (13;14).

A mutação do gene *TP53* é mais frequente nos doentes idosos (15) e pode ocorrer no síndrome de Li-Fraumeni, com cancro gástrico familiar hereditário,

de tipo intestinal ou difuso, em indivíduos jovens (16).

Para Jang BG et al (17) a mutação do gene *TP53* é um fenómeno precoce na carcinogénese gástrica que ocorre na gastrite induzida pelo Hp, enquanto Busutill et al (18) defendem que a mutação de *TP53* só ocorre na fase tardia da carcinogénese.

A proteína CagA (cytotoxin-associated gene A) do *H.Pylori* promove a degradação da p53 nativa e da sua capacidade para induzir apoptose (19; 20; 21; 22; 23). Para Chang et al (24) e Lan et al (25) a acção de *Helicobacter pylori* na carcinogénese gástrica poderia ser explicada através da indução de mutações no gene *TP53*, provocadas pela produção de óxido nítrico na reacção inflamatória da infecção e que, segundo Zhang et al (26), facilita a formação de nitrosaminas. No entanto, para Shun et al (27) e para Wu et al (28), a frequência das alterações da p53 não se relaciona com a infecção por Hp.

As mutações do gene *TP53* constituem uma das alterações moleculares mais frequentes no carcinoma gástrico, manifestando-se em cerca de 60% dos casos (29; 30), sendo raras nos tumores diplóides (31).

Em presença de mutação do gene, a proteína mutada forma complexos inactivantes com a proteína nativa e esta situação pode ser avaliada por imunocitoquímica que revela sobre-expressão de p53 (32; 33). A determinação pode ser feita no pré-operatório em pequenos fragmentos, como amostras de biópsias.

A acumulação e estabilização da p53 que se manifesta na sobre-expressão corresponde a mutação do gene *TP53* em 75% dos casos. Nos restantes casos não há evidência de mutação do gene, pelo que a acumulação se deve a outros mecanismos (34).

O aumento de expressão de p53 foi observado na metaplasia intestinal e na displasia, isto é, em fases iniciais da oncogénese gástrica de tipo intestinal (35; 36; 37; 38). Também no Esófago de Barrett, mesmo a displasia de baixo grau, envolve risco de malignização quando apresenta expressão de p53 (39; 40).

Contudo, no estudo realizado por Raniti et al (41), referente a 100 doentes, não foi identificado qualquer caso de metaplasia intestinal ou displasia com expressão de p53.



Nimura et al ⁽⁴²⁾ observaram também expressão de p53 na mucosa dos doentes com úlcera gástrica tratados durante mais de quatro anos com inibidores da secreção.

No entanto, Takeno ⁽⁴³⁾ considera que a expressão da p53 não tem significado nas fases precoces da doença.

Lin et al ⁽⁴⁴⁾ constataram que não tem relação positiva com a instabilidade de microssatélites.

Nos casos de carcinoma gástrico associado a Virus Epstein-Barr (cerca de 10% do total), não é detectável a expressão da p53 ^(45; 46).

Conde et al ⁽⁴⁷⁾ não encontraram relação entre a perda da p53 e a localização do tumor ou o tipo histológico, ao contrário de Azarhoush et al ⁽⁴⁸⁾, que consideram que as alterações de p53 se correlacionam com a localização, sendo mais frequentes nos tumores proximais.

A administração de ibuprofen pode estimular a apoptose mediada pela p53 ⁽⁴⁹⁾.

O estudo de Oliveira et al ⁽⁵⁰⁾ demonstrou que é importante no despiste do cancro gástrico familiar, quer isoladamente, quer em associação com outros marcadores.

A expressão de p53 é um factor de prognóstico independente no cancro gástrico familiar, com agravamento do prognóstico ^(51; 52).

O estudo nos polipos gástricos revelou a expressão de p53 em cerca de um terço dos casos, dos quais apenas uma pequena fracção malignizou. Sakurai et al ^(53; 54) sugerem que a p53 tem uma acção menos importante na malignização dos polipos gástricos do que nos polipos do colon e que a sequência adenoma-carcinoma no estômago tem um mecanismo diferente do verificado no colon.

Nogueira et al ⁽⁵⁵⁾ detectaram a sua presença em 6 de 14 polipos adenomatosos (42,8%), dois dos quais com focos de adenocarcinoma.

Kolodziejczyk et al ⁽⁵⁶⁾ verificaram que a malignização dos polipos se acompanha de aumento da expressão de p53.

Carneiro et al ⁽⁵⁷⁾ verificaram que numa situação de polipose gástrica familiar, com alta incidência de

carcinoma gástrico de tipo difuso, pode não se detectar expressão de p53. É de salientar, no entanto, que nesta situação se tratava de polipos hiperplásicos.

As alterações na p53 podem ter efeito imunestimulante e levar à formação de anticorpos (p53ab). A detecção de anticorpos circulantes anti-p53 tem sido apontada como indicador de mau prognóstico ^(58; 59; 60; 61). Foi possível detectar a mutação no sangue circulante em 36,4% dos doentes com cancro gástrico ⁽⁶²⁾. Como, de acordo com Nakajima et al ⁽⁶³⁾, os níveis de anticorpos circulantes anti-p53 se correlacionam com a metastização ganglionar, Wu et al ⁽⁶⁴⁾ e Lazar D et al ⁽⁶⁵⁾ consideram que a sua determinação pré-operatória poderia ser um indicador da necessidade de praticar linfadenectomia. Estas conclusões são, no entanto, contrariadas pelo estudo japonês de 170 doentes por Tang et al ⁽⁶⁶⁾, o qual não revelou qualquer valor prognóstico para a expressão de p53. Mais recentemente a meta-análise realizada por Wei K et al ⁽⁶⁷⁾ confirmou que a expressão de p53 é um indicador de mau prognóstico.

As anomalias do gene *TP53* estão mais frequentemente associadas com o carcinoma gástrico de tipo intestinal, bem diferenciado, de grandes dimensões, em doentes idosos do sexo masculino, como demonstraram Lin et al ⁽⁶⁸⁾. A sobre-expressão associa-se com a progressão tumoral antes que atinja os estadios mais avançados ⁽⁶⁹⁾, mas a expressão torna-se mais positiva nesses estadios ^(70; 71). Li GC et al ⁽⁷²⁾ demonstraram que a expressão de p53 e CA72.4 se relacionam com a recidiva tumoral. A mutação tem sido igualmente considerada como factor associado à agressividade tumoral ^(73; 74; 75) e à sobrevivência dos doentes, tanto no Ocidente ⁽⁷⁶⁾ como no Oriente ⁽⁷⁷⁾. Na experiência de alguns autores ^(78; 79) a expressão aumentada de p53 é marcador de mau prognóstico sobretudo nos tumores de tipo difuso.

Nos doentes com tumores em estadio avançado, a expressão imunocitoquímica de p53 correlaciona-se com a categoria pN do sistema de classificação japonês ⁽⁸⁰⁾.

Em numerosas publicações, o estudo da p53 tem sido proposto como factor de prognóstico em relação



à existência de metastização ganglionar (81; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88). Na Coreia, foi demonstrado por Kim et al (89) que o risco de metastização ganglionar é maior nos tumores com expressão de p53, mesmo com dimensão inferior a 5cm.

Ji F et al (90) demonstraram relação da p53 com a metastização ganglionar e com o estadio TNM.

Radovanovic D et al (91) demonstraram relação com a metastização ganglionar e com a invasão vascular.

Enquanto as mutações significariam risco aumentado de metastização, a acumulação de p53 sem mutações, que ocorre num terço dos tumores, corresponderia, segundo Shiao et al (92), a uma reacção de defesa e, como tal, a um menor risco de disseminação.

Quando consideramos o “early gastric cancer”, a expressão de p53 é maior nos tumores planos ou deprimidos do que nos elevados (93).

O estudo japonês de Pan et al (94), envolvendo 1 196 doentes com “early gastric cancer” demonstrou que, mesmo nestes tumores, os níveis elevados de expressão da p53 indicam risco de metastização ganglionar e, segundo estes autores japoneses, da necessidade de linfadenectomia radical. Pode igualmente ser um indicador de risco de recidiva (95). No entanto, o estudo igualmente japonês de Kanai et al (96), referente a 75 doentes, revelou que, no caso do carcinoma precoce, não há relação entre a p53 e a metastização ganglionar.

No entanto, nenhum dos estudos referidos atrás discrimina se considera as cadeias proximais ou distais.

Takeji et al (97) e Takeno et al (98) apontaram para o valor prognóstico da p53 no que respeita à sobrevivência dos doentes com tumores em estadio IV. Nestes doentes, Kunisaki et al (99) consideram que a linfadenectomia para-aórtica está indicada apenas quando a expressão da p53 for igual ou menor que 50%. No entanto, o valor da linfadenectomia para-aórtica foi posteriormente posto em causa por Sasako et al (100).

Seruca et al (101) evidenciaram que quando o tumor primário é negativo para a p53, as metástases ganglionares mantêm essa característica e Takeji et al (102) demonstraram que as metástases de tumores com

expressão de p53 mantêm habitualmente a expressão do marcador.

No entanto, o estudo de 242 doentes realizado na Finlândia por Victorzon et al (103) contraria os estudos referidos atrás, sugerindo que a sobre-expressão de p53 não tem valor prognóstico. Igual noção foi suportada pelo estudo de 418 doentes na Alemanha por Gabbert et al (104).

De acordo com vários estudos, a avaliação das alterações da p53 poderá ser utilizada para prever a resposta à quimioterapia adjuvante, visto que nos casos com expressão de p53 se verificou menor resposta à quimioterapia do que nos tumores negativos para p53 (105; 106; 107; 108; 109; 110). A terapêutica genética dirigida à p53 poderá constituir uma nova abordagem terapêutica do carcinoma gástrico (111).

Pode também ser utilizada para prever a resposta à quimioterapia neo-adjuvante, nos doentes com tumores metastizados, quer no que respeita à avaliação das mutações, quer à sobre-expressão da proteína. Poderão assim ser detectados os cerca de 40% de doentes com tumores irressuscitáveis que poderão ser “convertidos” em casos cirúrgicos, com aumento da sobrevivência (112; 113).

Mas Sirak I et al (114) não encontraram relação entre a expressão de p53 e a resposta à radioquimioterapia neo-adjuvante.

O valor prognóstico da expressão de p53 na população portuguesa foi igualmente demonstrado por Sousa et al (115). Estes autores verificaram que a expressão de p53 se associa a um comportamento biológico mais agressivo, à invasão venosa, à metastização ganglionar, à menor sobrevivência dos doentes e à expressão aumentada de c-erb-B2.

OBJECTIVOS

- Estudar prospectivamente uma série de doentes com carcinoma gástrico submetidos a um protocolo cirúrgico previamente definido.
- Analisar a relação entre as características clínicas e anatomo-patológicas e a expressão de p53.



– Compreender a importância da mutação da proteína p53 nos mecanismos biopatológicos da metastização ganglionar do cancro gástrico, em particular na metastização das cadeias ganglionares distais.

– Caracterizar a série relativamente às características clínicas e anatomo-patológicas.

– Analisar na mesma série a expressão imunocitoquímica de marcadores moleculares relacionáveis com o comportamento do carcinoma gástrico: Ki-67, p53, caderina-E e c-erb-B2.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados prospectivamente 50 doentes com adenocarcinoma gástrico, submetidos a cirurgia radical com linfadenectomia alargada D2 ou D2-D3 (ou D2 incompleta, nos casos de “early cancer”) no Serviço de Cirurgia 1 do H. S. José – CHLC, com a seguinte distribuição.

QUADRO 1 – Caracterização pré-operatória. N=50

Sexo masculino	30 (60%)
Sexo feminino	20 (40%)
Idade mínima	38
Idade máxima	88
Idade média	63
Terço proximal (fundo + cárdia – vertente gástrica)	12 (24%)
Terço médio (corpo)	16 (32%)
Terço distal (antro)	21 (42%)
Coto gástrico	1(2%)
Tipo intestinal de Lauren	25 (50%)
Tipo difuso ou misto de Lauren	25 (50%)

Foi tomado em consideração o estadio e a localização do tumor, bem como o tipo histológico, para decidir da extensão da gastrectomia.

Foi feita a colheita das cadeias ganglionares, que foram enviadas em separado para estudo histológico, de acordo com a metodologia japonesa.

Antecedendo a dissecação cirúrgica, foi feita a colheita de líquido intraperitoneal para citologia.

c) Elementos de avaliação pós-operatória

Localização

Dimensão

Classificação de Borrmann

Classificação de Ming

Metaplasia intestinal

Pesquisa de Helicobacter Pylori (Hp)

Tipo histológico (classificação de Lauren e classificação de Ming)

Identificação das cadeias ganglionares ressecadas

Identificação das cadeias ganglionares metastizadas

Relação gânglios ressecados / gânglios invadidos

Estadio pTNM

Marcadores moleculares –Ki-67, p53, caderina-E, c-erb-B2

Alterações da composição corporal e do estado de nutrição

Morbilidade pós-operatória aos trinta dias

Mortalidade pós-operatória aos trinta dias

Os dados foram analisados através do SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 16.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, USA).

O nível de significância considerado foi de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

1. Ressecção cirúrgica

Foram executadas 38 gastrectomias totais (76%) e 12 sub-totais (24%).

Foi praticada linfadenectomia alargada D2-D3. Foram ressecados em média 35,7 gânglios por doente, tendo sido analisados no total 1786 gânglios.

Não se verificou mortalidade intra-operatória.

Verificou-se morbilidade em 16 doentes (32%).

Registaram-se 6 casos de mortalidade.



2. Características anatomo-patológicas

a) Localização

Oito tumores (16%) localizavam-se na junção esófago-gástrica. Quatro (8%) localizavam-se no fórnix. Dezasseis (32%) envolviam o corpo, dos quais oito estendiam-se também ao antro. Vinte e um (42%) localizavam-se no antro. Um (2%) localizava-se no coto gástrico.

Do total de 29 tumores que envolviam o antro, 11 (37,9%) eram trans-pilóricos.

b) Dimensão

Dezoito tumores (36%) tinham menos que 5cm e 32(64%) tinham 5cm ou mais.

c) Classificação de Borrmann

Dez tumores (20%) eram exofíticos, polipóides ou fungiformes (tipos I e II). Dezassete tumores (34%) eram ulcerados (tipo III). Vinte e três tumores (46%) eram infiltrativos ou deprimidos (tipo IV).

d) Infecção por *Helicobacter pylori* (Hp)

A pesquisa foi feita nas peças operatórias por histologia. Em 16 casos (32%) verificou-se a presença de Hp.

e) Metaplasia intestinal

O estudo da mucosa não neoplásica revelou que 35 tumores (70%) se acompanhavam de metaplasia intestinal.

f) Classificação de Ming

Verificou-se que 42 tumores (84%) eram de tipo infiltrativo e 8 (16%) de tipo expansivo.

g) Classificação de Lauren

Os 50 tumores repartiram-se em igual percentagem pelos dois tipos histológicos, sendo 25 tumores (50%) de tipo intestinal e 25 (50%) de tipo difuso ou misto.

h) Metastização ganglionar

Em 34 doentes (68%) foi detectada metastização ganglionar, a qual em 10 casos (20%) estava confi-

nada aos gânglios peri-gástricos (N1 da classificação japonesa) e em 24 (48%) atingia as cadeias ganglionares distais (N2, N3 ou N4 da classificação japonesa).

Quanto à classificação UICC/AJCC verificou-se que 15 tumores (30%) estavam no estágio N1, 7 (14%) estavam no estágio N2 e 12 (24%) no estágio N3.

3. Alterações metabólicas

O gasto metabólico foi determinado em 32 doentes, tendo-se detectado hipermetabolismo em 21 (65,6%).

O estado de nutrição pré-operatória foi avaliado em 37 doentes. Verificou-se alteração de pelo menos um parâmetro em 11 doentes (22%).

A composição dos compartimentos corporais foi avaliada em 26 doentes. Foi detectada alteração da composição corporal em 6 (23,1%).

4. Marcadores séricos e moleculares tumorais

Em 29 tumores (58%) verificou-se expressão de p53.

Em relação aos restantes marcadores moleculares, verificou-se que: 40 tumores (80%) apresentavam sobre-expressão de Ki-67 superior a 50%; a expressão de caderina-E foi anormal em 34 do total de 47 casos em que foi avaliada (72,3%); 16 tumores (32%) apresentavam expressão membranar de c-erb-B2.

Quanto aos marcadores tumorais séricos, verificaram-se valores elevados de CA72.4 em 31,6% dos casos, de CA19.9 em 29,6% e de CEA em 12,9%.

5. Expressão de p53

Em 21 tumores (42%) não se verificou expressão imuno-citoquímica de p53 –tumores p53(-).

Em 29 tumores (58%) verificou-se expressão de p53- tumores p53 (+).

O sub-grupo de tumores com expressão de p53 superior a 15% representou 15 casos (30%).

a) Os 21 tumores em que não se verificou expressão de p53 exibiam as seguintes características:

Localização– 8 tumores (38,1%) localizavam-se no antro, 9 (42,9%) no corpo e 4 (19%) no terço proximal.

Dimensão – 9 tumores (42,9%) tinham menos que 5cm, e os restantes 12 (57,1%) tinham 5cm ou mais.



Tipo histológico – 8 tumores (38,1%) eram de tipo intestinal e 13 (61,9%) de tipo difuso ou misto.

Invasão em profundidade T – 6 tumores (28,6%) eram T1, 2 (9,5%) T2, 7 (33,3%) T3 e 6 (28,6%) T4.

Metastização ganglionar

Classificação UICC – 9 tumores (42,9%) eram N0, 7 (33,3%) N1, 1 (4,8%) N2 e 4 (19%) N3.

Classificação Japonesa – 9 tumores (42,9%) eram N0, 6 (28,6%) N1, 3 (14,3%) N2 e 3 (14,3%) N3 ou N4.

Estadio TNM – 8 tumores (38,1%) encontravam-se em estadio I, 1 (4,8%) em estadio II, 4 (19%) em estadio III e 8 (38,1%) em estadio IV.

b) *Os 29 tumores (58%) em que se observou expressão de p53 ou seja, p53(+), exibiam as seguintes características:*

Localização – 12 tumores (41,4%) localizavam-se no antro, 9 (31%) no corpo e 8 (27,6%) no terço proximal.

Dimensão – 8 tumores (27,6%) tinham menos que 5cm, enquanto 21 (72,4%) tinham 5cm ou mais.

Tipo histológico – 16 tumores (55,2%) eram de tipo intestinal enquanto 13 (44,8%) eram de tipo difuso.

Invasão em profundidade T- 3 tumores (10,3%) eram T1, 5 (17,2%) T2, 6 (20,7%) T3 e 15 (51,7%) T4.

Metastização ganglionar

Classificação UICC/ AJCC – 7 tumores (24,1%) eram N0, 8 (27,6%) N1, 6 (20,7%) N2 e 8 (27,6%) N3.

Classificação Japonesa – 7 tumores (24,1%) eram N0, 4 (13,8%) N1, 10 (34,5%) N2 e 8 (27,6%) N3 ou N4.

Estadio TNM – 7 tumores (24,1%) encontravam-se em estadio I, 2 (6,9%) em estadio II, 5 (17,2%) em estadio III e 15 (51,7%) em estadio IV.

c) *Os 15 tumores (30%) com expressão de p53 superior a 15% exibiam as seguintes características:*

Localização – 8 tumores (53,3%) localizavam-se no antro, 2 (13,3%) no corpo e 5 (33,3%) no terço proximal.

Dimensão – 6 tumores (40%) tinham menos que 5cm e 9 (60%) tinham 5cm ou mais.

Tipo histológico – 9 tumores (60%) eram de tipo intestinal e 6 (40%) de tipo difuso ou misto.

Invasão em profundidade T – 2 tumores (13,3%) eram T1, 3 (20%) T2, 2 (13,3%) T3 e 8 (53,3%) T4.

Metastização ganglionar

Classificação UICC – 4 tumores (26,7%) eram N0, 3 (20%) N1, 3 (20%) N2 e 5 (33,3%) N3.

Classificação Japonesa – 4 tumores (26,7%) eram N0, 1 (6,7%) N1, 5 (33,3%) N2 e 5 (33,3%) N3 ou N4.

Estadio TNM – 5 tumores (33,3%) estavam em estadio I, 1 (6,7%) em estadio III e 9 (60%) em estadio IV. Nenhum estava em estadio II.

QUADRO 2 – Relação de p53 com os estadios N (C. UICC e C. Japonesa)

p53 Metastização ganglionar							
	N0	Classificação UICC			Classificação Japonesa		
		N1	N2	N3	N1	N2	N3/N4
p53 (-) n = 21	9	7	1	4	6	3	3
p53 (+) n = 29	7	8	6	8	4	10	8
Total n = 50	16	15	7	12	10	13	11
p53 > 15% n = 15	4	3	3	5	1	5	5

QUADRO 2.a – Relação de p53 com a metastização das cadeias ganglionares distais (C. Japonesa)

	N0/N1	N2/N3/N4	Total
p53 (-)	15 (71,4%)	6 (28,6%)	21
p53 (+)	11 (37,9%)	18 (62,1%)	29
Total	26	24	50
p53 > 15%	5 (33,3%)	10 (66,7%)	15



Verificámos que os tumores p53(-) poupavam as cadeias ganglionares distais em 71,4% dos casos e invadiam estas cadeias em 28,6% dos casos. Os tumores p53(+) poupavam as cadeias ganglionares distais em 37,9% dos casos e invadiam estas cadeias em 62,1% dos casos.

Aplicando o Teste de Qui-Quadrado obtivemos um valor $p = 0.019$ (com significado estatístico)

Sensibilidade = 75%

Especificidade = 57,7%

Valor Preditivo Positivo = 62,1%

Valor Preditivo Negativo = 71,4%

Quando considerámos o sub-grupo de tumores com expressão de p53 superior a 15%, verificámos que 33,3% poupavam as cadeias ganglionares distais, enquanto 66,7% dos tumores invadiam estas cadeias.

DISCUSSÃO

O gene supressor *TP53*, tal como foi descrito já há muitos anos, funciona como regulador do ciclo celular, como travão à replicação do ADN, como supressor da angiogénese e ainda como factor desencadeante da apoptose.

Quando existe mutação do gene *TP53*, a proteína mutante por ele codificada (p53) acumula-se e pode ser identificada por imunocitoquímica. Verifica-se expressão de p53 em 60% dos carcinomas gástricos, predominantemente de tipo intestinal. A alteração da p53 relaciona-se com a proteína CagA do Hp e condiciona agressividade tumoral.

Também se pode identificar no epitélio com metaplasia e displasia, pelo que se considera que pode estar envolvida na fase precoce do processo de carcinogénese gástrica e determina agravamento do prognóstico. Manifesta-se igualmente em cerca de um terço dos polipos gástricos. Relaciona-se com síndromas familiares.

Vários autores verificaram que a expressão aumentada de p53 no cancro gástrico se associa a maior

agressividade das neoplasias e a menor sobrevivência dos doentes.

A expressão de p53 pode ser utilizada para seleccionar os doentes em que é previsível a resposta à quimioterapia adjuvante ou neo-adjuvante. A expressão positiva relaciona-se com diminuição da resposta à quimioterapia.

O valor prognóstico da metastização ganglionar e da relação com os gânglios ressecados tem sido posta em ênfase. A expressão de p53 associa-se à **metastização ganglionar** mesmo nos tumores com dimensão inferior a 5cm e nas situações de “early gastric cancer”. Nos tumores avançados a expressão de p53 se relaciona-se com a categoria pN do sistema japonês.

No nosso estudo considerámos dois grupos principais: tumores p53(-) e tumores p53(+). Dentro destes considerámos também os que manifestavam sobre-expressão de p53 superior a 15%.

No presente estudo verificámos que a maioria dos tumores da série em análise, ou seja 29 (58%) manifestavam expressão de p53 por imunocitoquímica – tumores p53(+). Por outro lado, em 21 (42%) não se observou expressão de p53 – tumores p53(-).

Os tumores com maior expressão de p53 tendiam a ter uma localização mais proximal.

Analisando a dimensão, verificámos que nos tumores p53(-) se identificavam 57,1% com mais que 5cm, enquanto nos tumores p53(+) a percentagem subia para 72,4%.

Nos tumores p53(-) predominava o tipo histológico difuso ou misto, que representava 61,9%, enquanto nos tumores com baixa expressão a distribuição dos dois tipos era semelhante (50%) e nos tumores com sobre-expressão de p53 havia um predomínio do tipo intestinal (60% dos casos).

A invasão em profundidade era menos marcada nos tumores p53(-), visto que o somatório dos níveis de invasão mais favoráveis T1+T2, ocorria em 38% dos tumores p53(-) e em 27,5% dos tumores p53(+). Considerando os níveis com maior invasão em profundidade T3+T4, estes verificavam-se em 61,9% dos tumores p53(-) e em 72,4% dos tumores p53(+).



A **metastização ganglionar** verificava-se em menor percentagem nos tumores p53(-), ou seja 57,4% enquanto nos tumores p53(+) ocorria em 79,3% dos casos.

O **número de gânglios** invadidos era maior nos tumores p53(+). Quando considerámos os estadios N da Classificação UICC que representam um maior número de gânglios invadidos, ou seja N2+N3, verificámos que se registavam em 23,8% dos tumores p53(-) e em 51,7% dos tumores p53(+).

A relação entre a expressão de p53 e a metastização ganglionar tem sido posta em evidência em vários estudos. Como aspecto original estudámos a relação com as cadeias ganglionares distais.

A invasão das **cadeias ganglionares distais** era mais frequente nos tumores p53(+). Nos tumores p53(-), as estações distais da Classificação Japonesa estavam invadidas em 28,6%. Nos tumores p53(+) a metastização das cadeias distais ocorria em 62,1% dos casos.

A relação entre expressão aumentada de p53 e a metastização ganglionar distal revelou-se estatisticamente significativa ($p=0.019$).

Analisando a metastização ganglionar no sub-grupo dos tumores com expressão superior a 15% verificámos que ela ocorria em 73,3% dos casos, que a metastização em grande número de gânglios (N2+N3 – classificação UICC) ocorria em 53,3% e que a invasão das cadeias ganglionares distais (classificação Japonesa) ocorria em 66,7%.

A classificação no Estadio **TNM** mostra-nos que os tumores p53(-) estavam incluídos nos tumores de melhor prognóstico, nos Estadios I e II, em 42,8% dos casos. Nos tumores p53(+) a inclusão nos estadios de melhor prognóstico ocorria em 31% dos casos.

Quando considerámos os tumores com pior prognóstico, em Estadio IV, verificamos que nos tumores p53(-) esta situação correspondia a 38%, enquanto nos p53(+) correspondia a 58,6%.

Em consequência, verificámos que os resultados do nosso estudo, comparados com a literatura referenciada, evidenciam o valor prognóstico da expressão de p53 em relação à profundidade de invasão da parede gástrica, à incidência de metastização ganglionar, ao número de gânglios invadidos e à metastização das estações ganglionares distais e ao estadio TNM.

A desagregação do sub-grupo de tumores com expressão de p53 superior a 15% detectou um ligeiro aumento da metastização ganglionar distal.

CONCLUSÃO

A expressão de p53 acompanha-se de indicadores de mau prognóstico. Assim, os tumores que expressam p53 por imuno-citoquímica tendem a ter localização mais proximal, maiores dimensões, maior invasão em profundidade da parede gástrica, maior percentagem de casos com metastização ganglionar, metastização de maior número de gânglios de acordo com a classificação UICC e mais frequente metastização das cadeias ganglionares distais de acordo com a classificação japonesa.

A relação com a metastização das cadeias ganglionares distais (segunda estação ganglionar ou superior) atinge significância estatística, com $p=0.019$.

Na presente série, a expressão positiva de p53 mutante é um indicador do estado de metastização ganglionar, em particular das cadeias distais. Se estes resultados puderem ser confirmados em séries mais volumosas, poderá identificar doentes com metastização ganglionar extensa. Em consequência, será um factor a considerar nas opções terapêuticas, em particular no que respeita à indicação para terapêutica neo-adjuvante e à extensão da dissecação ganglionar.

Tanto quanto é possível saber, este é o primeiro estudo que relaciona a expressão de p53 com a metastização das cadeias ganglionares distais.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 McLoughlin JM. Adenocarcinoma of the stomach: a review. BMC proceedings. 2004;17:391-99
- 2 Kesley R, Guittmann G, Mello E. Linfadectomia do ligamento hepatoduodenal: estação 12. In: Eduardo Linhares, Laercio Lourenço, Takeshi Sano. Atualização em cancer gástrico, 293-02. Tecmedd, São Paulo, 2005.
- 3 Potecá T, Potecá A, Sajin M et al. Biological prognostic parameters in gastric carcinomas. Chirurgia (Bucur). 2014;109:347-54
- 4 Thuler LC. Situação atual do câncer de estômago no Brasil. In: Eduardo Linhares, Laercio Lourenço, Takeshi Sano. Atualização em cancer gástrico, pg. 23-25. Tecmedd, São Paulo, 2005.
- 5 Dilley P, Bennett M. Pathology of benign, malignant and premalignant oesophageal and gastric tumors. In S. Michael Griffin, Simon A Raimes (eds). Upper Gastrointestinal Surgery. London. W.B.Saunders. 2001.
- 6 Siewert JR, Sendler A. The current management of gastric cancer. Advances in Surgery. 1999; 33: 69-93.
- 7 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2014; 136:E359-E386
- 8 Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, Roder JD. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the german gastric cancer study. Ann Surg. 1998; 228: 449-61.
- 9 Joyce W, Shams R, Nadia S. Prognostic Impact of Lymph Node Retrieval and Ratio in Gastric Cancer: a U.S. Single Center Experience. J Gastrointest Surg. 2013;17:2059-2066.
- 10 J.-T Hsu, C.-J. Lin, C.-M. Sung et al. Prognostic significance of examined lymph nodes in node-negative gastric adenocarcinoma. EJSO. 2013;39:1287-1293.
- 11 Chen GX, Zheng LH, Liu SY et al. rAd-p53 enhances the sensitivity of human gastric cancer cells to chemotherapy. World J Gastroenterol. 2011; 17: 4289-97.
- 11 Pelengaris S, Khan M. The barriers to cancer. Regulation of growth. In Pelengaris S, Khan M. The molecular Biology of Cancer. Oxford. Blackwell Publishing, 2006.
- 12 Assumpção PP, Burbano RR. Genética e Cancer Gástrico. In: Eduardo Linhares, Laercio Lourenço, Takeshi Sano. Atualização em cancer gástrico, pg. 95-107. Tecmedd, São Paulo, 2005.
- 13 Huang SP, Wu MS, Shun CT, et al. Tumor angiogenesis increases with nuclear p53 accumulation in gastric carcinoma. Hepatogastroenterology. 2002; 49: 1453-56.
- 14 Fondevila C, Metges JP, Pera M et al. p53 and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric cancer. Br J Cancer. 2004; 90: 206-15.
- 15 Lim J H, Lee DH, Shin CM et al. Clinicopathologic features and surgical safety of gastric cancer in elderly patients. J Korean Med Sci – 2014; 29: 1639-45.
- 16 Masciari S, Dewanwala A, Stoffel EM et al. Gastric cancer in individuals with Li-Fraumeni syndrome. Genet Med. 2011; 13: 651-7.
- 17 Jang BG, Kim WH. Molecular pathology of gastric carcinoma. Pathobiology. 2011; 78:302-10.
- 18 Busutil R A, Zapparoli GV, Haupt S. et al. Role of p53 in the progression of gastric cancer. Oncotarget. 2014. Sept. 3 (Epub)
- 19 André AR, Ferreira MV, Mota RM et al. Gastric adenocarcinomas and helicobacter pylori: correlation with p53 mutation and p27 immunoeexpression. Cancer Epidemiol. 2010; 34: 618-25.
- 20 Buti L, Spooner E, Van der Veen AG et al. Helicobacter pylori Cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. Proc Natl Sci USA. 2011; 108: 9238-43.
- 21 Coopmbs N, Sompallae R, Olbermann P et al. Helicobacter pylori affects the cellular deubiquitinase USP7 and ubiquitin-regulated components TRAF6 and the tumour suppressor p53. Int J Med Microbiol. 2011; 301:213-24.
- 22 Ruggiero P. Helicobacter pylori infection: what's new. Curr Opin Infect Dis. 2012; 25: 337-44
- 23 Wei J, Noto JM, Zarker E. Bacterial CagA protein induces degradation of p53 protein in a p14ARF-dependent manner. Gut. 2014. Jul 20 (Epub).
- 24 Chang KH, Kwon JW, Kim BS et al. p53 overexpression in gastric adenocarcinoma with *helicobacter pylori* infection. Yonsei Med J. 1997; 38: 117-24.
- 25 Lan J, Xiong YY, Lin YX et al. Helicobacter pylori infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation. World J Gastroenterol. 2003;9:54-8
- 26 Zhang XF, Huang CM, Zheng CH et al. Surgical treatment and prognosis of gastric cancer in 2,613 patients. World J Gastroenterol. 2004; 10: 3405-08.
- 27 Shun CT, Wu MS, Lin JT, Chen SY et al. Relationship of p53 and c-erb-B2 expression to histopathological features, *Helicobacter pylori* infection and prognosis in gastric cancer. Hepatogastroenterology. 1997; 44: 604-09.
- 28 Wu MS, Shun CT, Sheu JC et al. Overexpression of mutant p53 and c-erb-B2 proteins and mutations of the p15 and p16 genes in human gastric carcinoma: with respect to histological subtypes and stages. J Gastroenterol Hepatol. 1998; 13: 305-10.
- 30 Feng CW, Li Dong Wang, LianHua Jiao et al. Expression of p53, inducible nitric oxide synthetase. BMC Cancer. 2002; 2-8
- 31 Sugai T, Habano W, Nakamura S et al. Analysis of genetic alterations associated with DNA diploidy, aneuploidy and multiploidy in gastric cancers. Oncology. 2005; 68: 548-57.
- 32 Macdonald F, Ford CHJ. Oncogenes. In: Macdonald F, Ford CHJ Oncogenes and Tumor Suppressor Genes, pg. 1-16. Bios Scientific Publishers, Oxford, 1991.



- 33 Lee HK, Lee HS, Yang HK et al. Prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in gastric cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2003; 18: 518-25.
- 34 Karim S, Ali A. Correlation of p53 over-expression and alteration in p53 gene detected by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism in adenocarcinoma of gastric cancer patients from India. *World J Gastroenterol.* 2009; 15: 1381-7.
- 35 Chen BF, Marrogi AJ, Freeman SM, Clejan S. Gastric carcinoma: recent issues in prognostic factors. *J La State Med Soc.* 1995; 147: 138-45.
- 36 Zhang ZF, Karpch MS, Lawers GY et al. Risk factors and p53 nuclear overexpression in early stage intestinal-type adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Detect Prev.* 1995; 19: 156-64.
- 37 Sugai T, Nakamura S, Uesugi N et al. Role of DNA aneuploidy, overexpression of p53 gene product and cellular proliferation in the progression of gastric cancer. *Cytometry.* 1999; 38: 111-17.
- 38 Silva TC, Leal MF, Calcagno DQ et al. hTERT, MYC and p53 deregulation in gastric preneoplastic lesions. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12: 85
- 39 Trakal E, Guidi A, Butti AL et al. Detection of the risk of adenocarcinoma in Barrett's esophagus by means of tumor markers (p53 and Ki67). *ActaGastroenterol Latinoam.*;2010; 40:211-5.
- 40 Tytgat GN. Recent developments in gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus: ANNO 2012. *J Dig Dis.* 2012; 13: 291-5
- 41 Romiti A, Moretti A, Vecchione A et al. Analysis of p53 expression in precancerous and malignant gastric mucosa. *Oncol Rep.*1998; 5: 109-13.
- 42 Nimura H, Takayama S. Clinicopathological study of background gastric mucosa during long-term conservative maintenance therapy for intractable peptic ulcer. *J Gastroenterol.*1999;34:18-27
- 43 Takeno S, Noguchi T, Kikuchi R et al. Analysis of early gastric cancer with submucosal invasion: surgical management and possibility to schedule less invasive surgery. *Ann SurgOncol.* 2001; 8: 605-10.
- 44 Lin JT, Wu MS, Shun CT et al. Occurrence of microsatellite instability in gastric carcinoma is associated with enhanced expression of erbB-2 oncoprotein. *Cancer Res.* 1995; 55: 1428-30.
- 45 Ojima H, Fukuda T, Nakajima T, Nagamachi Y. Infrequent overexpression of p53 protein in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 1997; 88: 262-66.
- 46 Lee WJ, Shun CT, Hong RL et al. Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastric cancer. *Br J Surg.* 1998; 85: 1138-42.
- 47 Conde AR, Martins G, Saraiva C et al. Association of p53 instability with the glutathione S-transferase null genotype in gastric cancer in the Portuguese population. *J ClinPatholMolPathol.* 1999; 52: 131-34.
- 48 Azarhoush R, Keshtkar AA, Amiriani T, Kazemi-Nejad V. Relationship between p53 expression and gastric cancers in cardia and antrum. *Arch Iran Med.* 2008; 11: 502-6.
- 49 Bonelli P, Tucillo FM, Calemma R et al. Changes in the gene expression profile of gastric cancer cells in response to ibuprofen: a gene pathway analysis. *Pharmacogenomics.*2011; 11:412-28.
- 50 Oliveira C, Ferreira P, Nabais S, et al E-Cadherin (CDH1) and p53 rather than SMAD4 and Caspase-10 germline mutations contribute to genetic predisposition in Portuguese gastric cancer patients. *Eur J Cancer.* 2004; 40: 1897-03.
- 51 Yokobori T, Mimori K, Iwatsuki M et al. p53-Altered FBXW7 expression determines poor prognosis in gastric cancer cases. *Cancer Res.* 2009; 69: 3788-94.
- 52 Ye YW, Dong RZ, Zhou Y et al. Prognostic analysis of familial gastric cancer in Chinese population. *J SurgOncol.*2011; 104: 76-82.
- 53 Sakurai S, Sano T, Maeshima A. Gastric adenoma-carcinoma sequence with special reference to p53 and Ki-ras gene alterations. *Virchows Arch.* 1995; 427: 119-24.
- 54 Sakurai S, Sano T, Nakajima T. Clinicopathological and molecular biological studies of gastric adenomas with special reference to p53 abnormality. *Pathol Int.* 1995; 45: 51-57.
- 55 Nogueira A M F, Carneiro F, Seruca R, et al. Microsatellite instability in hyperplastic and adenomatous polyps of the stomach. *Cancer.* 2000; 86: 1649-56
- 56 Kolodziejczyk P, Yao T, Oya M et al. Long-term follow-up study of patients with gastric adenomas with malignant transformation. An immunohistochemical analysis. *Cancer.*1994;74:2896-07.
- 57 Carneiro F, David L, Seruca R, et al. Hyperplastic polyposis and diffuse carcinoma of the stomach. A study of a family. *Cancer.* 1993; 72: 323-29.
- 58 Wurl P, Weigmann F, Meyer A et al. Detection of p53 autoantibodies in sera of gastric cancer patients and their prognostic relevance. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32: 1147-51
- 59 Shiota G, Ishida M, Kawasaki H et al. Clinical significance of serum p53 antibody in patients with gastric cancer. *Res CommunMolPathol-Pharmacol.* 1998; 99: 41-51.
- 60 Maehara Y, Tomoda M, Hasuda S et al. Prognostic value of p53 protein expression for patients with gastric cancer-a multivariate analysis. *Br J Cancer.* 1999; 79: 1255-61.
- 61 Maeta M, Saito H, Oka S, et al Mutated p53 in tumors, mutant p53 and p53-specific antibodies in the circulation in patients with gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2000; 19: 489-95.
- 62 Wang JY, Hsieh JS, Chen CC et al. Alterations of APC, c-met and p53 genes in tumor tissue and serum of patients with gastric cancers. *J Surg Res.* 2004; 120: 242-48.



- 63 Nakajima K, Suzuki T, Shimada H et al. Detection of preoperative serum anti-p53 antibodies in gastric cancer. *Tumor Biol.* 1999; 20: 147-52.
- 64 Wu CW, Lin YY, Chen GD et al. Serum anti-p53 antibodies in gastric adenocarcinoma patients are associated with poor prognosis, lymph node metastasis and poorly differentiated nuclear grade. *Br J Cancer.* 1999; 80:483-88.
- 65 Lazar D, Taban S, Sporea I et al. The immunohistochemical expression of the p53-protein in gastric carcinomas. Correlation with clinicopathological factors and survival of patients. *Rom J MorpholEmbryol.* 2010; 51: 249-57.
- 66 Tang H, Hokita S, Baba M et al. Comparison of p53 expression in proximal and distal gastric cancer: histopathological correlation and prognostic significance. *Ann Surg Oncol.* 1997; 4: 470-74.
- 67 Wei K, Jrang L, Wei Y et al. The prognostic significance of p53 expression in gastric cancer: a meta-analysis. *J. Cancer Reser Clin Oncology.* 2014. Oct. 15 (Epub).
- 68 Lin JT, Wu MS, Shun CT et al. Occurrence of microsatellite instability in gastric carcinoma is associated with enhanced expression of erbB-2 oncoprotein. *Cancer Res.* 1995; 55: 1428-30.
- 69 Takeno S, Noguchi T, Shigeo Y et al. Analysis of the survival period in resectable stage IV gastric cancer. *Ann SurgOncol.* 2001; 8: 215-21.
- 70 Wu MS, Shun CT, Sheu JC et al. Overexpression of mutant p53 and c-erb-B2 proteins and mutations of the p15 and p16 genes in human gastric carcinoma: with respect to histological subtypes and stages. *J GastroenterolHepatol.* 1998; 13: 305-10.
- 71 Lee HK, Lee HS, Yang HK et al. Prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in gastric cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2003; 18: 518-25.
- 72 Li GC, Zhang Z, Ma XJ et al. Are biomarkers correlated with recurrence patterns in patients with resectable gastric adenocarcinomas. *Mol Biol Rep.* 2012;39:399-405.
- 73 Maeda K, Kang SM, Onoda N. Expression of p53 and vascular endothelial growth factor associated with tumour angiogenesis and prognosis in gastric cancer. *Oncology.* 1998; 55: 594-99.
- 74 Fondevila C, Metges JP, Pera M et al. p53 and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric cancer. *Br J Cancer.* 2004; 90: 206-15.
- 75 Gryco M, Pryczynicz A, Guzinska-UutymowiczK, Kamocki Z et al. Immunohistochemical assessment of apoptosis-associated proteins: p53, Bcl-xL and Bak in gastric cancer cells in correlation with clinical and pathomorphological factors. *Adv Med Sci.* 2012; 1; 57: 77-83
- 76 Lee T-P, Leung W K, Chan M W Y et al. Detection of gene promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma. *Clinic Cancer Res.* 2002; 8: 1761-66.
- 77 Lee MA, Hong YS, Kang JH et al. Detection of Epstein-Barr virus by PCR and expression of LMP1, p53, CD 44 in gastric cancer. *Korean J Intern Med.* 2004; 19: 43-47.
- 78 Lee WJ, Shun CT, Hong RL et al. Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastric cancer. *Br J Surg.* 1998; 85: 1138-42.
- 79 Liu XP, Tsushimi M, Kawauchi S et al. Expression of p21 and p53 proteins in gastric carcinoma: its relationships with cell proliferation activity and prognosis. *Cancer Lett.* 2001; 170: 183-89.
- 80 Takeno S, Noguchi T, Shigeo Y et al. Analysis of the survival period in resectable stage IV gastric cancer. *Ann SurgOncol.* 2001; 8: 215-21.
- 81 Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Baba H et al. Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasizing to lymph nodes. *Br J Cancer.* 1993; 67: 589-93.
- 81 Radovanovic D, Knezevic M, Canovic D et al. Correlation between p53 expression and clinical-pathological characteristics of gastric cancer. *Vojnosanit Pregl.* 2011; 68: 832-6.
- 82 Kim JP, Oh ST, Hwang Ts et al. The prognostic significance of c-erb-B2 and p53 protein expression in gastric carcinoma-a multivariate analysis of prognostic factors. *J Korean Med Sci.* 1994; 9: 248-53.
- 83 Starzinska T, Markiewski M, Domagala W et al. The clinical significance of p53 accumulation in gastric carcinoma. *Cancer.* 1996; 77: 2005-12.
- 84 Maehara Y, Tomoda M, Hasuda S et al. Prognostic value of p53 protein expression for patients with gastric cancer-a multivariate analysis. *Br J Cancer.* 1999; 79: 1255-61.
- 85 Sanz-O J, Steinberg SM, Moro E et al. Comparative study of tumor angiogenesis and immunohistochemistry for p53, c-erb-B2, c-myc and EGFR as prognostic factors in gastric cancer. *HistolHistopathol.* 2000; 15: 455-62.
- 86 Takeno S, Noguch T, Kikuchi R et al. Analysis of early gastric cancer with submucosal invasion: surgical management and possibility to schedule less invasive surgery. *Ann SurgOncol.* 2001; 8: 605-10.
- 87 Graziano F, Cascinu S, Catalano G et al. Potential role and chronology of abnormal expression of the deleted in colon cancer (DCC) and the p53 proteins in the development of gastric cancer. *BMC Cancer.* 2001; 1:9.
- 88 Joo M, Lee HK, Kang YK. Expression of E-cadherin, beta-catenin, CD44s and CD44v6 in gastric adenocarcinoma: relationship with lymph node metastasis. *Anticancer Res.* 2003; 23: 1581-88.
- 89 Kim JP, Oh ST, Hwang Ts et al. The prognostic significance of c-erb-B2 and p53 protein expression in gastric carcinoma-a multivariate analysis of prognostic factors. *J Korean Med Sci.* 1994; 9: 248-53.
- 90 Ji F, Jin X, Jiao CH et al. FAT10 level in human gastric cancer and its relation with mutant p53 level, lymph node metastasis and TNM staging. *World J Gastroenterol.* 2009; 15: 2228-33.
- 92 Shiota G, Ishida M, Kawasaki H et al. Clinical significance of serum p53 antibody in patients with gastric cancer. *Res CommunMolPathol-Pharmacol.* 1998; 99: 41-51.



- 93 Takeda Y, Yashima K, Hayashi A et al. Expression of AID, p53 and Mlh1 proteins in endoscopically resected differentiated-type early gastric cancer. *World J gastrointest Oncol.* 2012;4:131-7
- 94 Pan W, Ishii H, Ebihara Y, Gobe G. Prognostic use of growth characteristics of early gastric cancer and expression patterns of apoptotic, cell proliferation and cell adhesion proteins. *J SurgOncol.* 2003; 82: 104-10.
- 95 Kunisaki C, Shimada H, Takahashi M et al. Prognostic factors in early gastric cancer. *Hepatogastroenterology.*2001;48:294-98
- 96 Kanai T, Konno H, Baba M et al. p53 overexpression and proliferative activity do not correlate with lymph node metastasis in early gastric cancer. *EurSurg Res.* 1997; 29: 35-41.
- 97 Kakeji Y, Maehara Y, Sugimachi K et al. Long-term survival of patients with stage IV gastric carcinoma. *Cancer.* 1998; 82:2307-11
- 98 Takeno S, Noguchi T, Shigeo Y et al. Analysis of the survival period in resectable stage IV gastric cancer. *Ann SurgOncol.* 2001; 8: 215-21.
- 99 Kunisaki C, Shimada H, Yamaoka H et al. Indications for paraortic lymph node dissection in gastric cancer with paraaortic lymph node involvement. *Hepatogastroenterology.*2000;47:586-89.
- 100 Sasako M, Takeshi S, Yamamoto S et al. D2 lymphadenectomy alone or with para-aortic nodal dissection for gastric cancer. *N Engl J Med.* 2008;359:453-62.
- 101 Seruca R, David L, Castedo S, et al. p53 alterations in gastric carcinoma: a study of 56 primary tumors and 204 metastases. *Cancer Genet Cytogenet.* 1994; 75: 45-50.
- 102 Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Baba H et al. Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasizing to lymph nodes. *Br J Cancer.* 1993; 67: 589-93.
- 103 Victorzon M, Nordling S, Haglund C, et al. Expression of p53 protein as a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Eur J Cancer.* 1996; 32: 215-20.
- 104 Gabbert HE, Muller W, Schneiders A, et al. The relationship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastric carcinoma. *Cancer.* 1995; 76: 720-26.
- 105 Nakata B, Chung KH, Maeda K, et al. p53 protein overexpression as a predictor of the response to chemotherapy in gastric cancer. *Surg Today.* 1998;28:595-98
- 106 Boku N, Chin K, Hosokawa K et al. Biological markers as a predictor for response and prognosis of unresectable gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil and cis-platinum. *Clin Cancer Res.* 1998; 1469-74.
- 107 Kikuyama S, Inada T, Shimizu K et al. p53, bcl-2 and thymidine phosphorylase as predictive markers of chemotherapy in patients with advanced and recurrent gastric cancer. *Anticancer Res.* 2001; 21: 2149-53.
- 108 Fondevila C, Metges JP, Pera M et al. p53 and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric cancer. *Br J Cancer.* 2004; 90: 206-15.
- 109 Cheng LL, Itahana Y, Lei ZD et al. TP53 Genomic Status Regulates Sensitivity of Gastric Cancer Cells to the Histone Methylation Inhibitor 3-deazaneplanocin A (DZNep). *Clin Cancer Res.* 2012; 5 (Epub ahead of print)
- 110 Zha Y, Cun Y, Zhang Q et al. Prognostic value of Expression of Kit67, p53, Tpolla and GSTP1 for Curatively Resected Advanced Gastric Cancer Patients Receiving Adjuvant Paclitaxel plus Capecitabine Chemotherapy. *Hepatogastroenterology.*2012; 59: 1327-32.
- 112 Kimura H, Konishi K, Kaji M et al. Apoptosis, cell proliferation and expression of oncogenes in gastric carcinomas induced by preoperative administration of 5-fluoracil. *Oncol Rep.* 2000;7:971-76
- 113 Bataille F, P Rumele, W Dietmair et al. Alterations in p53 predict response to preoperative high dose chemotherapy in patients with gastric cancer. *MolPathol.* 2003; 56: 286-92.
- 114 Sirak I, Petera J, Hatlova J et al. Expression of p53, p21 and p16 does not correlate with response to preoperative chemoradiation in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology.*2009; 56: 1213-8.
- 115 Sousa J P, Silva F, David L, et al Clinicopathological significance and survival influence of p53 protein expression in gastric carcinomas. *Histopathology.*2004; 44: 323-31.
- 116 Brito D et al (Grupo de Investigação de Cancro Digestivo). Recomendações para o diagnóstico e tratamento do adenocarcinoma gástrico. *Rev Port Cir.* 2014; (II série) 28: 45-56.

Correspondência:

CALDEIRA FRADIQUE

e-mail: afradique@chlc.min-saude.pt

Data de recepção do artigo:

27/02/2012

Data de aceitação do artigo:

27/07/2015

