



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ELISEU JOSÉ FLEURY TAVEIRA

**Caracterização clínico-patológico e densidade de
mastócitos em pacientes com câncer gástrico
avançado**

Goiânia
2014

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

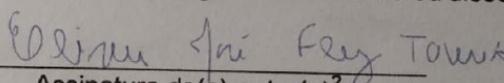
Nome completo do autor: Eliseu José Fleury Taveira

Título do trabalho: Caracterização clínico-patológico e densidade de mastócitos em pacientes com câncer gástrico avançado.

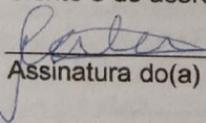
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo Marize Campos Valadares
Profª Dra. Adjunto de Toxicologia
Faculdade de Farmácia / UFG


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 21 / 01 / 2020

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

ELISEU JOSÉ FLEURY TAVEIRA

**Caracterização clínico-patológico e densidade de
mastócitos em pacientes com câncer gástrico
avançado**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marize Campos Valadares

Goiânia

2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Fleury Taveira, Eliseu José
Caracterização clínico-patológico e densidade de mastócitos em pacientes com câncer gástrico avançado [manuscrito] / Eliseu José Fleury Taveira. - 2014.
LXXVI, 76 f.

Orientador: Profa. Dra. Profª Marize Campos Valadares; co orientadora Dra. Prof Alane Pereira Cortez.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Goiânia, 2014.
Bibliografia. Anexos. Apêndice.
Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. câncer gástrico . 2. Epidemiologia câncer gástrico. I. Campos Valadares, Profª Marize, orient. II. Título.

CDU 61

Ata da Defesa de Dissertação de Mestrado realizada por Eliseu José Fleury Taveira. Aos sete dias do mês de Outubro do ano de 2014, às 08:00 horas, reuniu-se no Museu Antropológico/UFG a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada: "Avaliação do perfil clínico-patológico e densidade de mastócitos de pacientes com câncer gástrico em um centro de referência do Estado de Goiás", como parte de requisitos necessários à obtenção do título de Mestre, área de concentração Patologia, Clínica e Tratamento das Doenças Humanas. A Presidente da Comissão julgadora, Profa. Dra. Marize Campos Valadares, iniciando os trabalhos concedeu a palavra ao candidato, para exposição em até 50 minutos do seu trabalho. A seguir, a Senhora Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente aos Examinadores, os quais passaram a arguir o candidato durante o prazo máximo de 30 minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o candidato aprovado(a) ou reprovado(a).

Banca Examinadora

Profa. Dra. Marize Campos Valadares - Presidente
Profa. Dra. Aline Carvalho Batista - Membro
Profa. Dra. Alane Pereira Cortez - Membro
Prof. Dr. Orlando Mithornem da Mota - Suplente

Aprovado(a)/Reprovado(a)

Aprovado
Reprovado
Aprovado

Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o candidato Eliseu José Fleury Taveira Habilitado(a) () Não habilitado(a) (). Nada mais havendo a tratar, eu Profa. Dra. Marize Campos Valadares, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

Profa. Dra. Marize Campos Valadares - Presidente
Profa. Dra. Aline Carvalho Batista - Membro
Profa. Dra. Alane Pereira Cortez - Membro
Prof. Dr. Orlando Mithornem da Mota - Suplente

Assinatura

Assinatura
Assinatura
Assinatura

A banca examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

Caracterização clínico-patológica e densidade de mastócitos em pacientes com câncer gástrico
avaliado

Eliseu José Fleury Taveira
Discente: Eliseu José Fleury Taveira

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Universidade Federal de Goiás

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

Aluno: ELISEU JOSÉ FLEURY TAVEIRA

Orientadora: PROF^a. DR^a. MARIZE CAMPOS VALADARES

Membros:

1. Marize Campos Valadares

2. Aline Carvalho Batista

3. Alane Pereira Cortez

OU

4. Orlando Milhomem da Mota

5.

Data: 07/10/2014

Dedicatória

A minha Família , grande incentivadora e motivadora durante todo processo científico.

Agradecimentos

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás (UFG), e as funcionárias, pela colaboração e trabalho prestado.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de auxílio financeiro concedido a este projeto.

Ao Hospital Araujo Jorge , ao CEP (Centro de Ensino e Pesquisa) e ao Registro de Câncer dessa mesma instituição que proporcionou a realização desse estudo.

A equipe do laboratório FARMATEC que me ensinou e me recebeu com muito carinho

Ao laboratório de Patologia Bucal da Fac de Odontologia - UFG em nome da ProfaDra Aline Carvalho que propiciou a realização de parte do trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Câncer gástrico: conceitos, incidência e etiologia	17
2.2 Fatores de Risco para Carcinoma Gástrico	23
2.3 Fatores socioeconômicos	27
2.4 Fatores associados ao tabaco e álcool	28
2.5 Fatores associados à dieta	28
2.6 Fatores associados ao vírus Epstein-Barr	29
2.7 Fatores associados ao hospedeiro: Polimorfismo Gênico	29
2.8 Fatores associados ao índice de massa corpórea e atividade física	30
2.9 Fatores associados a genética familiar	30
2.10 Outros fatores associados ao câncer gástrico	31
2.11 Fatores Hormonais	31
2.12 História Natural e Prognóstico do Câncer Gástrico	32
2.13 Tratamento	33
2.14 Aspectos moleculares do câncer gástrico	34
2.15 O papel do microambiente tumoral e a patogênese do câncer gástrico	36
2.15.1 O papel dos linfócitos no microambiente tumoral	36
2.15.2 O papel dos mastócitos no microambiente tumoral	37
2.15.3 Mastócitos e o câncer gástrico	42
3. OBJETIVO	43
3.1 Objetivos específicos	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1 Materiais	44
4.2 Métodos	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
5.1 Coleta dos dados do perfil epidemiológico e anatomopatológico dos protuários selecionados	36
5.2 Avaliação da densidade de mastócitos em carcinoma gástrico	37
6. CONCLUSÕES	53
7. REFERÊNCIAS	54

TABELAS

Tabela 1: Estadiamento (AJCC, 2010).	19
Tabela 2: Estadiamento do câncer gástrico baseado na classificação TNM (AJCC, 2010).	20
Tabela 3: Sobrevida de 5 anos após cirurgia Segundo estadiamento de tumores gástricos (Wang et al., 2012).	21
Tabela 4: Mediadores mastocitários e efeitos fisiopatológicos (adaptado de Conti et al., 2007).	39
Tabela 5: Critérios de exclusão dos 139 prontuários avaliados no Hospital Araújo Jorge de Goiânia de 2005 a 2009.	43
Tabela 6: Incidência do tipo histológico nas amostras incluídas no estudo a partir de pacientes selecionado no Hospital Araújo Jorge.	50
Tabela 7: Incidência (%) de cirurgias paliativas que foram realizadas em pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos no estudo.	51
Tabela 8: Análise comparativa dos dados clínico-patológicos e epidemiológicos relacionado a densidade de mastócitos (DM).	55

FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das regiões topográficas do estômago (adaptado de BOTTERWECK et al., 2000).	18
Figura 2: Patogenicidade do H.pylori (Polk & Peek, 2010).....	25
Figura 3: Carcinogenese molecular do H. pylori no câncer gástrico (Wadhwa et al., 2013).	20
Figura 4: Idade e prevalência (%) de cada faixa etária nos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.	47
Figura 5: Classificação da incidência (% encontrada) das amostras de acordo com a topografia do estômago dos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.	48
Figura 6: Incidência (%) dos diferentes graus de diferenciação dos adenocarcinomas gástricos nos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.	50
Figura 7: Cortes histológicos corados pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) e imunohistoquímica (IHQ) pelo método da estreptavidina-biotina peroxidase: (A) HE da região controle (margem livre) 40X, (B) HE do adenocarcinoma gástrico 40X, (C) IHQ da região controle 20X, (D) IHQ da região controle 40X e (E) IHQ do adenocarcinoma gástrico 40X.	53
Figura 8: Densidade de mastócitos (células/mm ²) encontrada nas amostras com adenocarcinoma (29 casos) e controle (18 casos). *p<0,05.	54

SIGLAS E ABREVIATURAS

CDH1	E-caderina
CGP	Câncer gástrico precoce
IC	Intervalo de confiança
H. Pylori	<i>Helicobacterpylori</i>
IL	Interleucina
MCD	Densidade de mastócito celular
SCF	Fator de células tronco
TNF	Fator de necrose tumoral
TME	Microambiente tumoral
TAM	Macrófagostumorisativados
Tregs	T reguladoras
VEGF	Fator de crescimento derivado do endotélio

Resumo

O câncer gástrico é a segunda causa mais comum de mortalidade relacionada ao câncer em todo mundo, principalmente devido a infecção crônica pela bactéria *Helicobacter pylori*. Investigações epidemiológicas, clínicas, patológicas e moleculares buscando um melhor entendimento destes tumores permitem estabelecer um melhor prognóstico para a doença bem como o desenvolvimento de melhores possibilidades terapêuticas. Em especial o microambiente tumoral tem sido estudado para melhor entender as vias de interação das neoplasias com o sistema imune. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento retrospectivo do perfil epidemiológico e anatomopatológico de pacientes com câncer gástrico em um hospital de Goiânia e avaliar aspectos patológicos, clínicos bem como a densidade de mastócitos em alguns casos selecionados. Para tanto, foram revisados 220 prontuários de pacientes com câncer gástrico avançado no período de 2005 a 2009 do hospital Araújo Jorge de acordo com critérios de inclusão estabelecidos. Coletou-se dados como sexo, idade, tipo histológico, grau de diferenciação, local de incidência do câncer de acordo com a topografia do estômago e cirurgias paliativas realizadas, para determinação do perfil-clínico patológico dos pacientes. Selecionou-se os blocos com a biópsia de alguns casos (29 casos) para corte e coloração das lâminas por imunohistoquímica e hematoxilina-eosina para avaliação da densidade de mastócitos presente nas amostras. Os resultados mostraram que a maioria dos pacientes (62,96%) eram do sexo masculino, sendo que a maioria dos casos de câncer gástrico foi encontrado em idosos com mais de 60 anos (62%). Os tumores localizaram-se preferencialmente no antro do estômago (32%) ou na região antro/corpo (28%). No que tange ao grau de diferenciação, a maioria (46%) dos tumores são de grau 3 (pouco diferenciados) e, com relação ao subtipo histológico, o tipo intestinal foi o mais prevalente totalizando 49,38% dos casos. Observou-se também que 52,38% dos pacientes fizeram a gastrectomia como cirurgia paliativa. Nos estudos de marcação dos mastócitos, os carcinomas apresentaram uma densidade significativamente menor de células mastocitárias quando comparado com o controle – margem livre de doença ($p=0,01$). Entretanto, não observou-se diferença na densidade de mastócitos para as diferentes idades, gênero tipo histológico. Houve diferença na topografia e grau de diferenciação. Estes estudos demonstraram a necessidade e a importância de se investigar o papel dos mastócitos nas regiões tumorais.

Palavras-chave: câncer gástrico, perfil clínico, perfil patológico, epidemiologia, mastócitos.

Abstract

Gastric cancer is the second most common cause of cancer-related mortality worldwide, mainly due to chronic infection by the bacteria *Helicobacter pylori*. Epidemiological, clinical, pathological and molecular investigations seeking a better understanding of these tumors may help establish a better prognosis for the disease and the development of better therapeutic possibilities. In particular the tumor microenvironment has been studied to better understand the ways of interacting with the immune system and neoplasms. Within this context, the aim of this study was a retrospective survey of the epidemiology and pathology of patients with gastric cancer in a hospital in Goiânia and evaluate pathological, clinical aspects as well as the density of mast cells in some selected cases. To do so, we reviewed medical records of 220 patients with advanced gastric cancer in the period 2005-2009 of Araújo Jorge Hospital according to established inclusion criteria. Data were collected as gender, age, histological type, grade of differentiation, site of cancer incidence according to the topography of the stomach and palliative surgeries performed to determine the clinical-pathological profile of patients. Blocks were selected with the biopsy some cases (29 cases) for cutting and staining of slides for immunohistochemistry and hematoxylin-eosin to evaluate the density of mast cells present in the samples. The results showed that most patients (62.96%) were males, with the majority of cases of gastric cancer has been found in elderly over 60 years (62%). Tumors were located preferably in the antrum of the stomach (32%) or the antrum / body region (28%). Regarding the degree of differentiation, the majority (46%) of the tumors are grade 3 (poorly differentiated) and, with respect to the histological subtype, the intestinal type was more prevalent totaling 49.38% of cases. It was also observed that 52.38% of patients underwent gastrectomy as palliative surgery. In studies of marking the mast cell carcinomas showed a significantly lower density of mast cells when compared to the control - the free margin of the disease ($p = 0.01$). However, no difference was observed in the density of mast cells for different ages, gender, histological type. Differences in topography and degree of differentiation. These studies demonstrated the necessity and the importance of investigating the role of mast cells in tumor regions.

1. Introdução

O câncer é um importante problema de saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo responsável por mais de seis milhões de óbitos a cada ano (FERLAY et al., 2011). O câncer gástrico é a quinta neoplasia mais frequente e a segunda em mortalidade. A grande maioria dos casos é diagnosticado em estágios avançados. O câncer gástrico avançado tem prognóstico ruim que se relaciona com fatores moleculares, genéticos além da localização anatômica do carcinoma. No estômago a neoplasia ocorre geralmente no antro em torno de 50-60% dos casos, na cárdia em aproximadamente 25% dos casos e o restante corpo e fundo. Existe um predomínio de tumores nos terços inferiores, embora nos últimos anos tem se descrito um aumento da incidência de tumores proximais (FERLAY et al., 2011). Como descrito anteriormente, fatores clínicos, patológicos e moleculares têm sido cada vez mais documentados, estudados e relacionados ao prognóstico da doença, (MEZHIR et al., 2011). Desta forma torna-se de grande importância conhecer a epidemiologia e aspectos clínico-patológicos para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e delineamento de estudos clínicos para tratamento quer seja ele adjuvante ou paliativo.

Neste contexto, o microambiente tumoral tem sido alvo de inúmeros estudos em vários tipos de tumores e mais recentemente na neoplasia do estômago. O estudo da interação das células do sistema imune com o câncer produz informações acerca de como o organismo reage a neoplasia e vice-versa, gerando uma nova perspectiva de conhecimento dentro da fisiopatologia e possíveis desenvolvimento de novos alvos e ou procedimentos terapêuticos (IARC, 2012).

A presença/influência dos macrófagos, linfócitos e mastócitos no microambiente tumoral têm sido estudados em relação ao crescimento ou não do tumor, angiogênese, apoptose, vias de sinalização, bem como a relação desses fatores com os aspectos clínicos e patológicos com resultados intrigantes e, em algumas vezes controversos (DALTON et al., 2012), (CROWTHER et al., 2001). Diante disto, são necessários maiores estudos direcionados a obtenção de dados que possam somar ao conhecimento estabelecido na literatura acerca da fisiopatologia do câncer gástrico.

O presente estudo tem como objetivo a análise retrospectiva de casos de câncer gástrico em um centro de referência em tratamento do câncer no Estado de Goiás, com

o intuito de traçar o perfil clínico-patológico da doença em nível regional, além de avaliar a densidade mastocitária no microambiente tumoral.

2. Revisão da Literatura

2.1 Câncer gástrico: conceitos, incidência, etiologia, estadiamento e histologia

O câncer gástrico é um grande problema de saúde pública, sendo a segunda causa de morte por câncer (FERLAY et al., 2011). Segundo dados do *Global Cancer Incidence* (GLOBOCAN, 2012) quase um milhão de novos casos de câncer de estômago foram estimados em 2012 (952 mil casos, 6,8% do total), tornando-se o quinto tumor maligno mais comum no mundo, depois do câncer de pulmão, mama, colorretal e próstata. Isto representa uma mudança substancial desde as primeiras estimativas, em 1975, quando o câncer de estômago foi a neoplasia mais comum. Mais de 70% dos casos (677.000 casos) ocorrem em países em desenvolvimento (456.000 nos homens, 221.000 em mulheres), e metade do total mundial ocorre na Ásia Oriental (principalmente na China). A Europa contribui com aproximadamente 15% do total da incidência e América central e do sul, com 7% do total (FERLAY et al., 2011). Taxas de incidência são cerca de duas vezes maior em homens que em mulheres (GLOBOCAN, 2012; WHO, 2012).

O câncer de estômago é a segunda principal causa de morte por câncer em ambos os sexos em todo o mundo (723 mil mortes, 8,8% do total). As maiores taxas de mortalidade estimadas estão na Ásia Oriental (24 por 100.000 nos homens, 9,8 por 100.000 em mulheres), a taxa mais baixa está na América do Norte (GLOBOCAN, 2012).

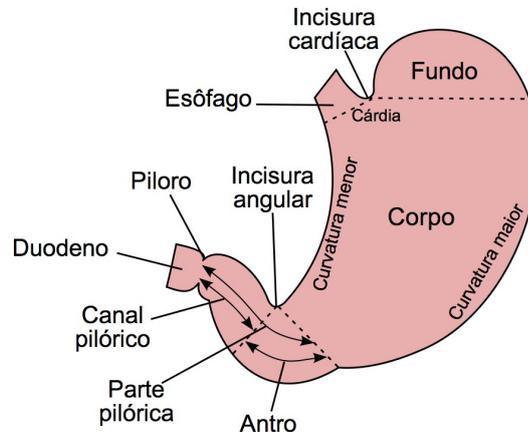
Altas taxas de mortalidade também estão presentes em ambos os sexos na Europa Central e Oriental, e na América Central e América do Sul. Dados nacionais do INCA (Instituto Nacional do Câncer, 2014), estimam incidência de 9,98 e 5,85 casos (sexo masculino e feminino respectivamente) para cada 100 mil habitantes no estado de Goiás.

A grande causa de morte relacionada ao câncer gástrico se deve, principalmente, ao diagnóstico tardio associado a um prognóstico ruim. Sendo assim,

em locais de alta incidência, geralmente é observado alta mortalidade (MARTEL et al., 2012).

Existe um interesse crescente para elucidar a distribuição epidemiológica do câncer gástrico pelo seu subtipo, em especial, fazendo distinção entre tumores proximais (localizado nas regiões da cárdia e fundo, Figura 1) e distais (localizados na região do antro, Figura 1). Esse interesse é parte de uma evidência de que essas duas categorias podem ter etiologias diferentes conforme relatos de McColl e colaboradores (2010). Também tem sido descrito que, tumores gástricos da cárdia têm sua incidência aumentada nas últimas décadas, contrastando com a incidência geral de câncer gástrico (DEVESSA et al., 1998; BOTTERWECK et al., 2000). Tumores da cárdia e de esôfago inferior, em sua grande maioria, são difíceis de serem distinguidos, o que implica em diferentes classificações e interpretação de resultados de acordo com cada país (BOTTERWECK et al., 2000), esses tumores proximais tem um prognóstico pior quando comparado a tumores distais, provavelmente porque guardam diferenças não só anatômicas mas também clinico-patológicas e moleculares conforme já descrito por Fan e colaboradores em 2013 e Piso e colaboradores em 2000.

Figura 1: Representação esquemática das regiões topográficas do estômago (adaptado de BOTTERWECK et al., 2000).



Dados populacionais do *Surveillance epidemiology and results program* (SEER) do *National Cancer Institute* (NCI) oferecem informações relacionadas à raça branca e negra e suas respectivas incidências, em comparação com sexo (NCI, 2010).

A necessidade de se classificar os casos de câncer em estádios baseia-se na constatação de que as taxas de sobrevivência são diferentes quando a doença está restrita ao órgão de origem ou quando ela se estende a outros órgãos. Estadiar um caso de neoplasia maligna significa avaliar o seu grau de disseminação. Para tal, há regras internacionalmente estabelecidas, as quais estão em constante aperfeiçoamento. O estágio de um tumor reflete não apenas a taxa de crescimento e a extensão da doença, mas também o tipo de tumor e sua relação com o hospedeiro. A classificação das neoplasias malignas em grupos obedece a diferentes variáveis: localização, tamanho ou volume do tumor, invasão direta e linfática, metástases à distância, diagnóstico histopatológico, produção de substâncias, manifestações sistêmicas, duração dos sinais e sintomas, sexo e idade do paciente, etc (YEGIN et al., 2014).

Diversos sistemas de estadiamento são concebidos, tendo por base uma ou mais das variáveis mencionadas. O sistema de estadiamento mais utilizado é o preconizado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC) e *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), denominado Sistema TNM (tamanho, linfonodo e metástase) de Classificação dos Tumores Malignos. Este sistema baseia-se na extensão anatômica da doença, levando em conta as características do tumor primário

(T), as características dos linfonodos das cadeias de drenagem linfática do órgão em que o tumor se localiza (N), e a presença ou ausência de metástases à distância (M). Estes parâmetros recebem graduações, geralmente de T0 a T4, de N0 a N3 e de M0 a M1, respectivamente (YEGIN et al., 2014) (Tabela 1, 2 e 3).

Tabela 1: Estadiamento de tumores gástricos (AJCC, 2010).

Classificação	Descrição
T	Tumor primário (grau de penetração da parede gástrica)
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1a	Tumor invade a lâmina própria ou muscular da mucosa
T1b	Tumor invade a submucosa
T2	Tumor invade a muscular própria
T3	Tumor penetra o tecido conjuntivo subseroso, mas não invade peritônio visceral ou estruturas adjacentes
T4a	Tumor invade serosa (peritônio visceral)
T4b	Tumor invade estruturas adjacentes
TX	Não avaliável
N	Gânglios linfáticos regionais
N0	Sem metástases linfodais
N1	Metástases em um a dois linfonodos
N2	Metástases em três a seis linfonodos
N3a	Metástases em sete a quinze linfonodos
N3b	Metástases em dezesseis ou mais linfonodos
NX	Não avaliável
M	Metástase a distância
M0	Ausência de metástase a distância
M1	Presença de metástase a distância

Tabela 2: Estadiamento do câncer gástrico baseado na classificação TNM (*Tumor – node-metastasis*) (AJCC, 2010).

Estádio Evolutivos	Grupos TNM correspondentes
Estadio 0	Tis, N0, M0
Estadio IA	T1, N0, M0
Estadio IB	T2, N0, M0
Estadio IIA	T1, N2, M0
	T2, N1, M0
	T3, N0, M0
Estadio IIB	T1, N3, M0
	T2, N2, M0
	T3, N1, M0
	T4, N0, M0
Estadio IIIA	T2, N3, M0
	T3, N2, M0
	T4, N1, M0
Estadio IIIB	T3, N3, M0
	T4, N2, M0
	T4, N1, M0
	T4b, N0, M0
Estadio IIIC	T4a, N3, M0
	T4b, N2, M0
Estadio IV	Qualquer T, Qualquer N, M1

Tabela 3: Sobrevida de 5 anos após cirurgia segundo estadiamento de tumores gástricos (WANG et al., 2012).

Estadiamento UICC	% de Sobrevida em 5 anos
Estadio 0	77,00
Estadio IA	72,00
Estadio IB	62,00
Estadio IIA	50,00
Estadio IIB	36,00
Estadio IIIA	25,00
Estadio IIIB	16,00
Estadio IIIC	10,00
Estádio IV	4,00

Do ponto de vista morfológico, o parênquima tumoral exhibe um grau variado de células. As dos tumores benignos, que são semelhantes e reproduzem o aspecto das células do tecido que lhes deu origem. As células dos tumores malignos perderam estas características, têm graus variados de diferenciação e, portanto, guardam pouca semelhança com as células que as originaram e são denominadas gradativamente em: bem diferenciados (G1), moderadamente diferenciados (G2) e pouco diferenciados (G3). Quando suas características são estudadas ao microscópio, veem-se células com alterações de membrana, citoplasma irregular e núcleos com variações da forma, tamanho e cromatismo. O número de mitoses expressa atividade da divisão celular. Isto significa dizer que, quanto maior a atividade proliferativa de um tecido, maior será o número de mitoses verificadas. No caso dos tumores, o número de mitoses está inversamente relacionado com o grau de diferenciação. Quanto mais diferenciado for o tumor, menor será o número de mitoses observadas e menor a agressividade do mesmo. Nos tumores benignos, as mitoses são raras e têm aspecto típico, enquanto que, nas neoplasias malignas, elas são em maior número e atípicas (WANG et al., 2014).

Dentre as neoplasias malignas que acometem o estômago, o adenocarcinoma corresponde a 90-95% delas. De acordo com a classificação de Lauren e colaboradores

(1965), que é baseada no sítio de origem do tumor e nas características patológicas da lesão, os adenocarcinomas gástricos podem ser classificados em dois tipos principais: o intestinal e o difuso. Esses dois tipos diferem em sua histologia, epidemiologia, patogenicidade, padrão genético e resposta clínica (LAUREN et al., 1965; HAMILTON & MELTZER, 2006, PANANI et al., 2008).

O padrão da doença também pode variar entre as populações. Nos países do Ocidente, o prognóstico dos pacientes com câncer gástrico é pior do que dos pacientes asiáticos. Esses dados sugerem que a patologia molecular do tumor gástrico varie entre grupos étnicos (McCULLOCH et al., 1997; KIM et al., 2010; LIVINGSTONE, et al., 1995). Fato este que justifica estudos locais/regionais acerca da fisiopatologia do câncer nas distintas populações.

O tipo "intestinal", que é o mais comum, recebe essa denominação devido à similaridade histológica com adenocarcinomas do trato intestinal e um subtipo menos comum denominado "difuso". Esse tipo possui deficiência em termos de adesão celular o que impede a formação de aspecto glandular (McCOLL et al., 2000).

Haenszel e colaboradores (1969) e Kamineni e colaboradores (1999) estudaram a incidência desta doença em imigrantes. Segundo seus estudos, as primeiras gerações de imigrantes que vieram de países de alta incidência de câncer gástrico para países de baixa incidência, mantiveram o risco aumentado de adquirir a doença igual ao país de sua origem. Entretanto, esse risco, bem como a incidência de câncer gástrico, diminuiu em gerações subsequentes, demonstrando que fatores ambientais e estilo de vida desempenham um papel crucial na carcinogênese do câncer gástrico, demonstrando desta forma que a etiologia é multifatorial. Este conjunto de informações reforça a ideia da importância em se analisar tal fator pode conduzir ao perfil do adenocarcinoma em populações distintas, com idade ou sexo distintos.

2.2 Fatores de Risco para Carcinoma Gástrico

Pode-se dizer que os fatores de risco mais comuns para o carcinoma gástrico, são: presença da bactéria *Helicobacter pylori*, presença de vírus *Epstein-Barr*, fatores socioeconômicos, dieta, uso de tabaco e álcool, índice de massa corpórea, atividade física, fatores genéticos, hormonais, dentre outros. A análise retrospectiva de

dados pode mostrar o perfil clínico-patológico dos adenocarcinomas em regiões específicas e países subdesenvolvidos (McCOLL et al.,2010)

2.2.1 O papel do *Helicobacter pylori* (H. Pylori) no câncer gástrico

O *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa que coloniza o estômago e, em sua maioria, sua infecção é assintomática. Estima-se que mais de 50% da população adulta possui o *H. pylori*, mas menos de 1 % irá desenvolver câncer gástrico (HATAKEYAMA et al.,2009). Essa infecção é adquirida na infância e se mantém persistente até a fase adulta, se não tratada com antibióticos.

Essa bactéria está associada à gastrite crônica (gastrite crônica multifocal atrófica), úlcera péptica, linfoma gástrico de células B (associado à mucosa) e o adenocarcinoma gástrico. Em 1994, a Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (IARC) relacionou a infecção pelo *H. pylori* como o fator carcinogênico nos humanos baseado em sua associação com adenocarcinoma gástrico e Linfoma MALT (IARC, 1994). Esses achados foram corroborados em 2009 pelo IARC *Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans* que afirmou que a infecção pelo *H. pylori* é responsável pela associação ao câncer gástrico distal. Recentemente, estudos estimam que 75% dos tumores gástricos distais são atribuídos ao *H. pylori* (MARTEL et al., 2004).

A bactéria *H. pylori* é geneticamente heterogênea, o que sugere uma falta de clonalidade. Isso significa que cada indivíduo *H. pylori*-positivo carrega uma cepa distinta de *H. pylori* (LEHOURS et al., 2004). Existem fatores de virulência codificados por genes da bactéria *H. pylori*, que exercem diferentes tipos de ações e estão associados a uma maior agressividade da bactéria. As principais são: CagA, VacA e proteínas /adesinas da membrana externa da bacteriana.

Com relação a proteína CagA, investigações chegaram à conclusão que as cepas mais virulentas da *H. pylori* tinham a capacidade de provocar alterações morfológicas, vacuolização e degenerações sucessivas em cultura de células. Esta capacidade foi relacionada à presença de uma proteína com aproximadamente 140 kDa de massa, nomeada CagA (de gene associado a citotoxina), altamente imunogênica e codificada pelo gene CagA presente em mais da metade das cepas da *H. pylori*. Cepas CagA-

positivas e induzem alta titulação de anticorpos anti-proteína CagA. Pacientes infectados por esta cepa desencadeiam uma maior resposta inflamatória, com maior risco de desenvolver um quadro sintomático, seja úlcera, gastrite atrófica ou câncer gástrico.

A ilha de patogenicidade Cag codifica um sistema de secreção tipo IV (T4SS) que transporta as proteínas efetoras do CagA, como a proteína CagA e um peptidoglicano (PGN), codificados na ilha, para as células hospedeiras (VIALA et al., 2004). A presença da proteína CagA está associada ao aumento da inflamação, promovendo a produção de interleucina-8 (IL-8) pela célula hospedeira, conforme Figura 3. Dentro da célula hospedeira, a proteína CagA torna-se tirosina fosforilada no sítio C-terminal EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) por cinases da família Src. Cepas da *H. pylori* possuem mais motivos EPIYA tipo C, sítios de fosforilação importantes, induzem efeitos mais pronunciados sobre células hospedeiras e estão associados com câncer gástrico (TALARICO et al., 2009), conforme Figura 2.

A proteína VacA, ou “citotoxina vacuolizadora”, é um fator de virulência com papel crucial na patogênese da *H. pylori*. Tem três atividades celulares confirmadas: vacuolização celular, apoptose e ativação dos linfócitos T CD4 positivos e proliferação. Esta citotoxina foi descoberta como uma proteína secretada pela *H. pylori* que induz uma enorme vacuolização citoplasmática *in vitro* (RICCI; ROMANO; BOQUE, 2011). As lesões nas células epiteliais gástricas são causadas pela proteína VacA, codificada pelo gene VacA, que induz a vacuolização da célula hospedeira. Existem dois tipos de regiões sinalizadoras (s1 e s2) e de regiões médias (m1 e m2) que possuem diferentes atividades vacuolizadoras. Cepas do genótipo VacAs2 codificam um encurtamento do peptídeo N-terminal da proteína madura, bloqueando a atividade vacuolizadora, enquanto cepas de genótipo VacAs1 têm sido associadas à inflamação gástrica grave e úlcera duodenal com atividade citotóxica reforçada. Geralmente os genótipos VacAs1 e m1 produzem uma grande quantidade de toxina e induzem maior atividade vacuolizadora no epitélio gástrico, enquanto os genótipos s2 e m2 produzem pouca ou nenhuma toxina. As cepas VacAs2-m2 são raramente associadas com o desenvolvimento da úlcera péptica e câncer gástrico (SUGIMOTO; YAMAOKA, 2009). Outra atividade exercida pela proteína VacA é a indução a apoptose.

As adesinas são proteínas que mediam a adesão da *H. pylori* ao epitélio gastrointestinal, juntamente com algumas proteínas da membrana externa que também são reconhecidas como fatores de virulência. As mais conhecidas são: BabA (*blood group antigen binding adhesin*), OipA (*outer membrane inflammatory protein*), SabA (*sialic acid binding adhesin*), AlpA e AlpB (*adherence-associated lipoprotein*) e Leb (HopZ. Lewis b antigen). O gene BabA codifica uma adesina que media a ligação com antígenos Lewis b expressos em células epiteliais gástricas. A interação entre BabA e os antígenos Lewis b é a interação adesina-receptor melhor caracterizada. São vários os mecanismos de regulação da expressão do BabA tanto em nível de transcrição como de tradução. A formação de proteínas quiméricas (BabA / B ou BabB / A) parece desempenhar um papel importante na regulação da tradução. O “status” BabA-positivo foi associado com a presença de outros fatores de virulência, como o status CagA-positivo e genótipo VacAs1 (YAMAOKA, 2008), conforme Figura 2.

Figura 2: Patogenicidade do *H. pylori* (POLK & PEEK, 2010).

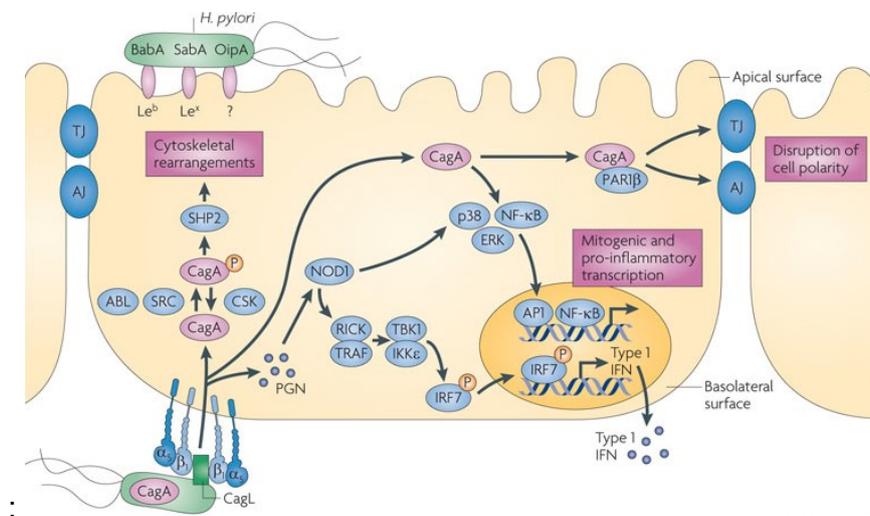
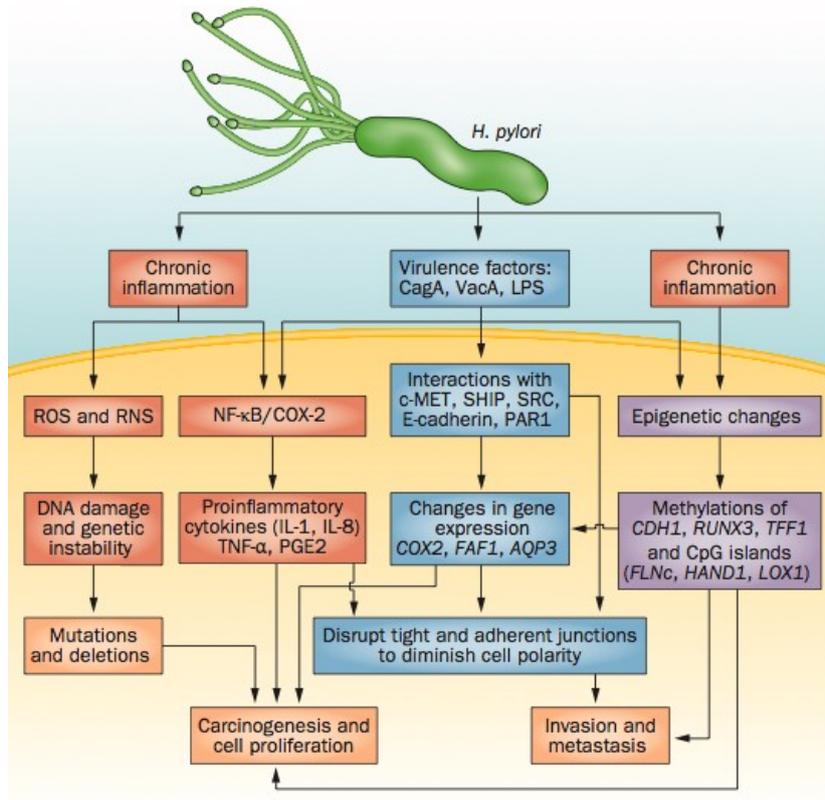


Figura 3: Carcinogênese molecular do *H.pylori* no câncer gástrico (WADHWA et al., 2013).



2.3 Fatores socioeconômicos

Países em desenvolvimento têm maior incidência de câncer gástrico quando comparado a países desenvolvidos. Tumores distais são mais observados na população de baixo nível socioeconômico e baixa renda. Já os tumores da cárdia são mais associados a países em desenvolvimento (HEMMINKI et al., 2003).

A prevalência de *H.pylori* vem caindo em algumas populações como leste europeu, América do Norte, Oceania e Japão (FERLAY et al., 2011). O risco de infecção com *H.pylori* está associado a baixo nível socioeconômico e regiões com sanitário precário. Seu gradual desaparecimento foi descrito por Rothenbach e colaboradores (1999) em populações em desenvolvimento econômico, associados ao uso de antibióticos, além de melhor conservação dos alimentos.

2.4 Fatores associados ao tabaco e álcool

Ladeiras e colaboradores(2008)realizaram uma meta analise de estudos prospectivos demonstraram um risco de 1,62 (IC de 1,50 - 1,75)em homens e 1,20 (IC de 1,01-1,43) em mulheres fumantes de desenvolverem câncer gástrico quando comparados com não fumantes.Além disso,outas metas analises têm demonstrado um aumento do risco de câncergástrico devido aumento de número de consumo de cigarros/dia e a duração tabagismo (carga tabágica). Acredita-se que o tabaco funcione com cofator no desenvolvimento do câncer gástrico e, aparentemente, o tabagismo e H.pylorisãosinérgicos (LADEIRAS et al., 2008).

Com relação ao álcool, possivelmente existe uma correlação entre o consumo de álcool e o risco de câncergástrico. Entretanto, embora a grande maioria dos estudos prospectivos esse risco relativo não foi substancialmente elevado. Alguns estudos que fazem distinção da topografia têm demonstrado estreita correlação com álcool (IARC, 2010; TRAMACERE et al., 2012).

2.5 Fatores associados à dieta

Estudos epidemiológicos doWorld CancerResearch Fund. Food (2007) têm relatado que consumo de frutas e vegetais pode ser inversamente associado ao risco de câncer de esôfago e estômago. Estudos demonstraram uma diminuição no desenvolvimento de adenocarcinoma de esôfago com o consumo regular de frutas, legumes e verduras (THRIFT et al., 2012). No entanto,existe uma limitação para correlacionar a dieta com o desenvolvimento dos cânceres, visto que existem outros fatores que podem estar associados (fatores socioambientais, entre outros) (MAYNE et al., 2001).

A ingestão de carne e proteína animais tem sido correlacionada com o aumento do risco de desenvolvimento de adenocarcinoma gastresofágico(NAVARRO-SILVEIRA et al., 2008). Entretanto, estes resultados ainda são muito controversos, visto que outros estudos não encontraram tal associação com adenocarcinoma, mas sim com carcinoma epidermóide de esôfago (KESZEI et al., 2012).

A ingestão de nitritos e alimentos salgados em países asiáticos também têm sido relacionados com adenocarcionomas gástricos distais (World

CancerResearchFund, 2007). Há também evidências de uma associação inversa entre a ingestão de fibras dietéticas e o risco da adenocarcinoma gastresofágico (BROWN et al., 1995). A avaliação de comportamentos alimentares é complexa, já que a ingestão de frutas e vegetais está associada tanto positiva como negativamente (GORDON et al., 1984). Além disso, comportamentos alimentares se correlacionam com outros comportamentos de saúde e fatores demográficos.

2.6 Fatores associados ao vírus Epstein-Barr

A presença do vírus Epstein-Barr (EBV) tem sido encontrado em 5 % a 16% dos casos de câncer gástrico, indicando que possa ter um papel na etiopatogenese (MURPHY et al., 2009). Está presente tanto em tumores da cardia quanto do corpo gástrico, e é mais frequente em homens do que em mulheres. Está presente em torno de 90% dos linfóepiteliomas gástricos (carcinoma com estroma linfóide) (MURPHY et al., 2009).

2.7 Fatores associados ao hospedeiro: Polimorfismo Gênico

Camargo e colaboradores em 2006, Loh e colaboradores em 2009 e Persson e colaboradores em 2011 demonstraram a associação entre risco de câncer e polimorfismo de genes ligados a resposta inflamatória. Evidenciaram que algumas interleucinas têm sido relacionadas como IL1B, IL1RN, IL10 e TNF. Algumas delas são supressoras da secreção ácida facilitando a colonização bacteriana no corpo gástrico. O alelo IL1B-511T é um fator de risco para adenocarcinoma gástrico.

Ainda ligado ao polimorfismo gênico, Langman (1988) sugeriu pela primeira vez em estudo de grupos sanguíneos e determinantes da gastrite crônica, a associação câncer gástrico e tipo sanguíneo. Indivíduos de sangue do grupo A tem risco aumentado ao longo do tempo de desenvolvimento de câncer gástrico do que aqueles do grupo de O, B ou AB (EDGREN et al., 2010). Eles mostraram também um aumento similar da taxa de anemia perniciosa. Alguns dados sugerem que o grupo A pode ser particularmente associada com o tipo difuso de câncer gástrico. É possível que as associações observadas não sejam devidas aos antígenos dos grupos sanguíneos específicos, mas aos genes estreitamente associados a ele (EDGREN et al., 2010).

2.8 Fatores associados ao índice de massa corpórea e atividade física

Lukanova e colaboradores (2006) descreveram a associação entre obesidade e câncer. Yang e colaboradores (2009) publicaram estudos que demonstraram o aumento do risco relativo de tumores de cardia da ordem de 1,4 (95%, IC de 1,16-1,68) para sobrepeso (IMC 25-30) e para obesidade (IMC >30) risco 2,06 (95%, IC de 1,63- 2,61). Esse risco não foi observado em tumores distais. A atividade física tem sido associada a uma diminuição do risco de tumores distais. Sjodahl e colaboradores (2008) e Leitzman e colaboradores (2009) descreveram estudos sobre o fator protetor da atividade física para o desenvolvimento do câncer gástrico.

2.9 Fatores associados a genética familiar

Em torno de 3 % dos adenocarcinomas de estômago são resultado de herança genética (síndrome predisponentes) (FITZGERALD et al., 2010) e são denominados de cânceres gástricos difusos hereditários.

A identificação da mutação do gene inativador da E-caderina (CDH1) em uma família da Nova Zelândia foi um fator importante para o entendimento da patogênese desses tumores hereditários. Famílias com câncer gástrico hereditário carregam uma forma anormal de E-caderina, o que confere um risco de desenvolvimento de câncer gástrico de 80% durante a vida. A E-caderina, codificada pelo gene CDH1, tem papel crítico no estabelecimento e manutenção da adesão intracelular, polaridade celular e arquitetura tecidual. O polimorfismo no promotor do CDH1 na posição -160 leva a baixa regulação da transcrição do gene *in vitro* e foi demonstrado que o alelo A diminui a eficiência em 68% comparado ao alelo C. Mutações germinativas do gene CDH1 resultam na inativação da E-caderina (LU et al., 2005). Pacientes portadores dessa mutação CDH1 devem passar por um aconselhamento genético e discutir a indicação da gastrectomia profilática (GUILDFORD et al., 1998). Outras síndromes hereditárias podem predispor ao aparecimento de câncer gástrico como a Síndrome de Lynch (risco de desenvolvimento de câncer gástrico em torno de 10%).

2.10 Outros fatores associados ao câncer gástrico

As lesões pré-malignas são fatores de risco para adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal. A anemia perniciosa consiste em uma doença auto-imune caracterizada pela atrofia da mucosa gástrica (Gastrite atrófica Tipo A), que gera uma hipocloridria ou acloridriagástrica. Esse aumento do pH gástrico propicia a proliferação bacteriana em especial do *H. pylori*. Essa alteração do meio gástrico leva a um acúmulo de nitrosaminas que é genotóxico, conferindo assim um risco aumentado para o câncer gástrico, com incidência similar a gastrite atrófica causada pelo *H. pylori* (gastrite atrófica tipo B) (GENTA et al., 1995).

A metaplasia Intestinal (Displasia) de alto grau, tem forte associação com o câncer gástrico, conforme estudos de espécimes de gastrectomia de câncer gástrico. Diferentemente do tipo intestinal, no subtipo difuso não existe definido claramente a existência de lesões precursoras do câncer propriamente dito (CORREIA et al., 2010).

A cirurgia gástrica prévia também tem sido associada ao câncer gástrico. Geralmente, realizada por doenças benignas (ulcera péptica), não se sabe ao certo se o remanescente gástrico por si juntamente com *H. pylori* e refluxo biliar são a causa desse aumento da incidência ou se uma infecção crônica pelo *H. pylori* com cepas mais agressivas, segundo estudos Leivonen et al. (1997) e Mezhir et al. (2011).

A radiação ionizante também está relacionada. O maior estudo longitudinal realizado incluía sobreviventes da bomba atômica Hiroshima e Nagasaki, que foram acompanhados de 1980 a 1999. As pessoas que receberam 1.6Gy de radiação, apresentaram um risco relativo de 1,71 (95% IC 1,27-2,30) $P=0,009$ (SAUVAGET et al., 2005).

2.11 Fatores Hormonais

Taxas de incidência de câncer gástrico são consistentemente menores em mulheres do que os homens, tanto em regiões de alto ou baixo risco em todo o mundo. Há dados que suportam a hipótese de que os hormônios reprodutivos podem ter um papel protetor no risco de câncer gástrico em mulheres (DUELL et al., 2010). Freedman e colaboradores (2007) evidenciaram a associação entre idade da menopausa e anos de fertilidade com câncer gástrico (participantes do estudo com menos de 30 anos de

fertilidade estavam em risco aumentado em comparação com aqueles com de 30 a 36 anos de fertilidade).

2.12 História Natural e Prognóstico do Câncer Gástrico

Estudos tem demonstrado que, sem tratamento, 63% dos pacientes com câncer gástrico precoce (CGP) irão evoluir para a doença estágio avançado dentro de cinco anos (6 a 88 meses) (TSUKUMA et. al.,2000). CGP pode apresentar um crescimento, com tempo de duplicação da ordem de vários anos, em comparação com carcinoma avançado em que o tempo de duplicação pode ser menor que um ano, conforme descrito por Tsukuma e colaboradores em 2000.

A taxa de sobrevida global em cinco anos para o CGP na maioria das séries da era moderna é superior a 90%, sendo quase 100% dos tumores de mucosa e 80 a 90% dos tumores submucosos (OKADA et al.,2012). A taxa de recorrência após a cirurgia é de aproximadamente 2 a 5% em estudos Coreanos e Japoneses, respectivamente(YOUN et. al., 2010; HIKI et. al.,1995) e de 5 a 15% em estudos dos centros ocidentais. Estas taxas de recorrência variáveis refletem parcialmente as diferenças de como esses pacientes são acompanhados e tratados, mas também pode ser devido a diferenças no diagnóstico patológico de malignidade.

A literatura sugere que no CGP até 10% de tumores restritos a mucosa, podem ter metástase nodal, enquanto que 20-30% dos tumores submucosos terão metástases linfonodais (TAJIMA et. al.,2010).A importância prognóstica do comprometimento de linfonodos em CGP foi ilustrado em diversos estudos de pacientes que foram submetidos a gastrectomia(TORII et. al.,1994). Em um estudo coreano Kim e colaboradores (1995) descreveram que a sobrevida a longo prazo era de 95% em pacientes sem envolvimento linfonodal, 88% naqueles com um a três gânglios envolvidos e 77% em pacientes com mais de três gânglios envolvidos(KIM et. al.,1995). Resultados similares foram observados também em outros estudos. Um grande estudo multicêntrico italiano retrospectivo com pacientes com CGP (ROVIELLO et al., 2006) relatou sobrevida a longo prazo após ressecção cirúrgica de 92, 82, 73 e 27% para os pacientes com 0, 1 a 3, 4 a 6, e > 6 linfonodos positivos, respectivamente. A recorrência durante o seguimento foi muito menor do que naqueles sem envolvimento

nodal (1,8 contra 9,5%). Como em outros estudos, o risco de metástase linfonodal aumentou significativamente quanto maior foi a invasão tumoral (TORII et. al., 1994).

2.13 Tratamento

A cirurgia pode ser necessária como um componente da avaliação do estadiamento do câncer gástrico, para o tratamento potencialmente curativo da doença localizada, ou para tratamento paliativo em casos de doença avançada. Erradicação cirúrgica completa do tumor gástrico com ressecção dos linfonodos adjacentes representa a melhor chance de sobrevivência a longo prazo. A menos que haja evidência inequívoca de doença disseminada, invasão vascular importante, ou outras contraindicações para a cirurgia, a exploração abdominal com ressecção de intenção curativa deve ser realizada ou uma abordagem neoadjuvante deve ser considerada. Tratamento adjuvante complementar deve ser indicado a depender do estadiamento final e fatores patológicos adversos associados, podendo ser quimioterápico exclusivo ou em associação com radioterapia. Na doença avançada o tratamento é paliativo, com melhora dos sintomas e aumento de sobrevida com melhora da qualidade de vida, sendo restrito basicamente a quimioterapia associada ou não agentes biológicos (KIM et. al., 2010).

Vários fármacos são ativos no câncer gástrico podendo ser administrados em monoterapia ou poliquimioterapia a depender do perfil clínico do paciente. A grande maioria dos estudos aprovaram protocolos baseados em antraciclinas, taxanos, fluoropirimidinas, platinas e inibidores da topoisomerase I, esses podem ou não estar associados a agentes biológicos como trastuzumabe (adenocarcinoma que são HER2 positivos) ou mais recentemente aprovado ramucirumabe (antiangiogênico) (KIM et al., 2010).

2.14 Aspectos moleculares do câncer gástrico

A carcinogênese do câncergástrico é complexa e não é completamente entendida. Nesse processo, como em todos os tipos de tumores, o sistema imunológico desenvolve papel crucial no que tange a identificação da célula maligna como não

própria (non-self) e destruição da mesma por via apoptótica. O não funcionamento desse sistema tem sido amplamente discutido em vários tipos de neoplasias, em umas mais evidentes que outras. É sabido que a atividade imune representada por vários tipos celulares e mediadores inflamatórios peri-tumorais conferem a neoplasia um prognóstico melhor ou não. Recentemente Loie e colaboradores (2014) descreveram que a quantidade de infiltrado de linfócitos T em câncer de mama conferiu fator prognóstico e fator preditivo de resposta ao uso do anticorpo trastuzumabe.

2.15 O papel do microambiente tumoral e a patogênese do câncer gástrico

O microambiente tumoral (tumoral microenvironment- TME) tem sido alvo de estudos há algum tempo por ter um papel importante na iniciação e progressão de tumores (BALKWILL et al., 2001; HUSSAIN et al., 2007). Esse microambiente pode determinar o comportamento do tumor não só através da maquinaria genética ou epigenética das células tumorais, mas também através do meio circundante das células tumorais. Sendo assim, pode influenciar o crescimento, a proliferação e a metástase. O TME é composto de muitos tipos diferentes de células, como células endoteliais, fibroblastos, linfócitos e macrófagos. É também constituído por diversas moléculas solúveis, tais como vários fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, anticorpos, proteases, vários tipos de enzimas, e metabolitos, assim como a matriz extracelular (WITZ et al., 2006). A progressão tumoral está associada a estados de hipoxia e acidose o que influenciam intimamente o TME (WITZ et al., 2008).

As interações entre as células tumorais e do estroma tecidual podem produzir um microambiente único que pode influenciar profundamente o processo de progressão do tumor (BINGLE et al., 2002). Macrófagos associados a tumores, são um dos principais componentes do estroma e tem algumas funções relacionadas as neoplasias (NEUMARK et al., 2003). Macrófagos associados a tumores podem produzir uma série de fatores angiogênicos, citocinas, e proteases, as quais podem influenciara progressão neoplásica (LEWIS et al., 1995). A maioria dos estudos têm indicado que a infiltração de macrófagos associados a tumores tem um efeito negativo sobre a sobrevivência de pacientes, e que existe uma correlação significativa entre a infiltração de macrófagos associados a tumores e a densidade de vasos do tumor em

diversos tipos de tumores, incluindo melanoma, glioma, mama, pulmão, próstata e carcinoma cervical. Também tem sido relatado que os macrófagos associados a tumores podem provocar reações destrutivas por promover a ativação de interleucina IL-2, IL-12 e IFN-Gama (CROWTHER et al., 2001)

Devido ao grande número de quimiocinas e fatores de crescimento produzidos por tumores humanos e do largo espectro de funções biológicas, os papéis precisos de citocinas específicas no desenvolvimento e progressão tumoral permanecem incertos. Os macrófagos recrutados para o estroma do tumor são chamados de TAM (macrófagos tumorais ativados). O papel do TAM na progressão tumoral é complexo e muito abrangente. Embora os macrófagos ativados possuam atividade antitumoral, tem sido relatado um mecanismo de escape desta atividade (ALLAVENA et al., 2012). Como efeito, a remoção de macrófagos por mutação genética reduz a progressão tumoral e metástase. TAM são recrutados de monócitos circulantes em resposta a quimiocinas teciduais a interagir com as células tumorais para compensar o estroma do câncer. Infiltração de macrófagos no tecido tumoral correlaciona-se significativamente com a vascularização do tumor no câncer de esôfago humano e câncer gástrico (OHTA et al., 2002). Há uma associação direta entre o grau de infiltração do TAM e profundidade de invasão do tumor, estado nodal e estágio clínico do câncer gástrico (OHTA et al., 2003). O recrutamento de macrófagos é mediado por uma variedade de quimiocinas, tais como: proteína derivada de monócito-1 (MCP-1/CCL2), proteína inflamatória derivada de macrófagos-1 α (MIP-1 α /CCL3) e ativação de células T normais expressa e secretada (RANTES/CCL5) (OHTA et al., 2003).

A MCP-1 é um membro da família de quimiocina. Influencia monócitos, células NK, basófilos e os linfócitos T, todos os quais expressam receptores de quimiocinas, preferencialmente do tipo 2 (CCR2). A expressão de MCP-1 foi avaliada em vários tipos de tumores, incluindo melanoma, glioma, sarcoma, leucemia, hemangioma, mama, cervical, ovário e carcinoma esofágico. O papel de MCP-1 no desenvolvimento e progressão tumoral também é controverso. A expressão de MCP-1 exógeno por células de adenocarcinoma de cólon em murinos aumenta a ocorrência de metástases pulmonares, aumentando a neovascularização (NAKASHIMA et al., 1995).

Em contraste, a expressão de MCP-1 por células de ovário de hamster chinês suprimiu completamente a sua capacidade de formar tumores em ratos (ROLLINS et. al.,1991).

Em um estudo clínico, a proteína MCP-1 de células de carcinoma gástrico está associada de forma significativa com a infiltração de macrófagos e densidade dos vasos do tumor (OHTA et. al.,2003). Nesse estudo,Ohta e colaboradores (2003), avaliaram a infiltração de macrófagos e a expressão de MCP-1 em carcinomas gástricos, evidenciando que havia um aumento na expressão de MCP-1 que correlacionava diretamente com a invasão tumoral T1, T2, T3 e T4, bem como maior densidade de microvasos e macrófagos. Também observaram maior expressão de MCP-1 no câncer gástrico quando comparado ao controle (mucosa normal).

2.15.1 O papel dos linfócitos no microambiente tumoral

As células T reguladoras (Tregs) são funcionalmente um subgrupo de células Timuno-supressoraque desempenham um papel importante na auto-tolerância imunológica (JONULEIT et. al.,2011). Tregs são definidos mais estritamente como células CD4+ CD25+ Foxp3+. A frequência de Tregsem infiltrado tumoral linfocitário (TILs)e sangue periféricos é maior no câncer gástrico em comparação com os tecidos normais (BEYER et. al.,2006). Além disso, os pacientes com uma proporção mais elevada de Tregs demonstraram menor sobrevida do que aqueles com uma proporção menor.

Curiosamente, depois que os pacientes foram submetidos à ressecção curativa para câncer gástrico, a proporção de Tregs diminuiu e foi restaurado para níveis comparáveis aos de pessoas saudáveis segundo Kono e colaboradores (2006). Estes resultados sugerem fortemente que os fatores relacionados ao tumor induzem a expansão ea acumulação de Tregs no câncer gástrico. Além disso, a frequência das células CCL17+ e CCL22+, que induzem *in vitro*a migração de Tregs para dentro dos tumores, foram significativamente maiores do que os da mucosa gástrica normal (LIN et. al., 2006; VAGENAS et al.,2007).

2.15.2 O papel dos mastócitos no microambiente tumoral

Os mastócitos são originários da medula óssea e do baço, provenientes de

células CD34+ pluripotentes e se diferenciam ao longo da via mielóide. Sua migração é dirigida por sinais para fora da circulação para tecidos específicos. Nestes locais, os mastócitos ainda passam por processo de maturação podendo se diferenciar (ALIC et al., 2001).

Mastócitos humanos são predominantemente encontrados em tecidos que formam uma interface entre o hospedeiro eo ambiente externo, tal como a pele, mucosa gastrointestinal e trato respiratório. Os mastócitos também estão localizados ao redor dos vasos sanguíneos e, muitas vezes perto do trajeto de nervos. Os mastócitos são células mononucleares redondas que contêm numerosos grânulos citoplasmáticos metacromáticos que variam em tamanho de 0,3 a 0,8 micrômetros. Por estarem próximos aos vasos sanguíneos, suas ações podem influenciar o funcionamento vascular e alterar a homeostase sanguínea (alterações inflamatórias e infecciosas). Além disso, podem distribuir mediadores, que são liberados em resposta a um estímulo específico (KUNDER et. al., 2011).

Os mediadores derivados dos mastócitos são de três tipos básicos: (I) mediadores pré-formados armazenados em grânulos de secreção, os quais podem ser liberados para o ambiente extracelular, dentro de segundos, após a ativação de mastócitos, (II) os mediadores lipídicos sintetizados “*de novo*”, e (III) citocinas e quimiocinas. Os mediadores pré-formados são responsáveis pelos sintomas agudos mediados pelos mastócitos em reações alérgicas (CASTELLS et. al., 2006). Estes mediadores estão armazenados em grânulos citoplasmáticos. Dentre eles, podemos citar: a histamina, as proteases neutras, proteoglicanos de heparina e citocinas, tais como TNF- α .

A histamina pode produzir efeitos fisiológicos potentes e as suas ações são mediadas através de receptores específicos localizados nas células alvo que expressam os receptores H1, H2, H3 e H4 (REPKA-RAMIREZ et. al., 2003). As ações dos receptores H1 incluem: (I) aumento da permeabilidade vascular e brônquica, (II) contração da musculatura lisa intestinal, (III) aumento da produção de muco nasal, (IV) aumento da frequência cardíaca e do débito cardíaco, (V) rubor, (VI) quimiotaxia de eosinófilos e células T.

As ações mediadas pelos receptores H2, incluem: aumento da secreção de ácido gástrico e produção de muco pelas vias respiratórias. Além disso, promove também, ao mesmo tempo, a inibição do influxo de neutrófilos e eosinófilos teciduais.

Os receptores H3 estão no cérebro e os receptores H4 atuam como agentes quimiotáticos para mastócitos derivados da medula óssea e modulam de fluxo de cálcio (MARSHALL et. al.,2004). A histamina e outros mediadores derivados de mastócitos têm sido intensamente estudados no que diz respeito às suas ações fisiológicas e patogênicas. O crescimento de mastócitos é influenciado principalmente pelo fator de células tronco, que é produzido pelo estroma, pelas células endoteliais e fibroblastos (ANDERSON et. al.,1990). O receptor de superfície para as células tronco é a tirosina-quinase do receptor de c-kit (CD117), que é expressa por estas células, e está presente na diferenciação mielóide. O CD117 é um marcador precoce de precursores de mastócitos e é expressado durante todo seu processo de maturação (BOYCE et. al.,2004). O fator de célula tronco participa em cada fase de crescimento e de diferenciação dos mastócitos, incluindo a diferenciação, a proliferação, a quimiotaxia, a adesão e a sobrevivência (GURISH et. al.,2006).

Este ambiente também cria uma barreira supressiva para respostas imunitárias (eficazes contra tumores) e é, por conseguinte, um alvo para a imunoterapia do câncer. Mastócitos (MC) acumulados no microambiente tumoral podem estar associados a um mau prognóstico em cânceres agressivos. No entanto, altas densidades de células T efetoras intratumorais estão associadas a um prognóstico favorável (DALTON et. al.,2012). A relação dos mastócitos em cânceres parece diversificada e ainda não bem compreendida. Existem evidências que a angiogênese pode influenciar os mastócitos tumorais facilitando a invasão tumoral e contribuindo para um microambiente de supressão imunológica (DALTON et. al.,2012).

Nos seres humanos, tem sido descritos dois subtipos específicos de mastócitos, um tipo contém triptase e quimase (mastócitos CT), enquanto que o outro tipo contém apenas triptase (mastócito célula T). A expressão fenotípica dos mastócitos não parece ser fixa, o que significa que os mastócitos das células T podem evoluir para os mastócitos CT. Esta mudança fenotípica, pode estimular os fatores de crescimento de células no microambiente (GALLI et. al.,2005). A ativação de mastócitos (degranulação

e secreção de mediadores armazenados em grânulos pré-formados), pode ser desencadeada pela IgE, antígeno, toxinas, citocinas, hormônios e neuropeptídeos (KOBAYASHI et. al., 2000).

Os mastócitos, juntamente com linfócitos T produzem várias citocinas, como a IL-4. Estas citocinas são expressas por células não hematopoiéticas, incluindo células de carcinoma da mama (KOBAYASHI et. al., 2000).

Os mastócitos também secretam o TNF- α , que também pode induzir a morte de células tumorais e induzir a infiltração de leucócitos. Estes resultados sugerem que a interação entre o fator de crescimento de células tronco e seu receptor representa um potencial alvo terapêutico para regular os números e atividade funcional dos mastócitos.

Os tumores podem alterar surpreendentemente as células T por deprimir a resposta imune, um processo interessante que pode ser mediado através de mastócitos, uma vez que os últimos são intermediários necessários em tolerância de células T reguladoras conforme Lu e colaboradores (2006). Os mastócitos e macrófagos são ricos em metaloproteases que contribuem com a maior parte dos componentes proteolíticos necessários para invasão tumoral (GALLI et. al., 2005). Os mastócitos podem perturbar a comunicação normal do estroma epitelial, como foi mostrado pela degradação da matriz em locais de invasão do tumor mamário em ratos com adenocarcinoma (BEYER et al., 2006).

Os mastócitos também podem gerar e secretar IL-8, que pode atuar como um fator angiogênico, bem como um fator quimiotático de células de tumor e mitogênico de tumor (MOLLER et al., 1996). De fato, a inibição de IL-8 através da utilização de anticorpos neutralizantes reduz a progressão do carcinoma do pulmão de células não pequenas, em ratos (BREW et. al., 2000). A IL-1, uma citocina gerada pelos macrófagos, podem induzir seletivamente a secreção de IL-6 a partir de mastócitos humanos cultivados sem degranulação através de pequenas vesículas (KANDERE-GRZYBOWSKA et. al., 2003). A IL-1 pode estimular a secreção de VEGF, assim como promover a angiogênese e o crescimento de tumores (SALVEN et. al., 2002). Os mastócitos também secretam VEGF. O aumento da densidade de mastócitos correlaciona com o aumento da expressão de VEGF e revela um mau prognóstico em

carcinoma não pequenas células de pulmão. Além disso, o aumento de VEGF (células tumorais) e a expressão VEGFR-3 (microvasos) é um fator prognóstico negativo independente em pacientes com adenocarcinoma de pulmão (GRUTKAU et al., 1998).

O acúmulo de mastócitos tumorais pode ser benéfico ou prejudicial para o crescimento do tumor (Tabela 4).

Tabela 4: Mediadores mastocitários e efeitos fisiopatológicos (adaptado de Conti et al., 2007).

	Mediadores	Efeitos fisiopatológicos majoritários
Efeitos positivos para o câncer	Histamina	Vasodilatação, angiogênese e mitogênese.
	Quimiocinas	Quimioatração dos mastócitos
	Enzimas quinase	Dano tecidual
	Enzima quinogenase	Síntese de agentes vasodilatadores
	Enzima triptase	Dano tecidual e metástase
	Fatores de crescimento	Crescimento tumoral
	Proteoglicanas (heparina)	Angiogênese
Fatores negativos para o câncer	Quimiocinas	Quimioatração de leucócitos
	Proteoglicanas (sulfato de condroitina)	Prevenção de metástase
	Citocinas (IL, TNF, INF)	Inflamação e morte celular do tumor
	Produtos do ácido araquidônico	Neurotransmissão, quimiotaxia e resposta inflamatória.

Os mastócitos podem ser recrutados para os locais de crescimento do tumor por peptídeos derivados de tumores. Acúmulo de mastócitos também pode ser devido à atividade quimiotática induzida pela RANTES ou MCP-1. Além disso, a histamina pode induzir a proliferação de células tumorais através de receptores de H1 e suprimir o sistema imunitário através de receptores de H2 (THEOHARIDES et al., 2006). Os receptores H1 e H2 estão presentes em carcinomas humanos. Camundongos com diminuição de mastócitos apresentam uma diminuição da taxa de angiogênese tumoral. Mastócitos (mediadores celulares) também podem promover metástases cerebrais porque eles regulam a permeabilidade da barreira hematoencefálica (THEOHARIDES et al., 2007).

Também foi demonstrado que o estresse agudo aumenta a permeabilidade da barreira hematoencefálica numa via dependente de mastócitos (ESPOSITO et al., 2002). Vale ressaltar que, o estresse agudo pode induzir o aumento de metástases de câncer de mama e outros tumores.

A secreção de citocinas e outras moléculas a partir de mastócitos podem ocorrer sem a sua degranulação. Isto foi denominado de "liberação diferencial", "ativação intragranular" ou "degranulação fragmentada" (THEOHARIDES et al., 2007). Por exemplo, a IL-6 pode ser liberado sem histamina. Em certas doenças (por exemplo, esclerodermia e cistite intersticial), os mastócitos podem liberar quase todo o seu conteúdo de grânulos (sem degranulação), ao ponto de não poderem ser reconhecidos por microscopia de luz (mastócitos fantasmas) (THEOHARIDES et al., 2007). Infiltrados tumorais de fibroblastos e macrófagos também são importantes nesse processo.

O número de mastócitos pode aumentar em locais de câncer e dos gânglios linfáticos associados, devido a sua participação na rejeição do tumor. Paradoxalmente, esta migração pode ser diminuída ou bloqueada por fatores derivados do próprio tumor (DALTON et al., 2012).

Dentro desta fisiopatologia antagônica, os mastócitos perivascularres em adenocarcinomas podem secretar diversas citocinas e enzimas proteolíticas, que podem ser prejudiciais para as células tumorais, bem como compostos tais como a heparina, a qual tem tanto papel anticoagulante, quanto propriedades angiogênicas (DALTON et al., 2012).

A tripsina de mastócitos pode estimular receptores ativados por protease (PAR - 1 e -2), que também são ativados pela trombina e tripsina (ALIC et al., 2001). Protamina, que se liga avidamente à heparina e neutraliza suas propriedades anticoagulantes, pode induzir trombose seletiva de vasos sanguíneos dentro do tumor.

Vasos tumorais são reconhecidos como dinâmicos, tanto em termos de formação de novos vasos por angiogênese quanto em termos de remodelação dos vasos existentes. Os mastócitos foram também implicados no processo angiogênico por causa da relação temporal entre o aparecimento do tumor e o crescimento interno de vasos, assim como a observação de que a angiogênese do tumor é retardado em animais deficientes em células mastocitárias (COUSSENS et.

al.,1999).Degranulação de mastócitos acumula-se dentro e em torno dos tumores humanos sólidos. Apesar dos enormes esforços que visam elucidar os determinantes moleculares da angiogênese, pouco se sabe sobre a natureza do leito vascular em tumores humanos. Quase todos os estudos que avaliaram a troca das células endoteliais em tumores, foram realizados em modelos experimentais de animais com tumores de crescimento rápido, que possuem uma cinética de crescimento muito diferente da cinética de crescimento de tumores humanos (CROWTHER et al., 2001).Os métodos para estudar as relações e interações entre mastócitos e outras células do estroma se concentraram principalmente sobre o seu comportamento em meios de cultura. Os estudos *in vitro* são sistemas experimentais inadequados através da qual se abordam as principais características de invasão tumoral e reação do hospedeiro. A microscopia eletrônica fornece um método preciso, não apenas para identificar os mastócitos que degranulam, mas também para o estudo da interação de células de tumores humanos (RIBATTI et al.,2010)

2.15.3 Mastócitos e o câncer gástrico

Sabe-se que as úlceras gástricas em seres humanos causam um risco aumentado de neoplasia gástrica. Em um estudo desenhado para avaliar o efeito da densidade de mastócitos no tratamento de úlceras gástricas e câncer. Mukherjee e colaboradores (2009) estudaram a densidade de mastócito celular (MCD) em pacientes com úlceras gástricas,neoplasias bem diferenciadas e pouco diferenciadas (MUKHERJEE et al., 2009). Concluiu-se que o acúmulo de mastócitos em úlceras gástricas é uma resposta inflamatória. O MCD estava aumentado em cânceres bem diferenciados, os autores discutem que esse achado, pode estar relacionado com a resposta imune tumoral, facilitando a angiogênese tumoral e produzindo fatores para a progressão do tumor. No grupo de tumores mal diferenciados, a resposta antitumoral mediada por mastócitos estava ausente, sem nenhuma explicação clara (MUKHERJEE et al., 2009).

Ribatti e colaboradores (2010) estudaram o papel dos mastócitos na angiogênese do câncer gástrico em uma tentativa de esclarecer o seu papel. A correlação entre a densidade microvascular e triptase positiva de células mastocitárias,

com o tipo histopatológico no câncer gástrico, foi utilizada como substrato estudo. Os espécimes de adenocarcinomas gástricos foram obtidos de 30 pacientes que tinham gastrectomias curativas (RIBATTI et al., 2010). O carcinoma gástrico no estágio IV teve um maior grau de vascularização quando comparado a estágios mais precoces da doença (I, II e III). Sendo assim, o número de mastócitos foi aumentando quanto maior o grau de angiogênese (RIBATTI et al., 2010). Desta forma, a compreensão sobre os mecanismos que envolvem mastócitos e angiogênese podem contribuir para o desenvolvimento de uma terapia anti-angiogenica.

Outras aspectos da interação mastócitos / neoplasia tem sido descrito em outras neoplasias. Sinnomon e colaboradores (2008) demonstraram papel dos mastócitos na carcinogênese intestinal e demonstraram que camundongos deficientes de mastócitos desenvolveram tumores mais malignos do que benignos (SINNOMON et al., 2008). Eles foram capazes de mostrar que estas células agem como reguladores das células inflamatórias, o que proporcionou um papel protetor, antitumoral de mastócitos na tumorigênese fase intestinal precoce (SINNOMON et al., 2008).

Dentro deste contexto, a interação entre os mastócitos e o câncer gástrico tem sido muito estudada e também pouco compreendida. Desta forma, estudos sobre análises histomorfológicas, imuno-histoquímicas e moleculares podem contribuir para elucidar estas questões.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise retrospectiva do perfil epidemiológico e anatomopatológico de pacientes com câncer gástrico em um hospital de Goiânia, bem como avaliar a densidade de mastócitos.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar o perfil epidemiológico e anatomopatológico de pacientes com câncer gástrico considerando gênero, idade, topografia do estômago, grau de diferenciação, tipo histológico, sítio de metástase e cirurgias paliativas realizadas;

- Avaliação da densidade de mastócitos no microambiente tumoral versus o tecido circunvizinho ao tumor (área fora da região com citologia oncológica positiva).

4 Materiais e Métodos

4.1 Materiais

- Xilol PA (Labsynth®, São Paulo, SP, Brasil)
- Álcoois graduados(70%, 95% e 100%) (Labsynth®, São Paulo, SP, Brasil)
- H₂O₂ 3% (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA)
- Albumina sérica bovina (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA)
- Anticorpoprimário (Mouse anti-human MC tryptase monoclonal antibody, M7052 DAKO)
- Kit LSAB (K0492, DAKO)
- DAB (3,3' diaminobenzidina) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA)

4.2 Métodos

4.2.1 Seleção das amostras dos pacientes e coleta dos dados do perfil epidemiológico e anatomopatológico dos prontuários selecionados

Primeiramente o projeto do estudo foi submetido ao CEP (Comitê de ética do Hospital Araújo Jorge), o qual foi aprovado sob o número de protocolo CAAE 12870913.5.0000.0031 (parecer N. 329713).

Os prontuários foram selecionados através do CID (Código internacional de Doenças) e código de APAC (Autorização para procedimentos de alta complexidade SUS) no período de 2005 a 2009, junto ao registro de câncer do Hospital Araújo Jorge. Foram listados a princípio 220 prontuários com essas características, nessa instituição.

Para seleção dos 220 prontuários listados foram adotados os seguintes critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão foram aqueles em que o diagnóstico foi confirmado de adenocarcinoma gástrico/JEG (junção esôfago-gástrica), com biópsia ou cirurgia realizados dentro da instituição (Hospital Araújo Jorge) e pacientes no estágio clínico IV (Doença avançada – locorregional e a distância).

Foram excluídas as outras histologias que não adenocarcinoma, amostras em que os exames histopatológicos foram realizados fora do serviço de Patologia do

hospital Araujo Jorge, pacientes sem confirmação histopatológica, pacientes com mais de uma neoplasia e pacientes de estadio I – III (doença localizada). Além disso, também foram excluídos os prontuários sem dados suficientes e/ou cadastrados de forma equivocada.

Foi elaborada uma ficha padrão (Anexo I) para a coleta de dados contemplando os seguintes itens: número do prontuário, data nascimento, idade, sexo, naturalidade, tipo histológico, localização do tumor no estomago, grau histológico, tipo de cirurgia paliativa, local de metástase, quimioterapia paliativa realizada, data do óbito (quando óbito hospitalar), número do bloco de parafina (produto de endoscopia, gastrectomia ou metástase), lavado peritoneal (se realizado positivo ou negativo).

4.2.2 Seleção dos blocos, corte e coloração com hematoxilina e eosina (HE)

Cada prontuário selecionado, possuía um número de identificação dos blocos de parafina contendo as biópsias dos pacientes. Dos 81 casos selecionados para pesquisa segundo critério de inclusão do estudo, apenas 29 blocos foram analisados pela imuno-histoquímica.

O tecido embocado em parafina foi cortado em micrótomo rotativo manual (RM2165 RTS, Leica®) (3 µm de espessura) e colocado em lâminas previamente silanizadas e coradas pelo método de hematoxilina-eosina (HE). Esses cortes foram utilizados para caracterização microscópica das amostras e a confirmação de que as mesmas continham neoplasia.

Vale a pena ressaltar que foi feita a análise de subgrupo (sexo, idade, padrão histológico, grau histológico e topografia tumoral) dos 29 casos selecionados para densidade de mastócitos. O intuito desta comparação foi verificar se havia diferença na densidade de mastócitos em relação aos diferentes critérios supracitados.

4.2.3 Identificação imuno-histoquímica de mastócitos

Para a identificação dos mastócitos, utilizou-se a técnica de imuno-histoquímica estrepavidina-biotina peroxidase. O procedimento foi realizado no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia/UFG.

As lâminas com os cortes foram desparafizadas em xilol PA (Labsynth®, São Paulo, SP, Brasil) e hidratadas numa série de álcoois graduados (70%, 95% e 100%) (Labsynth®, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente, foram lavadas com tampão TBS (pH 7.4) contendo Trisbase (Vivantis®, Subang Jaya, Selangor Darul Ehsan, Malásia) e incubadas em solução de H₂O₂ 3% (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA) para bloqueio da peroxidase endógena.

Seguiu-se com incubação em solução 1% de albumina sérica bovina (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA), temperatura ambiente por durante 20 minutos, secagem das lâminas, delimitação dos cortes e adição do anticorpo primário (Mouse anti-human MC tryptase monoclonal antibody, M7052 DAKO).

Depois desta etapa, foi empregado o método da estreptavidina-biotina peroxidase com o kit LSAB (K0492, DAKO). Após lavar com TBS, incubou-se com os anticorpos secundários por 30min, seguida de uma nova lavagem com TBS para eliminar resíduos livres dos anticorpos. Em seguida, foi realizada incubação com a enzima reagente (avidina + biotina HRP), com posterior lavagem com TBS. Outra incubação foi efetuada com o complexo estreptavidina-peroxidase também por 30 minutos. Uma nova lavagem com TBS foi realizada. As lâminas foram incubadas na solução reveladora DAB (3,3' diaminobenzidina), contra-coradas com hematoxilina de Harris e então realizada a montagem das lâminas.

4.2.4 Avaliação da densidade de mastócitos nas lâminas obtidas

A imunomarcagem positiva foi então visualizada em um microscópio óptico, acoplado ao sistema de aquisição de imagens *AxioCamMRcZeiss Digital Camera*, conectado a um computador com o programa *AxioVision 4.8* (Carl Zeiss®, Göttingen, Baixa Saxônia, Alemanha). A avaliação positiva foi considerada pela proporção de células coradas, em uma área de 10 campos visuais (com área total de 0,961mm²) de grande aumento (40X), sendo que a área do retículo no aumento de 40x corresponde a 0,0961mm². Estas análises foram realizadas por dois avaliadores diferentes previamente treinados sob supervisão da Professora Dr.^a Aline Carvalho Batista da Faculdade de Odontologia/UFG. A densidade de mastócitos também foi avaliada em

regiões tumorais e não tumorais (controle). Os casos controles foram selecionados de acordo com a integridade da mucosa normal da margem livre tumoral. Todos os resultados foram expressos como média \pm DP e o valor de *P* menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

4.2.5 Análise estatística dos dados

Para a análise comparativa dos dados da densidade dos mastócitos utilizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. Todos os testes estatísticos foram aplicados utilizando-se o programa SPSS Statistics (Versão 17.0).

5 Resultados e Discussão

Dos 220 prontuários, 139 foram excluídos conforme os critérios descritos na Tabela 5, ficando então 81 pacientes avaliados neste estudo.

Tabela 5: Critérios de exclusão dos 139 prontuários avaliados no Hospital Araújo Jorge de Goiânia de 2005 a 2009.

Critérios de exclusão	Número de prontuários	Percentual dos prontuários excluídos (%)
Outras histologias*	11	07,90
Exame histopatológico fora do hospital	92	66,18
Mais de uma neoplasia	04	02,90
Sem confirmação histopatológica	01	00,72
Doença localizada	20	14,40
Dados insuficientes	07	05,03
Cadastros incorretos	04	02,87

*GIST, CEC, Tumor neuroendócrino, Linfoepitelioma.

Observa-se que cerca de 8% dos pacientes apresentavam lesões gástricas classificadas como histologias raras. Destes 11 casos, 5 são tumores do estroma intestinal (GIST), 3 são carcinoma espinocelular (CEC), 2 são tumores neuroendócrinos e 1 linfoepitelioma-like. Grande parte dos prontuários excluídos foram de pacientes que

já chegaram a instituição com diagnóstico realizado e, por isso, tiveram o diagnóstico histopatológico realizado fora do hospital (66,18% dos casos), não necessitando, em sua grande maioria de nova biópsia, ou seja, pacientes que não dispunham de material no arquivo Hospital. Além disso, 14,4% dos casos são de doença localizada. Esses dados chamam a atenção para outras histologias malignas que podem acometer o estômago e que podem gerar confusão no diagnóstico e alterar todo o tratamento. Acredita-se que o número de pacientes que possuem amostra no hospital deve ter aumentado, uma vez que cada vez mais tem-se solicitado revisões, testes moleculares e realização de novas biopsias para garantir o diagnóstico e conseqüentemente conduta e melhor estudo dos casos.

Dos 81 casos incluídos nos estudos, estes pacientes foram classificados quanto ao gênero, idade, topografia do estômago, grau de diferenciação, tipo histológico, sítio de metástase e cirurgias paliativas realizadas.

5.1.2.1 Gênero e idade

Dos 81 prontuários selecionados, 30 foram pacientes do sexo feminino (37,03 %) e 51 do sexo masculino (62,96 %).Esses dados corroboram a predominância masculina na neoplasia de estômago, bem como a faixa etária predominante acometida.Taxas de prevalência de câncer gástrico são consistentemente menor em mulheres do que nos homens, tanto em regiões de alto ou baixo risco em todo o mundo. Acredita-se que os hormônios reprodutivos podem ter um papel protetor no risco de câncer gástrico em mulheres (DUELL et al.,2010).Pacientes que ingressaram na menopausa mais cedo (30 anos de fertilidade) também se mostraram mais propensas ao câncer gástrico do que as demais (30 a 36 anos de fertilidade) (FREEDMAN et al., 2007). A idade dos pacientes variou de 24 a 83 anos de idade e estão representados na Figura 4.

Figura 4: Idade e prevalência (%) de cada faixa etária nos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.

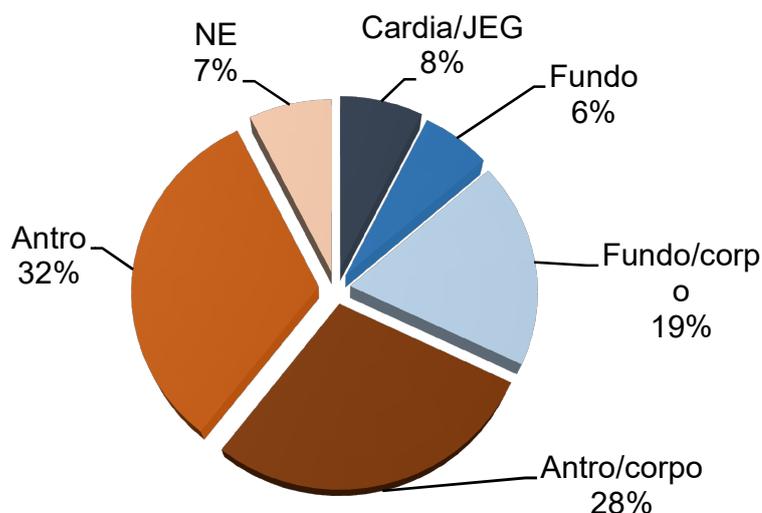


Observa-se na Figura 4, que a prevalência de idade dos pacientes é entre 60 e 69 anos (27%) e em seguida a faixa etária de 70 a 79 anos (25%), ou seja, mais de 50% dos pacientes possuíam idade acima de 60 anos. No que tange a idade dos 20 aos 49 anos, encontrou-se 20% dos casos.

5.1.2.2 Topografias do estômago

As amostras analisadas (81) também foram classificadas quanto a topografia do estômago e a incidência (% encontrada) representadas na Figura 5.

Figura 5: Classificação da incidência (% encontrada) das amostras de acordo com a topografia do estômago dos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.

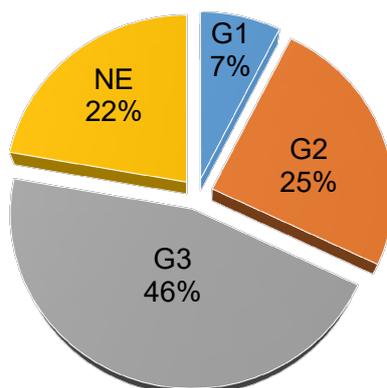


Observa-se que a maior incidência é no antro e antro/corpo, que fazem parte da região mais baixa do estômago. Embora exista uma tendência em países em desenvolvimento no aumento da incidência do câncer de cardia (HEMMINKI et al., 2003), verificamos que a grande maioria dos casos apresentam tumores do terço inferior do estômago, tumores de prognóstico menos favorável, o qual geralmente está associado ao baixo nível socioeconômico e com alta prevalência de H.pylori. Lembrando que, por ser um hospital de atendimento SUS, uma grande maioria de pacientes é de baixo nível socioeconômico e alguns são provenientes de outros estados/regiões do País para tratamento nessa unidade de referência. Um número substancial de pacientes não apresentava registro da pesquisa de H. Pylori, o que impossibilitou a inclusão desse dado para correlação com localização/prognóstico da doença. A Figura 5 mostra em azul as regiões classificadas como alto (26 pacientes e aproximadamente 32% das amostras) e em tons de vermelho as regiões classificadas como região baixa do estômago (49 pacientes, aproximadamente 60%).

5.1.2.3 Grau de diferenciação

As amostras (81) foram classificadas de acordo com o grau de diferenciação da OMS (G1- Grau1, G2- Grau2, G3-Grau3 e não especificado – NE) e está demonstrada na Figura 6. A grande maioria dos tumores são de G3 (pouco diferenciados).

Figura 6: Incidência (%) dos diferentes graus de diferenciação dos adenocarcinomas gástricos nos pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos nos estudos.



Segundo a Figura 6, a prevalência do grau 3 de diferenciação é de aproximadamente 46% (37 pacientes) daqueles incluídos nos estudos.

5.1.2.4 Tipo histológico

Os dados acerca do tipo histológico estão apresentados na Tabela 6. Observa-se que aproximadamente 49% dos casos estudados são do tipo intestinal, 30% do tipo difuso e em torno de 20% não classificados. Esses dados são compatíveis com os encontrados na literatura, o tipo intestinal é o tipo histológico mais comum, independente da região e etnia (McCOLL et al., 2000).

Tabela 6: Incidência do tipo histológico nas amostras incluídas no estudo a partir de pacientes selecionado no Hospital Araújo Jorge.

Tipo Histológico	Número de	Percentual dos pacientes incluídos no
------------------	-----------	---------------------------------------

	pacientes	estudo (%)
Intestinal	40	49,38
Difuso	24	29,62
Não-especificado (NE)	17	20,98

5.1.2.5 Cirurgias paliativas realizadas

Dos 81 pacientes incluídos nos estudos, 42 foram submetidos a algum tipo de cirurgia paliativa. O tipo de cirurgias realizadas e a incidência destas estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7: Incidência (%) de cirurgias paliativas que foram realizadas em pacientes do Hospital Araújo Jorge incluídos no estudo.

Cirurgias	Número de pacientes	Percentual que realizaram cirurgias (%)
Gastrectomias	22	52,38
Biliodigestivas	01	02,38
Gastroentero	11	26,19
Jejunostomia	07	16,66
Anastomose jejunal	01	02,38

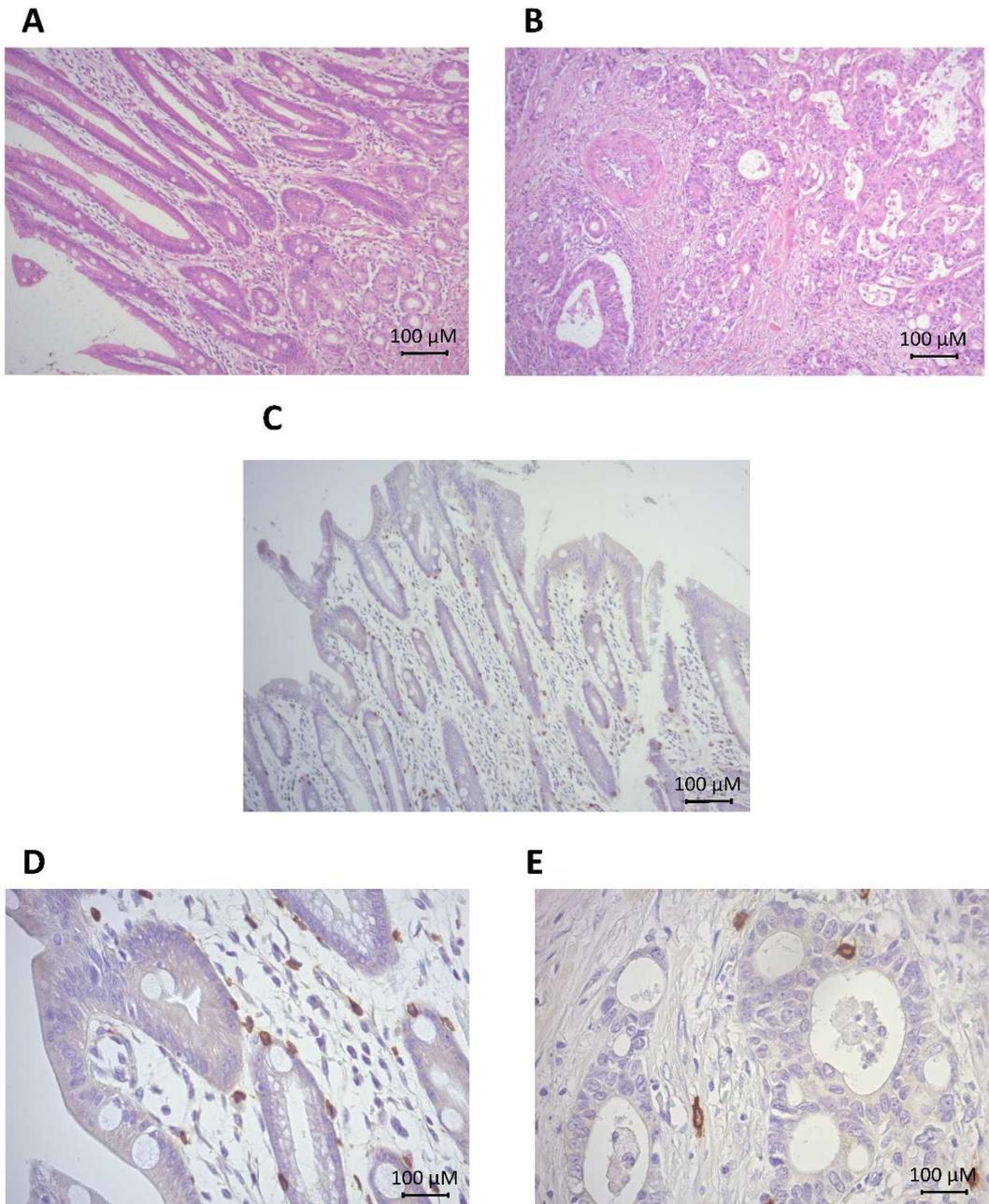
Observa-se na Tabela 7, um número expressivo de gastrectomias. Isso provavelmente se deve ao fato dos pacientes com citologia oncótica positiva terem sido incluídos no estudo, pois esse resultado em sua grande maioria não é liberado no ato cirúrgico, sendo avaliado *a posteriori* no retorno do paciente. Além disso, cabe destacar que a gastrectomia paliativa tem o seu papel no controle dos sintomas, como hemorragias, obstruções e perfurações. Como foi relatado na história natural da doença, a maioria dos casos se apresentam de forma localmente avançada necessitando de tal intervenção. Estudos recentes, inclusive, descrevem ganho de sobrevida global em pacientes submetidos à gastrectomia paliativa (CHEN et al., 2012).

5.2 Avaliação da densidade de mastócitos em carcinoma gástrico estágio IV

No presente estudo, a densidade de mastócitos de 29 pacientes com câncer gástricos em estágio clínico IV foi investigada em comparação ao tecido gástrico

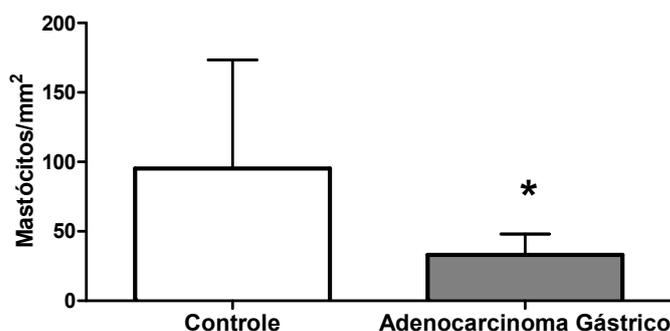
normal não tumoral (n=18). A Figura 7 apresenta os cortes histológicos com a coloração específica para mastócito em duas regiões diferentes: tecido gástrico não tumoral e adenocarcinoma.

Figura 7: Cortes histológicos corados pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) e imunohistoquímica (IHQ) pelo método da estreptavidina-biotina peroxidase: (A) HE da região controle (margem livre) 40X, (B) HE do adenocarcinoma gástrico 40X, (C) IHQ da região controle 20X, (D) IHQ da região controle 40X e (E) IHQ do adenocarcinoma gástrico 40X.



A Figura 8 demonstra a densidade de mastócitos (células/mm²) no adenocarcinoma e no tecido controle. A mediana da densidade de mastócitos foi de 17,84 no adenocarcinoma e 33,92 para o controle (p=0,01), demonstrando numericamente a diferença estatística entre a densidade de mastócitos do adenocarcinoma em relação ao tecido controle. Neste estudo, ficou evidente que a densidade de mastócitos no adenocarcinoma estava reduzida em comparação ao controle (Figura 8).

Figura 8: Média e desvio padrão da densidade de mastócitos (células/mm²) encontrada nas amostras com adenocarcinoma (29 casos) e controle (18 casos) com teste estatístico de Mann-Whitney. *p<0,05.



Na Tabela 8 estão apresentados os dados relativos à topografia, ao grau histológico, sexo, idade e padrão histológico comparando a densidade mastocitária. Observa-se que quanto maior o grau histológico observa-se uma maior densidade mastocitária. Da mesma forma, lesões altas apresentam significativamente mais mastócitos do que nas lesões baixas (p<0,05) (Tabela 8). Não foi observado correlação estatística significativa entre a densidade mastocitária e a idade, sexo, gênero e padrão histológico (p>0,05).

Tabela 8: Análise comparativa dos dados clínico-patológicos e relacionado a densidade de mastócitos (DM) com teste estatístico de Mann-Whitney.

Dados clínico-patológicos e epidemiológicos	Porcentagem (%) da amostra	Valor de p
Idade	≤ 62,4 anos	46,4
	> 62,4 anos	53,6
Gênero	Masculino	56,7
	Feminino	43,3
Padrão histológico*	Intestinal	43,3
	Difuso	55,2
Grau histológico**	Grau 1 e 2	36,7
	Grau 3	63,3
Topografia tumoral***	Fundo/corpo (alto)	80,76
	Antro/corpo (baixo)	19,24

*Classificação de Lauren (1965); **Classificação da OMS; ***Classificação da OMS.

A densidade mastocitária em mucosas normais é um dado ainda bastante controverso e pouco estudado, principalmente no trato gastrointestinal. Vale a pena ressaltar que, no presente trabalho, utilizou-se como controle a margem livre das biópsias de cada caso. Entretanto, o valor médio de mastócitos encontrados por mm^2 (95,30 células/ mm^2) foi bastante similar a outros estudos que utilizaram biópsias normais como controle ($93,87 \pm 6,02$ células/ mm^2) (MUKHERJEE et al., 2009), o que justifica a utilização da margem como amostra para comparação em relação ao microambiente do adenocarcinoma. Além disto, estudos na literatura também relatam que a densidade de mastócitos, mesmo em mucosas normais, é bastante variada, dependendo principalmente da localização do material estudado. Mahjoub e colaboradores (2014) encontraram uma densidade mastocitária na região da cardia de $133,6 \pm 131$ células/ mm^2 (em crianças com ausência de neoplasia). Ainda, estes autores observaram que este valor encontrado de densidade de mastócitos na cardia foi aproximadamente 2 vezes maior do que a densidade encontrada no antro (MAHJOUB et al., 2014).

Está bem estabelecido na literatura a participação dos mastócitos em doenças gástricas como úlceras e cânceres gástricos nos seres humanos (HODGES et al., 2012). Mukherjee et al. (2009) investigaram a densidade de mastócitos em pacientes com úlceras gástricas (188 pacientes avaliados) e cânceres, em diferentes graus de diferenciação (pouco diferenciado G3, moderadamente diferenciado G2 e bem diferenciado G1). Embora o número de pacientes avaliados nos casos de câncer tenha sido relativamente pequeno (7 para G1, 9 para G2 e 6 para G3), os autores concluíram que a acumulação de mastócitos nos adenocarcinomas em grau de diferenciação G3 e G2 foi menor que nos adenocarcinomas em grau 1 (G1 – bem diferenciado), quando comparado ao controle. Os autores sugerem que em pacientes com câncer com diferenciação G3 (pouco diferenciados), os mastócitos parecem induzir uma resposta antitumoral fraca e pouco elucidativa. Já nos pacientes com adenocarcinomas diferenciados, a presença de mastócitos, segundo os autores, parece induzir uma resposta imune, bem como participar da angiogênese tumoral com produção de fatores de progressão tumoral. Estes autores mostraram ainda uma elevada densidade de mastócitos em pacientes com úlcera gástrica, superior a aquela encontrada nos pacientes com adenocarcinoma bem diferenciados (G1). Apesar destes achados, não há um consenso na literatura sobre a relação entre grau de diferenciação e densidade mastocitária. Em resumo, estes autores descreveram que a densidade de mastócitos diminuiu progressivamente do G1 ao G3, ou seja quanto menor o grau maior a densidade de mastócitos. No mesmo estudo quando comparado a densidade de mastócitos dos diferentes graus de diferenciação com o controle, observou-se que o G1 apresentou maior densidade que o controle e G2 e G3 menor densidade. Diferentemente, no presente estudo, tumores G3 apresentaram uma maior densidade de mastócitos quando comparado ao G1 e G2 (Tabela 8). Vale a pena ressaltar, como já citado anteriormente, que os fatores demográficos podem estar diretamente relacionados com a biologia da doença. Sendo assim, Mukherjee e colaboradores (2009) apresentaram estudos com pacientes indianos, enquanto que o presente trabalho foi realizado com pacientes brasileiros do centro-oeste.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração é que, diferente de Mukherjee (2009), todos os casos avaliados neste estudo eram de doença avançada,

grau 3 e tipo intestinal difuso. No estudo de Mukherjee, foi coletada amostra de endoscopia e não existe relatado o estadiamento do paciente, muito provavelmente uma boa parcela desses pacientes possuíam doença localizada. Sabemos que, na doença avançada, Estadio IV e tipo intestinal difuso, a vascularização é muito maior, certamente uma consequência da presença de fatores angiogênicos o que pode estar relacionado aos mastócitos, resultado em maior densidade de mastócitos neste cenário. Talvez essa seja a explicação para a diferença mastocitária encontrada entre o presente estudo de Mukherjee (2009).

Além disso, do ponto de vista imunológico, sabemos que a resposta imunitária pode, em um primeiro momento, estar aumentada, para combate da neoplasia. Mas, a persistência da resposta imunitária/inflamatória, pode propiciar angiogênese, invasão e metástase, como já mencionado por Ribattietal. (2010) e Ammendola et al. (2013). Acredita-se então, que estes fenômenos possam justificar a maior densidade mastocitária em tumores grau 3, encontrados no presente trabalho.

Ribattietal. (2010) também estabeleceu uma correlação entre a densidade microvascular de mastócitos tryptase e quimase positivo com o tipo histopatológico de câncer gástrico. Os autores demonstraram que o carcinoma gástrico tem um elevado grau de vascularização associado a um aumento dos mastócitos de acordo com a progressão da doença. Este estudo demonstrou que a densidade de mastócitos se correlaciona com a angiogênese e com a evolução do estadiamento dos pacientes com carcinoma gástrico, o que pode justificar os achados do presente estudo, uma maior densidade mastocitária em tumores de estadiamento IV e grau histológico 3.

Mais recentemente, Ammendola, et al. (2013), em um estudo piloto reportaram uma correlação positiva entre a presença de mastócitos tryptase positivos no microambiente tumoral gástrico e o número de linfonodos metastáticos. Estes autores sugerem maiores estudos acerca da densidade de mastócitos neste microambiente tumoral na tentativa de se estabelecer uma ferramenta em potencial para auxiliar a conduta clínica, incluindo a escolha do tipo de tratamento cirúrgico e sua radicalidade, bem como uma forma de estabelecer o prognóstico dos pacientes antes do tratamento cirúrgico.

No que tange a topografia neste estudo, evidenciamos que tumores baixos (distais) apresentaram significativamente menor densidade de mastócitos quando comparados a tumores altos (proximais) ($p < 0,05$). Clinicamente, é sabido que tumores baixos tem melhor prognóstico do que os altos. Entretanto, este tema ainda é controverso, e não temos um padrão estabelecido de densidade de mastócitos em relação a região topográfica do estômago normal, nem tampouco com carcinoma (MAHJOUB et al., 2014). No entanto, sugere ou reforça a ideia de que a maior densidade de mastócitos nos tumores altos pode estar relacionada a um prognóstico ruim.

Como já relatado, nos vários trabalhos revistos, o papel dos mastócitos parece ser ainda incerto podendo ser como um protetor ou um facilitador da carcinogênese a depender da fase em que se encontra o desenvolvimento da neoplasia. Existem evidências crescentes que inflamação e angiogênese caminham juntas no processo de carcinogênese (HODGES, et al., 2012). Células pró-inflamatórias, dentre elas o mastócito, liberam mediadores facilitadores da angiogênese, por outro lado, vasos neoformados facilitam a chegada de mais células do sistema imune perpetuando a inflamação que pode num primeiro momento combater o tumor (citotoxicidade) ou facilitar o seu desenvolvimento. Uma vez a neoplasia estabelecida, outros fatores independentes e próprios de cada tumor assumem o papel de perpetuação do crescimento. Maiores estudos devem ser conduzidos com tumores de diferentes estadiamentos para caracterizar melhor a participação dos mastócitos na evolução do câncer gástrico.

6 Conclusões

Os resultados obtidos acrescentam dados a literatura quando comparou-se idade e sexo dos pacientes com câncer gástrico, onde a maioria destes foi do sexo masculino com mais de 60 anos. Os pacientes do centro de referência tiveram tumores localizados preferencialmente no antro do estômago (32%) ou na região antro/corpo (28%). Observou-se que os adenocarcinomas em conjunto apresentaram uma densidade significativamente menor de células mastocitárias quando comparado ao tecido controle. Não houve diferença estatística entre a densidade de mastócitos e tipo histológico, sexo, gênero e idade. Entretanto, tumores grau 3 apresentaram significativamente mais mastócitos do que os demais graus (1 e 2). Em relação a topografia, os tumores baixos apresentaram menor densidade mastocitária que os altos. Desta forma, sugere-se que a densidade de mastócitos esteja envolvida em mecanismos de disseminação tumoral (angiogênese, degradação de matriz extracelular, extravasamento e invasão). Em alinhamento com a literatura, o microambiente tumoral, em especial os mastócitos aqui estudados, podem estar envolvidos no processo da carcinogênese, abrindo margem para estudos futuros. Esta participação mastocitária devem ser melhor estudadas para um maior entendimento fisiopatológico do microambiente tumoral na tentativa de se estabelecer potenciais alvos terapêuticos para auxiliar na conduta clínica. Em grande parte dos casos, durante a conduta clínica não encontramos resultados favoráveis e, por isso, a pesquisa básica vem dar embasamento teórico para melhor delimitamento de ensaios clínicos, estabelecendo populações específicas que se beneficiarão de terapias individualizadas.

7 Referências

ALIC, A.; HASHEMI-SHIRAZI, N.; PEARCE, F. L. Protease activated receptors and mast cell activation. **Inflammation Research**, v.50, p. S57-S58, 2001.

ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumor-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumor microenvironment. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 167, p.195-205 2012

ANDERSON, D. M.; LYMAN, S. D.; BAIRD, et al. Molecular cloning of mast cell growth factor, a hematopoietin that is active in both membrane bound and soluble forms. **Cell**, v. 63, p. 235–243, 1990.

AMMENDOLA, M.; SACCO, R.; DONATO, G.; ZUCCALÀ, V.; RUSSO, E.; LUPOSELLA M, VESCIO, G.; RIZZUTO, A.; PATRUNO, R.; DE SARRO G.; MONTEMURRO, S.; SAMMARCO, G.; RANIERI, G. Mast cell positivity to tryptase correlates with metastatic lymphnodes in gastrointestinal cancer patients treated surgically. **Oncology**, v. 85, p. 111-116, 2013.

BALKWILL, F.; MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? **Lancet**, v. 357, p. 539-545, 2001.

BEYER, M.;SCHULTZE, J.L. Regulatory T cells in cancer. **Blood**, v. 108, p. 804-811, 2006.

BINGLE, L.; BROWN, N.J.; LEWIS, C.E. The role of tumor-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancertherapies. **The Journal of Pathology**, v. 196, p. 254-265,2002.

BOTTERCEK, A. A.; SCHOUTEN, L.J.; VOLOVICS, A. et al. Trends in incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia in ten European countries. **International Journal of Epidemiology**, v.29,p.645-54,2000.

BOYCE J.A. The biology of the mast cell. **Allergy Asthma Proceedings**, v. 25, p. 27–30, 2004.

BREW, R.; ERIKSON, J.S.; WEST, D.C.; KINSELLA, A.R.; SLAVIN, J.; CHRISTMAS, S.E. Interleukin-8 as an autocrine growth factor for human colon carcinoma cells in vitro. **Cytokine**, v. 12, p. 78-85, 2000.

BROWN, L.M.; SWANSON, C.A.; GRIDLEY, G.; SWANSON, G.M.; SCHOENBERG, J.B.; GREENBERG, R.S. et al. Adenocarcinoma of the esophagus: role of obesity and diet. **Journal of the National Cancer Institute** v.87, p.104-109, 1995.

CAMARGO, M.C.; MERA, R.; CORREA, P. et al. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v.15, p.1674-87, 2006.

CASTELLS, M. Mast cell mediators in allergic inflammation and mastocytosis. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 26, p. 465-485, 2006.

CHEN, S., LI, Y. F., FENG, X. Y., ZHOU, Z. W., YUAN, X. H., CHEN, Y. B. Significance of palliative gastrectomy for late-stage gastric cancer patients. **Journal of Surgical Oncology**, v. 106(7), p. 862-871, 2012.

CORREIA, P.; PIAZUELO, M. B.; WILSON, K. T. Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. **American Journal of Gastroenterology**, v. 105, p. 493, 2010.

COUSSENS, L.M.; RAYMOND, W.W.; BERGERS, G.; LAIG-WEBSTER, M.;

BEHRENDTSEN, O.; WERB, Z.; CAUGHEY, G.H.; HANAHAN, D. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. **Genes Delivery**, v. 13, p. 1382-1397, 1999.

COVER, T.L.; BLANKE, S.R. Helicobacter pylori VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 32, p.320–332, 2006.

CROWTHER, M.; BROWN, N.J.; BISHOP, E.T.; LEWIS, C. E. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 70, p. 478-90, 2001.

DALTON, D.K.; NOELLE, R. J. The roles of mast cells in anticancer immunity. **Cancer Immunology Immunotherapy**, doi: 10.1007/s00262-012-1246-0, 2012.

DEVESSE, S.S.; BLOT, W.J.; FRAUMENI, J.F. et al. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. **Cancer**, v. 15, p. 2049-2053, 1998.

DUELL, E.J.; TRAVIER, N.; LUJAN-BARROSO, L.; BOUTRON-RUAULT, M. C. et al. Menstrual and reproductive factors, exogenous hormone use, and gastric cancer risk in a cohort of women from the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition. **American Journal of Epidemiology**, v. 172, p. 1384, 2010.

EDGREN, G.; HJALGRIM, H.; ROSTGAARD, K.; NORDA, R.; WIKMAN, A.; MELBYE, M.; NYRÉN, O. Risk of gastric cancer and peptic ulcers in relation to ABO blood type: a cohort study. **American Journal of Epidemiology**, v. 172, p. 1280-1285, 2010.

ESPOSITO, P.; CHANDLER, N.; KANDERE, K.; BASU, S.; JACOBSON, S.; CONNOLLY, R.; TUTOR, D.; THEOHARIDES, T. C. Corticotropin-releasing hormone (CRH) and brain mast cells regulate blood-brain-barrier permeability induced by acute stress. **Journal of Pharmacology Experimental Therapy**, v. 303, p. 1061-1066, 2002.

FAN, X. S.; CHEN, J. Y.; LI, C. F.; ZHANG, Y. F.; MENG, F. Q.; WU, H. Y.; FENG, A. N.; HAUNG, Q. Differences in HER2 over-expression between proximal and distal gastric cancers in the Chinese population. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, p. 3316-3323, 2013.

FERLAY, J.; SHIN, H. R.; BRAY, F.; FORMAN, D.; MATHERS, C.; PARKIN, D. M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. **International Journal of Cancer**, v. 127, p. 2893-2917, 2011.

FITZGERALD, R. C.; HARDWICK, R.; HUNSTMAN, D. et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, p. 47-436, 2010.

FREEDMAN, N. D.; CHOW, W.H.; GAO, Y.T.; SHU, X.O.; JI, B.T.; YANG, G.; LUBIN, J.H.; LI, H.L.; ROTHMAN, N.; ZHENG, W.; ABNET, C.C. Menstrual and reproductive factors and gastric cancer risk in a large prospective study of women. **Gut**, v. 56, p. 1671, 2007.

GALLI, S.J.; NAKAE, S.; TSAI, M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. **Nature Immunology**, v. 6, p. 135-142, 2005.

GENTA, R. M et al. Acid suppression and gastric atrophy: sifting fact from fiction. **Gut**. v.43, p. S35,1998.

GORDON, T.; FISHER, M.; RIFKIND, B. M. Some difficulties inherent in the interpretation of dietary data from free-living populations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.39, p. 152-156,1984.

GRUTZKAU. A.; KRUGER-KRASAGAKES, S.; BAUMEISTER, H.; SCHWARZ, Cet. al. Synthesis, storage, and release of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) by human mast cells: implications for the biological significance of VEGF206. **Molecular Biology Cell**, v. 9, p. 875-884, 1998.

GUILDFORD, P.; HOPSKINGS, J.; HARRAWAY, J. et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. **Nature**, v.5,p.392-402,1998.

GURISH, M.F.; BOYCE, J.A. Mast cells: ontogeny, homing, and recruitment of a unique innate effector cell. **Journal of Allergy ClininicalImmunology**, v. 117, p. 1285–1291, 2006.

HAENSZEL, W. Report of the working group on studies of cancer and related diseases in migrant populations. **International Journal of Cancer**, v.15 p. 364-371,1969.

HAMILTON, J. P.; MELTZER, S. J. A review of the genomics of gastric cancer. **Clinical Gastroenterology Hepatology**, v. 4, p.416-25, 2006.

HATAKEYAMA, M. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. **Journal of Gastroenterology**, v. 44, p. 239-248, 2009.

HEMMINKI, K.; ZHANG, H.; CZENE, K. Socioeconomic factors in cancer in Sweden. **International Journal of Cancer**, v.105 , p. 692-700, 2003.

HERRERA, V.; PARSONET, J. Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma. **Clinical Microbiology and Infectation**, v. 15, p. 971-976, 2009.

HIKI, Y.; SHIMAO, H.; MIENO, H.; SAKAKIBARA, Y.; KOBAYASHI, N.; SAIGENJI, K. Modified treatment of early gastric cancer: evaluation of endoscopic treatment of early gastric cancers with respect to treatment indication groups. **World Journal of Surgery**, v. 19, p. 517, 1995.

HODGES K, KENNEDY L, MENG F, ALPINI G, FRANCIS H. Mast cells, disease and gastrointestinal cancer: A comprehensivereview of recent findings. **TranslGastrointest Cancer**. v. 1, p. 138-150, 2012.

HUSSAIN, S.P.;HARRIS, C.C. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. **International Journal of Cancer**, v. 121, p.2373-2380, 2007.

IARC - MonogrEvalCarcinog Risks Hum - PROCEEDINGS OF THE IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS BIOLOGICAL AGENTS. **A review of human carcinogens**, v. 100,p.1-441,2012.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Schis- tosome, liver flukes and Helicobacter pylori. **IARC Monographs on theEvauation ofCarcinogenes Risks to Humans**, v.61, p.1-291,1994.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Personal habits and indoor combustions. Volume 100 E. A review of human carcinogens. **IARC Monographs on theEvauation ofCarcinogenes Risks to Humans**, v.100, p.1-538,2012.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Alcohol consumption and ethyl carbamate. **IARC Monographs on theEvauation ofCarcinogenes Risks to Humans**,v. 96,p. 3-1383.

JONULEIT, H.; SCHMITT, E.; STASSEN, M.; TUETTENBERG, A.; KNOP, J.; ENK, A.H. Identification and functional characterization of human CD4(+)CD25(+)T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. **Journal of Experimental Medicine**, v. 193, p. 1285-1294, 2001.

KAMINENI, A.; WILLIAMS, M.A.; SCHWATZ, S.M. et al. The incidence of gastric carcinoma in Asian migrants to the United States and their descendants. **Cancer Causes Control**, v.10, p. 77-83,1999.

KANDERE-GRZYBOWSKA, K.; LETOURNEAU, R.; KEMPURAJ, D.; DONELAN, J.;

POPLAWSKI, S.; BOUCHER, W.; ATHANASSIOU, A.; THEOHARIDES, T.C. IL-1 induces vesicular secretion of IL- 6 without degranulation from human mast cells. **Journal of Immunology**, v. 171, p. 4830-4836, 2003.

KESZEI, A.P.; SCHOUTEN, L.J.; GOLDBOHN, R.A.; VAN DEN BRANDT, P.A. Red and processed meat consumption and the risk of esophageal and gastric cancer subtypes in The Netherlands Cohort Study. **Annals of Oncology**, v. 23, p. 2319-26, 2012.

KIM, J.G.; CHUNG, H.Y.; YU, W. Recent advances in chemotherapy for advanced gastric cancer. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 2, p. 287-294, 2010.

KIM, J.P.; HUR, Y.S.; YANG, H.K. Lymph node metastasis as a significant prognostic factor in early gastric cancer: analysis of 1,136 early gastric cancers. **Annals Surgical Oncology**, v. 2, p. 308, 1995.

KOBAYASHI, H.; ISHIZUKA, T.; OKAYAMA, Y. Human mast cells and basophils as sources of cytokines. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 30, p. 1205-1212, 2000.

KONO, K.; KAWAIDA, H.; TAKAHASHI, A.; SUGAI, H.; MIMURA, K.; MI-YAGAWA, N.; OMATA, H.; FUJII, H. CD4(+)CD25high regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers. **Cancer Immunology Immunotherapy**, v. 55, p. 1064-1071, 2006.

KUNDER, C.A.; ST JOHN, A.L.; ABRAHAM, S.N. Mast cell modulation of the vascular and lymphatic endothelium. **Blood**, v. 118, p. 5383–5393, 2011.

LADEIRAS-LOPES, R.; PEREIRA, A.K.; NOGUEIRA, A. et al. Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Cancer Causes Control**, v. 19, p. 689-701, 2008.

LANGMAN, M.J.S. Genetic influences upon gastric cancer frequency. In: Gastric carcinogenesis, **Excerpta Medica**, Amsterdam. p.81, 1988

LAUREN, P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histoclinical classification. **Acta Pathologica, Microbiologica, Immunologica, Scandinava**, v. 64, p. 31-49, 1965.

LEHOURS, P. et al. Evaluation of the association of nine Helicobacter pylori virulence factors with strains involved in low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. **Infectology Immunology**, v. 72, p. 880-888, 2004.

LEITZMANN, MF,; KOEBNICK, C.; FREEDMAN, N.D. et al. Physical activity and esophageal and gastric carcinoma in a large prospective study. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 36, p. 112-119, 2009.

LEIVONEN, M,; NORDLING, S.; HAGLUND, C. Does Helicobacter pylori in the gastric stump increase the cancer risk after certain reconstruction types? **Anticancer Research**, v. 17 , p. 3893-3896,1997.

LEWIS, C.E.,; LEEK, R.; HARRIS, A.; MCGEE, J.O. Cytokine regulation of angiogenesis in breast cancer: the role of tumor-associated macrophages. **Journal of Leukococyte Biology**, v. 57, p. 747-51, 1995.

LIN, Y.; KIKUCHI, S.; OBATA, Y.; YAGYU, K. Serum levels of trans- forming growth factor beta1 are significantly correlated with venous invasion in patients with gastric cancer. **Journal of GastroenterologyHepatology**, v. 21, p.432-437, 2006.

LIVINGSTONE, J.I.; YASUI, W.; TAHARA, E.; WASTELL, C. Are Japanese and European gastric cancer the same biological entity? An immunohistochemical study. **British Journal of Cancer**, v. 72, p. 976-80, 1995.

LOH, M.; KOH, K.X.; YEO, B.H. et al. Meta-analysis of genetic polymorphisms and gastric cancer risk: variability in associations according to race. **European Journal of Cancer**, v. 45, p. 2562-2568, 2009.

LOI, S.; MICHIELS, S.; SALGADO, R.; SIRTAINÉ, N. et al. Tumor infiltrating lymphocytes in prognostic and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. **Annals of Oncology**, 2014.

LU, L.F.; LIND, E.F.; GONDEK, D.C.; BENNETT, K.A.; GLEESON, M.W.; PINO-LAGOS, K.; SCOTT, Z.A.; COUYLE, A.J.; REED, J.L.; VAN SNICK, J.; STROM, T.B.; HENG, X.X.; NOELLE, R.J.; Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. **Nature**, v. 442, p. 997-1002, 2006.

LU, Y.; XU, Y.C.; SHEN, J.; YU, R.B.; NIU, J.Y.; GUO, J.T. et al. E-cadherin gene C160-A promoter polymorphism and risk of non-cardia gastric cancer in a Chinese population. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11., p. 56-60, 2005.

LUKANOVA, A.; BJÖR, O.; KAAKS, R. et al. Body mass index and cancer: results from the Northern Sweden Health and Disease Cohort. **International Journal of Cancer**, v. 118, p. 458-466, 2006.

MAHJOUR, F. E. Mast cell density in cardio-esophageal mucosa. **Iran Journal of Allergy Asthma Immunology**, v. 13(6), p. 447-452, 2014.

MARSHALL, J.S.; JAWDAT, D.M. Mast cells in innate immunity. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, v. 114, p. 21-27, 2004.

MARTEL, C.; FERLAY, J.; FRANCESCHI, S. et al. The global burden of cancers attributable to infections in the year 2008: a review and synthetic analysis. **Lancet Oncology**, v. 15, p. 606-607, 2012.

MAYNE, S.T.; RISCH, R.; DUBROW, R.; CHOW, W.H.; GAMMON, M.D.; VAUGHAN, T. et al. Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 10, p. 1055-1062, 2001.

MCCOLL, K.E.; GOING, J.J. Etiology and classification of adenocarcinoma of the gastroesophageal junction/cardia. **Gut**, p. 282-284, 2010.

MCCULLOCH, P.; TAGGART, T.; OCHIAI, A. et al. C-erbB2 and p53 expression are not associated with stage progression of gastric cancer in Britain or Japan. **European Journal of Surgical Oncology**, v. 23, p. 304-9, 1997.

MEZHIR, J.J.; GONEN, M.; AMMORIN, J.B. et al. Treatment and outcome of patients with gastric remnant cancer after resection for peptic ulcer disease. **Annals Surgical Oncology**, v.18, p. 670-676, 2011.

MOLLER, A.; LIPPERT, U.; LESSMANN, D.; KOLDE, G. et al. Human mast cells produce IL-8. **Journal of Immunology**, v. 151, p. 3261-3266, 1993.

MUKHERJEE, S.; BANDYOPADHYAY, G.; DUTTA, C. et al. Evaluation of endoscopic biopsy in gastric lesions with a special reference to the significance of mast cell density. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, v. 52, p.20–24, 2009.

MUKHERJEE S, BANDYOPADHYAY G, DUTTA C, ET AL. Evaluation of endoscopic biopsy in gastric lesions with a special reference to the significance of mast cell density. **Indian J Pathol Microbiol**. v. 52, p. 20–24, 2009.

MURPHY, G.; PFEIFFER, R.; CAMARGO, M.C. et al. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. **Gastroenterology**, v. 137, p. 824-833, 2009.

NAKASHIMA, E.; MUKAIDA, N.; KUBOTA, Y. et al. Human MCAF gene transfer enhances the metastatic capacity of a mouse cachectic adenocarcinoma cell line in vivo. **Pharmaceutical Research**, v. 12, p. 1598-604, 1995.

NAVARRO-SILVERA, S.A.; MAYNE, S.T.; RISCH, H.A.; GAMMON, M.D. et al. Food group intake and risk of subtypes of esophageal adenocarcinoma. **International Journal of Cancer**, v. 123,p. 852 e 860, 2008.

NEUMARK, E.; SAGI-ASSIF, O.; SHALMON, B.; BEN-BARUCH, A.; WITZ, I.P. Progression of mouse mammary tumors: MCP-1-TNF α cross-regulatory pathway and clonal expression of promalignancy and antimalignancy factors. **International Journal of Cancer**, v. 106, p. 879-86, 2003.

OHTA, M.; KITADAI, Y.; TANAKA, S. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human gastric carcinomas. **International Journal of Oncology**, v. 22., p. 773-8, 2003.

OHTA, M.; KITADAI, Y.; TANAKA, S. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human esophageal squamous cell carcinomas. **International Journal of Cancer**,v. 102, p. 220-224, 2002.

OKADA, K.; FUJISAKI, J.; YOSHIDA, T. et al. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for undifferentiated-type early gastric cancer.**Endoscopy**, v. 44, p. 22-7, 2012.

PANANI, A.D.Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications. **Cancer Letters**, v. 266, p. 99-115, 2008.

PERSSON, C.; CANEDO, P.; MACHADO, J.C. et al. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: a HuGE systematic review and meta-analyses. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, p. 259-270, 2011.

P Piso et al. Proximal versus distal gastric carcinoma- What are the differences? **Annals of Surgical Oncology**, v. 7(7), p. 520-525, 2000

POLK, D. B.; PEEK, R. M. Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. **Nature Reviews Cancer**, v. 10, p. 403-414, 2010.

REPKA-RAMIREZ, M. S. New concepts of histamine receptors and actions. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 3, p. 227-231, 2003.

RICCI, V., ROMANO, M.; BOQUE, P. Molecular cross-talk between Helicobacter pylori and human gastric mucosa. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, p. 1383-1399, 2011.

RIBATTI, D.; GUIDOLIN, D.; MARZULLO, A. et al. Mast cells and angiogenesis in gastric carcinoma. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 91, p. 350-356, 2010.

ROLLINS, B.J.; SUNDAY, M.E. Suppression of tumor formation in vivo by expression of the JE gene in malignant cells. **Molecular Cell Biology**, v. 11, p. 3125-31, 1991.

ROTHENBACHEN, D.; BODE, G.; BERG, G. et al. Helicobacter pylori among preschool children and their parents: evidence of parent-child transmission. **Journal of Infectious Diseases**, v. 179, p. 398-402, 1999.

ROVIELLO, F.; ROSSI, S.; MARRELLI, D.; PEDRAZZANI, C. et al. Number of lymph node metastases and its prognostic significance in early gastric cancer: a multicenter Italian study. **Journal of Surgical Oncology**, v. 94, p. 275, 2006.

SALVEN, P.; HATTORI, K.; HEISSIG, B.; RAFII, S. Interleukin- 1alpha promotes angiogenesis in vivo via VEGFR-2 pathway by inducing inflammatory cell VEGF synthesis and secretion. **FASEB Journal**, v. 16, p. 1471-1473, 2002.

SAUVAGET, C.; LAGARDE, F.; NAGADANO, J. et al. Lifestyle factors, radiation and gastric cancer in atomic-bomb survivors (Japan). **Cancer Causes Control**, v.16, p. 773-780, 2005.

SCHNEIDER, B,G,; PENG, D.F.; CAMARGO, M.C. et al. Promoter DNA hypermethylation in gastric biopsies from subjects at high and low risk for gastric cancer. **International Journal of Cancer**, v. 127, p. 2588-2597, 2010.

SJODAHL, K.;JIA, C.; VATTEN, L. et al. Body mass and physical activity and risk of gastric cancer in a population-based cohort study in Norway. **Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention**, v. 17, p. 135-140, 2008.

SUGIMOTO, M., YAMAOKA, Y., FURUTA, T. Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, p. 1188-1200, 2010.

TAJIMA, Y.; MURAKAMI, M.; YAMAZAKI, K.; et al. Risk factors for lymph node metastasis from gastric cancers with submucosal invasion. **Annals Surgical Oncology**, v. 17, p. 1597, 2010.

TALARICO, S. et al. Pediatric Helicobacter pylori isolates display distinct gene coding capacities and virulence gene marker profiles. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, p. 1680-1688, 2009.

TANNER, M.; HOLLMEN, M.; JUNTILA, T.T. et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIa gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. **Annals of Oncology**, v. 16,p. 273-278, 2005.

THEOHARIDES, T.C.; CONTI, P. Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. **Trends Immunology**, v. 25, p. 235- 241, 2004.

THEOHARIDES TC, KALOGEROMITROS D. The critical role of mast cells in allergy and inflammation. **Annals of the New York Academy Science**, v. 1088, p. 78-99, 2006.

THEOHARIDES, T.C.; KEMPURAJ, D.; TAGEN, M.; CONTI, P.; KALOGEROMITROS, D. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation. **Immunology Reviews**, v. 217, p. 65-78, 2007.

THRIFT, AP,; PANDEYA, N.; WHITEMAN, D.C. Current status and future perspectives on the etiology of esophageal adenocarcinoma. **Frontiers in Oncology**, v. 02 , p.1-7 , 2012.

TORII, A.; SAKAI, M.; INOUE, K.; YAMABE, H.; UEDA, S.; OKUMA, M.A. Clinicopathological analysis of early gastric cancer: retrospective study with special reference to lymph node metastasis. **Cancer Detection and Prevention**, v. 18, p. 437, 1994.

TRAMACERE, I.; NEGRI, E.; PELUCCHI, C. et al. A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. **Annals Oncology**, v. 23, p. 28–36, 2012.

TRAMACERE, I.; PELUCCHI, C.; BAGNARDI, V. et al. A meta-analysis on alcohol drinking and esophageal and gastric cardia adenocarcinoma risk. **Annals Oncology**, v. 23, p. 287–97, 2012.

TRAPANI, J.A.; BROWNE, K.A.; SMYTH, M.J.; JANS, D.A. Localization of granzyme B in the nucleus. A putative role in the mechanism of cytotoxic lymphocyte-mediated apoptosis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 4127–4133, 1996.

TRAPANI, J.A.; SMYTH, M.J. Functional significance of the perforin / granzyme cell death pathway. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p. 735–747, 2002.

TSUKUMA, H.; OSHIMA, A.; NARAHARA, H.; MORII, T. Natural history of early gastric cancer: a non-concurrent, long term, follow up study. **Gut**, v. 47, p. 618, 2000.

VAGENAS, K.; SPYROPOULOS, C.; GAVALA, V.; TSAMANDAS, A.C. TGF- β 1, TGF β 2, and TGF β 3 protein expression in gastric carcinomas: correlation with prognostic factors and patient survival. **Journal of Surgical Research**, v. 182-188, 2007.

VIALA, J. et al. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the Helicobacter pylori Cag pathogenicity island. **Nature Immunology**, v. 5, p. 1166-1174, 2004.

WITZ, I.P.; LEVY-NISSENBAUM, O. The tumor microenvironment in the post-PAGET era. **Cancer Letters**, v. 242, p. 1-10, 2006.

WITZ, I.P. Yin-yang activities and vicious cycles in the tumor microenvironment. **Cancer Research**, v. 68, p. 9-13, 2008.

WORLD CANCER RESEARCH FUND. Food, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: American Institute for Cancer Research; 2007.

YANG, P.; ZHOU, Y.; CHEN, B. et al. Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. **EuropeanJournal of Cancer**, v. 45, p. 2867–73, 2009.

YAMAOKA, Y. Roles of Helicobacter pylori BabA in gastroduodenal pathogenesis. **WorldJournal of Gastroenterology**, v. 14, p. 4265-4271, 2008.

YEGIN, E. G., DUMAN, D. G. Staging of esophageal and gastric cancer in 2014. **Minerva Medical**, 2014.

YOUN, H.G.; AN, J.Y.; CHOI, M.G.; NOH, J.H.; SOHN, T.S.; KIM, S. Recurrence after curative resection of early gastric cancer. **Annals Surgical Oncology**, v. 17, p. 448, 2010.

WANG, J., DANG, P., RAUL, C. P., PANDALAI, P. K., MADUEKWE, U. N., RATTNER, D. W., LAUWERS, G. Y., YOON, S. S. Comparison of lymph node ratio-based staging system with the 7th AJCC system for gastric cancer: analysis of 18,043 patients from the SEER database. **AnnalsofSurgical**, v. 255(3), p. 478-485, 2012.

ANEXO I

FICHA PARA COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS

Identificação:_____	Data de nascimento:_____
Sexo: ()M ()F Naturalidade:_____	Idade: _____ Prontuário:_____
Tumor primário: ()estômago ()JEG ()antro ()corpo ()fundo	Estadiamento: T:_____ N:_____ M:_____
Biópsia (tipohistológico):_____	Data da biópsia:_____
Citologia (lavado peritoneal): ()positiva ()negativa ()não-realizado	Tratamento cirúrgico curativo: ()sim, data:_____ ()não
Tratamento adjuvante prévio: ()sim ()não	Tipo de adjuvância: ()QT ()RxT ()QT RxT
Tipo QT:_____	Data recidiva: _____
Tratamento cirúrgico paliativo: ()gastrectomia subtotal ()Gastroentero ()Jejunostomia ()Jejunostomia () Outro:_____	Metástase: ()Locorregional ()Distância, sítio_____
BlocoParafina (número):_____	()Gastrectomia ()EDA ()Metástase
Quimioterapia paliativa: ()sim ()não	Esquema:_____
Segundalinha: ()sim ()não	Data do início:_____
	Data do óbito: _____