

Estado da publicação: Não informado pelo autor submissor

CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE BETA-CATENINA E C-MYC COM A AGRESSIVIDADE EM TUMORES DO ESTÔMAGO

Carlos Roberto Naufel-Junior, Nicolau, Osvaldo Malafaia, Luiz Collaço, Martin Gasser, Ana Waaga-Gasser

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.4139>

Submetido em: 2022-05-16

Postado em: 2022-05-17 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE BETA-CATENINA E C-MYC COM A AGRESSIVIDADE EM TUMORES DO ESTÔMAGO

CORRELATION OF IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF BETA-CATENIN AND C-MYC WITH AGGRESSIVITY IN GASTRIC TUMORS

Carlos Roberto **NAUFEL-JUNIOR**^{1,2}, Nicolau Gregori **CZECZKO**²,
Oswaldo **MALAFAIA**^{1,2}, Luiz Martins **COLLAÇO**, Martin **GASSER**^{2,3}, Ana Maria
WAAGA-GASSER^{2,3}

Trabalho realizado no ¹Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil; ²Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil. ³Brigham and Women's Hospital: Boston, MA, USA

ORCID

Carlos Roberto Naufel-Junior – 0000-0002-5783-6189

Nicolau Gregori Czeczko – 0000-0002-5926-150X

Oswaldo Malafaia - 0000-0002-1829-7071

Luiz Martins Collaço - 0000-0002-3215-1650

Martin Gasser - 0000-0002-4987-8389

Ana Maria Waaga-Gasser - 0000-0002-5587-5256

Correspondência:

Carlos Roberto Naufel Junior

Email: carlosnaufel@hotmail.com

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Nenhum

Contribuição dos autores

Carlos Roberto Naufel-Junior: Conceituação

Nicolau Gregori Czeczko: Análise formal

Oswaldo Malafaia: Investigação

Luiz Martins Collaço: Redação (esboço original)

Martin Gasser: Metodologia

Ana Maria Waaga-Gasser: Administração do projeto

RESUMO - Racional: Biomarcadores são macromoléculas presentes no organismo que podem estar relacionadas com células neoplásicas. Nenhum deles para diagnóstico para prevenção secundária foi definido para o câncer gástrico. **Objetivo:** Investigar a expressão imunoistoquímica das proteínas beta-catenina e c-MYC no câncer gástrico e correlacioná-las com a agressividade dos tumores do estômago. **Método:** A amostra consistiu em lâminas histopatológicas, coradas por H&E e blocos de parafina, e realizada imunomarcagem. Dados clínicos retrospectivos foram coletados. As informações clinicoepidemiológicas foram cruzadas com o resultado obtido pela imunomarcagem e sua análise estatística. **Resultado:** Houve predomínio de homens (69,1%), com idade média de 63,8 anos, predominando lesão localizada

no antro (54,5%), pouco diferenciada (49,1%) com células em anel de sinete em 30% dos casos. Em média foram ressecados 18 linfonodos e em 30% não foram detectados linfonodos acometidos. Em 42,7% já havia metástase à distância, predominando fígado (61,7%). O estágio IV foi a classificação de 43,6%, não sendo detectado invasão angiolinfática em 77,3% e perineural em 65,5%. O tratamento foi cirúrgico e quimioterápico em 87,3%, com ressecção R0 em 79,1%. O c-MYC foi negativo em 99,1% e a beta-catenina não foi expressa em 90,9%, sendo inconclusiva em 6 casos. **Conclusão:** A expressão imunoistoquímica dessas proteínas nos tecidos com câncer gástrico não foi observada. Os biomarcadores analisados, c-MYC e beta-catenina, não apresentaram associação com a agressividade tumoral neste câncer. **DESCRITORES** - c-MYC. Beta-catenina. Câncer gástrico. Biomarcadores tumorais.,

ABSTRACT – Background: Biomarkers are macromolecules present in the body that may be related to neoplastic cells. None of them for diagnosis for secondary prevention were defined for gastric cancer. **Objective:** To investigate the immunohistochemical expression of beta-catenin and c-MYC proteins in gastric cancer and to correlate them with the aggressiveness of gastric tumors. **Method:** The sample consisted of histopathological slides, stained by H&E and paraffin blocks, and immunostained. Retrospective clinical data were collected. Clinical and epidemiological information was cross-referenced with the result obtained by immunostaining and its statistical analysis. **Results:** There was a predominance of men (69.1%), with a mean age of 63.8 years, with a predominance of lesions located in the antrum (54.5%), poorly differentiated (49.1%) with signet ring cells in 30 % of cases. On average, 18 lymph nodes were resected and in 30% no affected lymph nodes were detected. In 42.7% there was already distant metastasis, predominantly liver (61.7%). Stage IV was the classification of 43.6%, not being detected angiolymphatic invasion in 77.3% and perineural in 65.5%. Treatment was surgical and chemotherapy in 87.3%, with R0 resection in 79.1%. c-MYC was negative in 99.1% and beta-catenin was not expressed in 90.9%, being inconclusive in 6 cases. **Conclusion:** The immunohistochemical expression of these proteins in tissues with gastric cancer was not observed. The analyzed biomarkers, c-MYC and beta-catenin, showed no association with tumor aggressiveness in this cancer

KEYWORDS - c-MYC. Beta-catenin. Gastric cancer. Tumor biomarkers.

INTRODUÇÃO

A cada ano cerca de 990.000 pessoas são diagnosticadas com câncer gástrico em todo o mundo, sendo que 738.000 morrem desta doença (FERLAY *et al.*, 2008). Estes dados mostram que esta neoplasia é a quarta mais prevalente e a segunda maior causa de morte por câncer no mundo (JEMAL *et al.*, 2011). O câncer gástrico também é responsável por um dos maiores fardos sociais associados a neoplasias, quando medida por anos de vida perdidos e deficiências adquiridas (SOERJOMATARAM *et al.*, 2012).

Cerca de 90% dos casos são de adenocarcinomas, surgindo a partir das glândulas da mucosa. Outros tipos de câncer do estômago incluem linfomas de tecido linfoide associado à mucosa (MALT), leiomiossarcomas, tumores estromais gastrointestinais (GIST) e tumores carcinoides (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016; KARIMI *et al.*, 2014; INCA, 2019).

Vários fatores estão associados com a patogênese desta neoplasia, podendo ser agrupados em dois grupos: ambientais e genéticos. A infecção crônica pelo

Helicobacter pylori, bactéria gram-negativa, é o principal fator de risco (INCA, 2019; PLUMER *et al.*, 2015; KARIMI *et al.*, 2014). História familiar positiva também é assim considerada (BERNINI *et al.*, 2006). Entre 1-3% dos casos desta neoplasia estão associados a distúrbios hereditários (LYNCH *et al.*, 2005).

A ressecção operatória com ampla margem de tecido normal ou a ressecção endoscópica persiste como o tratamento padrão do câncer gástrico quando há intenção curativa (JAPANESE GASTRIC CANCER ASSOCIATION 2017; JOHNSTON *et al.*, 2019; SMYTH *et al.*, 2020). Os pacientes sem doença metastática e sem invasão de estruturas vasculares irressecáveis são candidatos a este tratamento curativo (AOYAMA *et al.*, 2017).

Apesar dos avanços das opções terapêuticas do câncer gástrico nas últimas décadas, como técnicas operatórias minimamente invasivas, quimioterapia, radioterapia e terapia neoadjuvante, as taxas de sobrevida em cinco anos permanecem baixas (TAN, 2019), em torno de 20% (ISOBE *et al.*, 2011).

A disseminação metastática é fatal, causando efeito de massa e falha na homeostase fisiológica. Durante as últimas duas décadas, a proporção de pacientes com câncer gástrico que apresentam metástases aumentou para mais de 40% (BERNARDS *et al.*, 2013; THOMASSEN *et al.*, 2014). Devido à evidente influência prejudicial da disseminação metastática na sobrevida do câncer gástrico, esforços devem ser empreendidos para sua prevenção, diagnóstico precoce ou tratamento (THOMASSEN *et al.*, 2014).

Diversos fatores prognósticos foram relatados como marcadores de agressividade do adenocarcinoma gástrico. Estes fatores podem estar relacionados às características do tumor, ao acometimento linfonodal e à presença de disseminação da doença à distância. A maior parte destes fatores pode ser avaliada a partir do estadiamento pré-operatório (TANIGUCHI *et al.*, 2019).

Atualmente, não existem métodos de rastreamento para detectar o câncer gástrico e como a maior parte dos pacientes em fase inicial da doença é assintomático ou oligossintomático, o diagnóstico é realizado em estágio mais avançado em cerca de 70% dos pacientes (TAN, 2019). Para melhorar a sobrevida e diminuir a mortalidade, a estratégia mais estudada é a detecção precoce através de triagem populacional (KARIMI *et al.*, 2014; SHIN *et al.*, 2014).

Os biomarcadores são macromoléculas presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos, cujo aparecimento ou alterações em suas concentrações estão relacionados com a gênese e o crescimento de células neoplásicas (PACHECO *et al.*, 2002). Tais substâncias funcionam como indicadores da presença do câncer, incluindo antígenos de superfície celular, proteínas citoplasmáticas, enzimas e hormônios e podem ser produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo, em resposta à presença do tumor (ALONZO, 2005).

Vários biomarcadores foram testados para o câncer gástrico, porém a maioria falhou nos estudos de validação. Nenhum marcador de diagnóstico para prevenção secundária foi definido e isto pode estar relacionado com o fato desta neoplasia ser considerada doença heterogênea, aonde cada paciente exibe um perfil genético e molecular distinto. No câncer gástrico possuem maior uso clínico no acompanhamento terapêutico e na definição prognóstica, assim como preditor de recorrência (MATSUOKA *et al.*, 2018).

O c-MYC é oncogene que codifica um fator de transcrição que desempenha papel fundamental na proliferação, crescimento, diferenciação e apoptose celular (FAN *et al.*, 2001), sendo descrito como elemento-chave de vários processos de carcinogênese em seres humanos (KRETZNER *et al.*, 1992). A sua superexpressão

foi descrita em mais de 40% dos cânceres gástricos (MILNE *et al.*, 2007), podendo haver associação entre a expressão de c-MYC e as características histopatológicas e agressividade desta neoplasia (XU *et al.*, 2001; HAN *et al.*, 2016). Portanto, a expressão de c-MYC pode representar fenótipo agressivo de câncer gástrico e pode estar relacionada com a sobrevida restrita em estágios avançados (KHALEGHIAN *et al.*, 2015).

A beta-catenina é proteína multifuncional, que desempenha função como proteína de adesão e como fator nas vias de sinalização, principalmente às relacionadas com a Wnt (SCHWEIZER *et al.*, 2003). A sua regulação negativa diminui a capacidade de as células aderirem umas às outras, o que induz a sua separação do tumor primário, levando à infiltração nos tecidos circundantes (KABASHIMA *et al.*, 2005). Assim, níveis anormais de expressão da beta-catenina são potenciais marcadores da invasão submucosa no câncer gástrico precoce (TANAKA *et al.*, 2002). A ativação da sinalização da beta-catenina é encontrada em cerca de 30-50% dos casos de câncer gástrico (CHIURILLO, 2015), geralmente associado ao tipo difuso e metástases à distância (EBERT *et al.*, 2003).

O objetivo deste trabalho foi investigar a expressão imunoistoquímica das proteínas beta-catenina e c-MYC nos tecidos de pacientes com câncer gástrico e correlacioná-las com a agressividade desse tumor

MÉTODO

Trata-se de pesquisa longitudinal retrospectiva realizada no período de junho de 2017 a dezembro de 2019 na Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil, e Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente sob número 1.999.670, estando de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CNS/MS).

Amostra

Consistiu em lâminas histopatológicas coradas por H&E e blocos de parafina provenientes de 110 pacientes. A amostra foi selecionada a partir do CID 10: C16. Foram selecionados pacientes com este diagnóstico submetidos à ressecção parcial ou total do estômago no período de 2000 a 2016. Após a seleção dos casos, foi realizada a pesquisa dos respectivos blocos de parafina contendo tecido tumoral e suas lâminas coradas com H&E.

Cada amostra foi identificada e processada conforme as técnicas histológicas de rotina, conservadas em solução formol, tamponadas e fixadas em parafina. Após este processo, eram submetidas a avaliação histológica para inclusão no estudo. Nos blocos realizou-se a imunomarcagem para os biomarcadores c-MYC e beta-catenina.

Após a seleção dos pacientes que possuíam bloco viável de ser incluído no estudo, iniciou-se a busca por informações clínicas de cada caso, utilizando-se o prontuário eletrônico, PEP e o laudo anatomopatológico do tumor gástrico. Cada caso incluído foi inserido em um protocolo padronizado que era constituído pelas seguintes variáveis: nome, data de nascimento, idade ao diagnóstico, gênero, número do bloco de parafina, diagnóstico histológico, local do tumor primário, presença de células em anéis de sinete, TNM patológico, tamanho do tumor, número de linfonodos acometidos e ressecados, local da metástase ao diagnóstico (se houvesse), classificação Union for International Cancer Control (UICC), grau de diferenciação do tumor, presença de

invasão angiolinfática e perineural, tratamento primário realizado, status da ressecção cirúrgica e a leitura das imunomarcações do c-MYC e beta-catenina.

Variáveis analisadas

Os pacientes foram classificados em gênero masculino e feminino. Os tumores eram classificados de acordo com o seu tamanho medido em centímetros, obtido através da análise do laudo anatomopatológico. Também foram divididos de acordo com sua localização primária em antro, corpo e fundo. Em alguns casos a localização do tumor suplantava uma topografia, sendo denominado duplamente como fundo e corpo. Alguns pacientes já se apresentavam com metástase à distância desde o momento do diagnóstico. Eles foram classificados conforme o local da metástase em hepática, peritônio, ósseo, pulmão, pâncreas, baço e omento. O laudo histológico foi classificado conforme o grau de diferenciação descrita pela UICC em: indeterminado, pouco diferenciado, moderadamente diferenciado e muito diferenciado (HU *et al.*, 2012). Na sequência os blocos de parafina e as lâminas do grupo adenocarcinoma foram encaminhados para a imunistoquímica. A presença de células em anel de sinete foi classificada como presente ou não presente. O estadiamento tumoral foi baseado na 8ª edição do sistema de classificação TNM (HAYES *et al.*, 2017). O achado de invasão angiolinfática e perineural foi classificado como presente ou ausente. O tratamento foi dividido em cirúrgico, cirúrgico com quimioterapia e cirúrgico associado à quimioterapia e radioterapia. O status da ressecção cirúrgica dizia respeito ao que foi encontrado pela patologia na avaliação da peça cirúrgica. Foi utilizado a classificação da UICC (HU *et al.*, 2012), padronizou-se: R0 como ressecção completa, margens histologicamente negativas, sem tumor residual deixado após a ressecção; R1 como ressecção incompleta, margens histologicamente envolvidas, com tumor microscópico mantendo-se após a ressecção cirúrgica do tumor; e R2 como ressecção incompleta, margens envolvidas ou tumor macroscópico permanece após a ressecção cirúrgica. O número de linfonodos ressecados e o de acometidos foi classificado de acordo com a quantidade.

Os critérios de inclusão consistiram em pacientes maiores de 18 anos, portadores de câncer gástrico confirmado por análise histopatológica de material biológico proveniente de amostra tumoral representativa no bloco de parafina para que pudesse ser obtido pelo menos 3 cortes de material de qualidade adequada e em bom estado de preservação.

Os critérios de exclusão foram pacientes com tratamentos prévios, quimioterápicos ou radioterápicos, com prontuários contendo dados incompletos, impossibilidade de se conseguir o bloco de parafina ou quando a análise histopatológica não confirmou câncer gástrico.

Técnica imunistoquímica

Os casos foram submetidos a técnica da imunoperoxidase, realizada em instrumento Benchmark Ultra™, com processamento 3 em 1 integrado, compreendendo a desparafinização, re-hidratação e recuperação antigênica, com tampões Cell Conditioning 1 (pH alto) e Cell Conditioning 2 (pH baixo).

A incubação com anticorpos primários durou entre 16-20 min em temperatura ambiente. A amplificação foi realizada por Ultraview Universal DAB Detection Kit®. O processamento foi todo realizado em plataforma automatizada Ventana Benchmark Ultra™, utilizando-se os anticorpos anti-c-MYC e o anti-CTNNB1 (Tabela 1). Controles positivos internos e externos atestaram a fidelidade das reações.

TABELA 1 – Descrição dos anticorpos utilizados com seus respectivos fabricantes e diluições

| Proteína | Anticorpo | Marca | Especificação | Diluição | Código do produto |
|---------------|--------------------------------|---------|---------------|----------|-------------------|
| c-MYC | Anti-c-MYC, cloneMYC275+MYC909 | MEdayis | AMR* | 1:100 | MC0134 |
| Beta-catenina | Anti-CTNNB1, monoclonal | LSBio | AMR* | 1:50 | LS-C311950/77007 |

*AMR=anticorpo monoclonal de rato

Após a realização da imunomarcação, as lâminas obtidas foram laudadas no microscópio Olympus CX31 por 2 patologistas diferentes, em tempos distintos. Foram utilizados os seguintes parâmetros: 1) marcação positiva para a beta-catenina: na presença de marcação na superfície interna da membrana celular; para o c-MYC: quando expressado no núcleo celular. Foi considerada marcação negativa quando o anticorpo não foi visualizado em nenhuma localização histológica, ou seja, com ausência de marcação. Foi considerado inconclusivo quando não houve a possibilidade de realizar a leitura da lâmina devido à qualidade inadequada da amostra.

Confecção dos blocos multiamostrais

Utilizou-se nesta pesquisa um aparelho manual para confecção dos blocos multiamostrais da marca Tissue Tek Quick-Array™. Ele contém pinças acopladas com diâmetros variando de 1-3 mm, responsáveis pela extração da área desejada para a realização da imunoistoquímica. A técnica completa para a montagem dos blocos multiamostrais, seguiu os seguintes passos: seleção das áreas nas lâminas coradas em H&E, que continham maior representação da neoplasia, sendo essas áreas marcadas com caneta de retroprojeto; baseando-se nas marcações feitas nas lâminas, foram realizadas as mesmas marcações nos respectivos blocos de parafina e denominados doadores.

Foi criada em planilha Excell® uma tabela dos referidos casos, semelhante a um mapa cartesiano com 10 colunas e seis linhas. A primeira célula desta tabela ficou em branco, pois ela serviu de marcação para o início da leitura das lâminas. Nas demais foram anotados os números de registros dos casos. O bloco multiamostrais foi confeccionado a partir de um molde de parafina contendo 24 orifícios (6x4) com diâmetros de 2 mm. O objetivo deste molde era reproduzir a tabela supracitada. A primeira célula, correspondia ao primeiro orifício deste molde, que foi destinado a um tecido não relacionado ao estudo, neste caso um fragmento de placenta. Após a criação das tabelas, os blocos doadores eram organizados em uma bancada; iniciava-se a extração das áreas marcadas dos blocos doadores com o equipamento manual de TMA. Posteriormente, os fragmentos eram alocados nos orifícios correspondentes no molde de parafina, obedecendo a ordem criada na planilha Excell®. Após o preenchimento de todos os orifícios, os moldes foram emblocados em parafina e cada bloco era submetido à microtomia de 5 µm e colocados em lâminas Superfrost Plus (hidrofílica).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram descritos por médias, desvios-padrão, valores mínimos e máximos (variáveis quantitativas) ou por frequências e percentuais (variáveis categóricas). Para a análise da associação entre variáveis categóricas e o marcador beta-catenina, foi usado o teste exato de Fisher ou o Qui-quadrado. Para a comparação das classificações negativo e positivo de beta-catenina, em relação a variáveis quantitativas, foi usado o teste t de Student para amostras independentes

ou o não-paramétrico de Mann-Whitney. Para as comparações das classificações negativo, positivo e inconclusivo, foi usado o modelo de análise da variância (ANOVA) com fator ou o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA.

RESULTADOS

A variação de idade foi de 27-88 anos (média 63,8) e desvio-padrão de 12,3 anos. O predomínio foi de homens (69,1%). Em 60 pacientes (54,5%), o tumor estava localizado no antro gástrico. O corpo foi a localização de 23 (20,9%) tumores. Em 22 pacientes (20%) a lesão se estendia entre o fundo e o corpo gástrico. A presença de células em anel de sinete no resultado anatomopatológico foi identificada em 33 pacientes (30%). O tamanho da lesão variou entre 0,3-22 cm (média 6,2 cm, Tabela 2).

TABELA 2 – Características do tumor

| Variável | n | Classificação | Resultado* |
|-------------------------|-----|---|----------------------|
| Localização | 110 | Antro | 60 (54,5%) |
| | | Corpo | 23 (20,9%) |
| | | Fundo e Corpo | 22 (20%) |
| | | Fundo | 5 (4,5%) |
| NOTE / Primary Organ TU | 110 | Adenocarcinoma | 77 (70%) |
| | | Adenocarcinoma (Células anel de sinete) | 33 (30%) |
| Tamanho | 110 | | 6,2 ± 3,7 (0,3 - 22) |

A maior parte dos pacientes, 54 (49,10%) possuíam tumor pouco diferenciado, de grau III. Dos demais, 38 (34,5%) eram moderadamente diferenciado, 12 (10,9%) indiferenciado e 6 (5,5%) bem diferenciado (Figura 1).

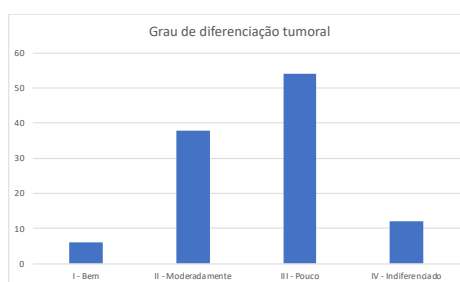


FIGURA 1 – Grau de diferenciação tumoral

Disseminação linfonodal e estadiamento

O número de linfonodos ressecados variou de 6-26, com média de 18 por procedimento. Em 33 (30%) pacientes, não foram detectados linfonodos acometidos por neoplasia, sendo classificados como N0. Os demais achados encontram-se na Tabela 3.

TABELA 3 – Disseminação linfonodal

| Variável | n | Classificação | Resultado* |
|--|-----|---------------|-------------------|
| Percentual de linfonodos acometidos/ressecados | 110 | | 38% 37% (0%-100%) |

| | | | |
|---|-----|-----|------------|
| n | 110 | N0 | 33 (30,0%) |
| | | N1 | 19 (17,3%) |
| | | N2 | 12 (10,9%) |
| | | N3a | 30 (27,3%) |
| | | N3b | 16 (14,5%) |

Quarenta e oito pacientes (43,6%) foram classificados como em estágio IV na classificação TNM, seguido de 17 (15,5%) no estágio IIB (Tabela 4).

TABELA 4 – TNM patológico

| Variável | n | Classificação | n (%) |
|----------|-----|---------------|------------|
| TNM | 110 | 0 | 2 (1,8%) |
| | | IA | 5 (4,5%) |
| | | IIA | 13 (11,8%) |
| | | IIIA | 4 (3,6%) |
| | | IB | 6 (5,5%) |
| | | IIB | 17 (15,5%) |
| | | IIIB | 9 (8,2%) |
| | | IIIC | 6 (5,5%) |
| | | IV | 48 (43,6%) |

A maior parte dos pacientes encontravam-se no estágio T3 quando do diagnóstico (n=50, 45,5%), seguido de 23 casos T4a (20,9%), 16 T2 (14,5%), 10 T4b (9,1%), 6 T1a (5,5%), 3 T1b (2,7%) e 2 Tis (1,8%, Figura 2).

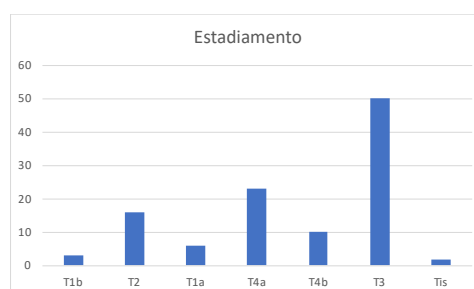


FIGURA 2 – Estadiamento do tumor

Em 47 pacientes (42,7%) já existiam metástases à distância quando do diagnóstico, predominando no fígado, com 29 casos (61,7%). A Tabela 5 mostra a distribuição das metástases à distância e a classificação metastática

TABELA 5 – Disseminação linfonodal

| Variável | n | Classif | n (%) |
|---|-----|---------------|------------|
| Metástase à distância | 110 | Não | 63 (57,3%) |
| | | Sim | 47 (42,7%) |
| Metástase à distância (restrito a casos com metástase) | 47 | Fígado | 29 (61,7%) |
| | | Peritônio | 11 (23,4%) |
| | | Pâncreas | 4 (8,5%) |
| | | Baço e omento | 1 (2,1%) |
| | | Pulmão | 1 (2,1%) |
| | | Óssea | 1 (2,1%) |
| M | 110 | M0 | 63 (57,3%) |
| | | M1 | 47 (42,7%) |

A presença de invasão angiolinfática foi detectada em 25 pacientes (22,7%) e a perineural em 38 (34,5%, Tabela 6).

TABELA 6 – Invasão angiolinfática e perineural

| Variável | n | Classif | n (%) |
|------------------------|-----|---------------|------------|
| Invasão angiolinfática | 110 | Não detectada | 85 (77,3%) |
| | | Presente | 25 (22,7%) |
| Invasão perineural | 110 | Não detectada | 72 (65,5%) |
| | | Presente | 38 (34,5%) |

Tratamento realizado

A maior parte, 87,3%, foi tratada cirurgicamente, com associação de quimioterapia adjuvante. Em 8,2% dos casos foi realizada somente o procedimento cirúrgico e em 4,5% a radioterapia com a operação e a quimioterapia (Tabela 7).

TABELA 7 – Tratamento realizado

| Variável | n | Classificação | n (%) |
|----------------------------|-----|--------------------|------------|
| Tratamento primário | 110 | Cirurgia | 9 (8,2%) |
| | | Cirurgia + QT | 96 (87,3%) |
| | | Cirurgia + QT + RT | 5 (4,5%) |
| Status ressecção cirúrgica | 110 | R0 | 87 (79,1%) |
| | | R1 | 13 (11,8%) |
| | | R2 | 10 (9,1%) |

A margem cirúrgica foi considerada como R0 em 87 pacientes (79,1%), R1 em 13 (11,8%) e R2 em 10 (9,1%)

Expressão dos marcadores tumorais

O c-MYC foi negativo em 99,1%. A beta-catenina não foi expressada em 90,9% e inconclusiva em 6 (5,5%). Quando positiva, apresentou titulações iguais, sendo um caso em cada (Tabela 8).

TABELA 8 – Expressão dos marcadores tumorais

| Variável | n | Classificação | n (%) |
|---------------|-----|------------------------|-------------|
| c-MYC | 110 | Negativo | 109 (99,1%) |
| | | Inconclusivo | 1 (0,9%) |
| Beta-catenina | 110 | Negativo | 100 (90,9%) |
| | | Positivo, 10% (++/++3) | 1 (0,9%) |
| | | Positivo, 20% (++/++3) | 1 (0,9%) |
| | | Positivo, 50% (+++/+3) | 1 (0,9%) |
| | | Positivo, 80% (++/++3) | 1 (0,9%) |
| | | Inconclusivo | 6 (5,5%) |
| Beta-catenina | 110 | Negativo | 100 (90,9%) |
| | | Positivo | 4 (3,6%) |
| | | Inconclusivo | 6 (5,5%) |
| c-MYC | 110 | Negativo | 109 (99,1%) |
| | | Inconclusivo | 1 (0,9%) |

A associação entre as expressões dos marcadores e as variáveis demográficas e clínicas estão descritas na Tabela 9. Para classificações com menos do que 3 casos, não foram apresentados percentuais. Para algumas variáveis, em função do pequeno número de casos nas classificações, não foi possível a aplicação de teste estatístico.

TABELA 9 – Expressão de beta-catenina e variáveis demográficas

| Variável | Beta-catenina | n | Média ± desvio-padrão (min - max) | p* |
|--------------|---------------|-----|-----------------------------------|----|
| Idade (anos) | Negativo | 100 | 64,4 ± 12,1 (27 - 88) | |
| | Positivo | 4 | 67,5 ± 10,1 (55 - 79) | |

| | | | | |
|--|--------------|-----|-----------------------|--------------|
| | Inconclusivo | 6 | 51,2 ± 9,8 (38 - 61) | 0,030 |
| Tamanho | Negativo | 99 | 6,2 ± 3,8 (0,3 - 22) | |
| | Positivo | 4 | 7,0 ± 2,9 (3,1 - 10) | |
| | Inconclusivo | 6 | 6,3 ± 3,5 (2,0 - 11) | 0,688 |
| Percentual de linfonodos acometidos/ressecados | Negativo | 100 | 38% ± 38% (0% - 100%) | |
| | Positivo | 4 | 11% ± 15% (0% - 31%) | |
| | Inconclusivo | 6 | 5% ± 4% (0% - 89%) | 0,328 |

*ANOVA com um fator (idade); teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (tamanho e proporção de linfonodos acometidos/ressecados); p<0,05

Para a idade foi encontrada diferença significativa entre as classificações da beta-catenina. Sendo assim, estas classificações foram comparadas 2 a 2 (Tabela 10).

TABELA 10 – Classificações de beta-catenina comparadas

| Classificações de beta-catenina comparadas | p* |
|--|--------------|
| Negativo x positivo | 1 |
| Negativo x inconclusivo | 0,030 |
| Positivo x inconclusivo | 0,112 |

*Teste de Bonferroni, p<0,05

Na Tabela 11 estão descritos os percentuais calculados em relação ao total nas linhas (“n”)

TABELA 11 – Percentuais de beta-catenina calculados em relação ao total

| Variável | Classificação | n | Beta-catenina | | | p* |
|-------------|---------------|----|---------------|----------|--------------|-------|
| | | | Negativo | Positivo | Inconclusivo | |
| Sexo | Feminino | 34 | 32 (94,1%) | 1 (2,9%) | 1 (2,9%) | 0,708 |
| | Masculino | 76 | 68 (89,5%) | 3 (4%) | 5 (6,6%) | |
| Localização | Antro | 60 | 55 (91,7%) | 1 (1,7%) | 4 (6,7%) | |
| | Corpo | 23 | 21 (91,3%) | 1 (4,4%) | 1 (4,4%) | |
| | Fundo e corpo | 22 | 20 (90,9%) | 1 (4,6%) | 1 (4,6%) | |
| | Fundo | 5 | 4 (80%) | 1 (20%) | | - |

| | | | | | | |
|-----------------------|------------------------|----|------------|-----------|-----------|-------|
| NOTE/Primary Organ TU | Adenocarcinoma | 77 | 70 (90,9%) | 4 (5,2%) | 3 (3,9%) | |
| | Células anel de sinete | 33 | 30 (90,9%) | 0 (0%) | 3 (9,1%) | 0,240 |
| Invasão | Tis | 2 | 2 | | | |
| | T3 | 50 | 46 (92%) | 3 (6%) | 1 (2%) | |
| | T4b | 10 | 8 (80%) | 1 (10%) | 1 (10%) | |
| | T4a | 23 | 22 (95,7%) | | 1 (4,4%) | |
| | T1a | 6 | 5 (83,3%) | | 1 (16,7%) | |
| | T2 | 16 | 14 (87,5%) | | 2 (12,5%) | |
| N | T1b | 3 | 3 (100%) | | | - |
| | N0 | 33 | 30 (90,9%) | 2 (6,1%) | 1 (3%) | |
| | N1 | 19 | 17 (89,5%) | 1 (5,3%) | 1 (5,3%) | |
| | N2 | 12 | 11 (91,7%) | 1 (8,3%) | | |
| | N3a | 30 | 27 (90%) | | 3 (10%) | |
| Metástase à distância | N3b | 16 | 15 (93,8%) | | 1 (6,3%) | - |
| | 0 | 63 | 56 (88,9%) | 3 (4,8%) | 4 (6,4%) | |
| Metástase à distância | 1 | 47 | 44 (93,6%) | 1 (2,1%) | 2 (4,3%) | 0,672 |
| | Fígado | 29 | 26 (89,7%) | 1 (3,5%) | 2 (6,9%) | |
| | Peritoneo | 11 | 11 (100%) | | | |
| | Pâncreas | 4 | 4 (100%) | | | |
| | Baço e omento | 1 | 1 | | | |
| | Pulmão | 1 | 1 | | | |
| M | Óssea | 1 | 1 | | | - |
| | M0 | 63 | 56 (88,9%) | 3 (4,8%) | 4 (6,4%) | |
| TNM | M1 | 47 | 44 (93,6%) | 1 (2,1%) | 2 (4,3%) | 0,672 |
| | 0 | 2 | 2 | | | |
| | IA | 5 | 4 (80%) | | 1 (20%) | |
| | IIA | 13 | 11 (84,6%) | 2 (15,4%) | | |

| | | | | | | |
|------------------------|---------------------|----|------------|-----------|-----------|-------|
| | IIIA | 4 | 3 (75%) | | 1 (25%) | |
| | IB | 6 | 6 (100%) | | | |
| | IIB | 17 | 17 (100%) | | | |
| | IIIB | 9 | 7 (77,8%) | | 2 (22,2%) | |
| | IIIC | 6 | 5 (83,3%) | 1 (16,7%) | | |
| | IV | 48 | 45 (93,8%) | 1 (2,1%) | 2 (4,2%) | - |
| Diferenciação | I (Bem) | 6 | 6 (100%) | | | |
| | II (Moderadamente) | 38 | 35 (92,1%) | 1 (2,6%) | 2 (5,3%) | |
| | III (Pouco) | 54 | 48 (88,9%) | 3 (5,6%) | 3 (5,6%) | |
| | IV (Indiferenciado) | 12 | 11 (91,7%) | | 1 (8,3%) | - |
| Invasão angiolinfática | Não detectada | 85 | 76 (89,4%) | 4 (4,7%) | 5 (5,9%) | |
| | Presente | 25 | 24 (96%) | | 1 (4%) | - |
| Invasão perineural | Não detectada | 72 | 64 (88,9%) | 4 (5,6%) | 4 (5,6%) | |
| | Presente | 38 | 36 (94,7%) | | 2 (5,3%) | 0,331 |

| | | | | | | |
|---------------------|--------------------|----|------------|-----------|-----------|---|
| Tratamento primário | Operação | 96 | 89 (92,7%) | 3 (3,1%) | 4 (4,2%) | |
| | Operação + QT | 7 | 5 (71,4%) | 1 (14,3%) | 1 (14,3%) | |
| | Cirurgia + QT + RT | 4 | 4 (100%) | | | |
| | Surg+CTX | 2 | 1 | | 1 | |
| | Surg+CTX+RTX | 1 | 1 | | | - |
| Margem CX | R0 | 87 | 79 (90,8%) | 3 (3,5%) | 5 (5,8%) | |
| | R1 | 13 | 11 (84,6%) | 1 (7,7%) | 1 (7,7%) | |
| | R2 | 10 | 10 (100%) | | | - |

*Teste de qui-quadrado, $p < 0,05$

DISCUSSÃO

O câncer gástrico predomina em homens, com idade entre 60-70 anos (INCA, 2019) e nos EUA, o pico foi dos 75-84 anos (GUGGENHEIM et al, 2013). Neste levantamento, a idade média foi de 63,8 anos (27-88), estritamente dentro da média brasileira.

A variação de faixa etária em nosso estudo pode ser justificada pela presença de achado de células em anel de sinete em cerca de 30% da amostra, característica de tumores do tipo difuso que possuem potencial de agressividade maior quando comparado ao tipo intestinal, e incidem em faixa etária mais jovem (LAUREN, 1965; WERNER *et al.*, 2001). A idade média para o diagnóstico gira em torno de 65 anos (LI *et al.*, 2020). Neste estudo, a incidência em mulheres foi de 30,9%.

Dividimos a câmara gástrica em corpo, fundo e antro. Karimi (2014) considera essas áreas delimitadas por demarcações anatômicas e/ou diferenças histológicas e geralmente possuem diferentes padrões anatomopatológicos e causas epidemiológicas (KARIMI *et al.*, 2014).

Os tumores da variante intestinal predominam no antro e corpo distal, apresentando curso mais longo e com melhor prognóstico (MA *et al.*, 2016). A maior parte dos pacientes do estudo, 54,5%, apresentavam lesão no antro. As frequências relativas são de aproximadamente 54% dos casos para o tipo intestinal, 32% para o tipo difuso e 15% para o tipo indeterminado (POLKOWSKI *et al.*, 1999).

A avaliação do grau de diferenciação tumoral, que diferencia o tumor em relação ao tecido de origem, também apresenta contribuição para o estadiamento. As neoplasias pouco diferenciadas, quando comparadas com o tecido de origem, são geralmente mais agressivas e tendem a crescimento mais rápido em comparação com os tumores considerados bem diferenciados, que possuem melhor prognóstico (HAYES *et al.*, 2017). Quase a metade deste estudo (49,10%) foi classificada como apresentando tumor pouco diferenciado e 34% moderadamente.

Taniguchi (2019) em estudo sobre fatores preditores do estágio do câncer gástrico dispôs que diâmetro tumoral maior que 60 mm estaria associada a doença avançada. Em nosso estudo o tamanho da lesão tumoral variou entre 0,3-22 cm, com

média de 6,2 cm. Quando considerada a penetração da parede, a maior parte dos pacientes encontrava-se no estágio T3 quando do diagnóstico, com 45,5% dos casos.

A progressão do tumor pode ser avaliada pelo número de metástases nodais, quanto maior o número identificado, maior o estágio da doença (HALLINAN *et al.*, 2013). A dissecação linfonodal durante o tratamento curativo do câncer gástrico tem como objetivo realizar estadiamento mais acurado, determinando a extensão do envolvimento metastático linfonodal e também possui impacto no prognóstico destes pacientes (TAN, 2019).

O número mínimo de linfonodos dissecados deve ser de 15, o que leva a melhora dos resultados oncológicos (JOHNSTON *et al.*, 2019; MOKADEM *et al.*, 2019). Em nosso estudo esse número variou de 6-26, com média de 18 por procedimento. Em 30% dos pacientes não foram detectados linfonodos acometidos por neoplasia. Trinta apresentaram de 7-15 linfonodos acometidos, sendo classificados no estágio N3a. Em nosso estudo 43,6% dos pacientes foram diagnosticados como de estágio TNM IV, seguido de 15,5% em IIB.

Os locais metastáticos mais relacionados ao câncer gástrico são fígado, peritônio e linfonodos a distância (VERSTEGEN *et al.*, 2020), sendo que o sítio mais comum é o fígado, ocorrendo em cerca de 70% dos casos, seguido de ossos, pulmões e cérebro (LI *et al.*, 2020). A disseminação peritoneal é duas vezes mais comum no adenocarcinoma de anel de sinete (RIIHIMAKI *et al.*, 2016). Neste estudo o órgão mais acometido foi o fígado, em 61,7% dos pacientes. Em 23,4%, o sítio de acometimento foi peritoneal.

A sobrevida tende a ser menor quando ocorrem metástases (RIIHIMAKI *et al.*, 2016), em nosso estudo elas foram observadas em 57,3% dos pacientes.

Cânceres gástricos com achado de invasão vascular possuem maior angiogênese intratumoral e aqueles com invasão linfática estão relacionados com maior atividade proliferativa. Ambos os achados estão associados às metástases à distância (MAEHARA *et al.*, 2000). Neste estudo, esta característica foi observada em 77,3% dos pacientes.

A invasão perineural é considerada fator prognóstico independente que afeta a sobrevida global e a sobrevida livre de doença de pacientes com câncer gástrico submetidos à ressecção curativa (DENG *et al.*, 2014). Este efeito pode ser considerado como independente do status de disseminação linfonodal, do tamanho do tumor e da profundidade de sua invasão (HWANG *et al.*, 2015). Neste estudo, a invasão perineural foi identificada em 34,5% dos pacientes.

A ressecção cirúrgica com ampla margem de estômago normal ou a ressecção endoscópica persistem como o tratamento padrão do câncer gástrico quando há intenção curativa (JAPANESE GASTRIC CANCER ASSOCIATION 2017; JOHNSTON *et al.*, 2019; SMYTH *et al.*, 2020). Aqueles sem doença metastática e sem invasão de estruturas vasculares irresssecáveis são candidatos ao tratamento curativo.

A quimioterapia perioperatória aumenta a chance de ressecção curativa e elimina disseminação microscópica precoce, levando assim à melhora da sobrevida livre de doença e por isto é considerada valiosa modalidade terapêutica para o adenocarcinoma gástrico (SMYTH *et al.*, 2020; TANIGUCHI *et al.*, 2019; CUNNINGHAM *et al.*, 2006).

A quimioterapia possui o potencial de melhorar a sobrevida e a qualidade de vida. Esta opção deve ser ofertada aos pacientes com status preservado e perspectiva de sobrevida (CHARALAMPAKIS *et al.*, 2018). Neste estudo, a maior parte (87,3%),

foi tratado com operação associada à quimioterapia adjuvante. Em 8,2% dos casos foi realizada somente o procedimento cirúrgico.

A evolução dos agentes biológicos permitiu selecionar o tratamento com base nas características moleculares da doença. Pacientes com câncer gástrico com superexpressão do oncogene HER2 se beneficiam do tratamento com o anticorpo anti-HER2 Trastuzumabe (PAOLETTI *et al.*, 2010; CHARALAMPAKIS *et al.*, 2018).

A margem de ressecção R1 está associada à recidiva precoce e pior prognóstico (DIGKLIA *et al.*, 2016). Já a R0 é considerada fator protetivo de recorrências (MOKADEM *et al.*, 2019). A margem cirúrgica foi considerada como R0 em 87 pacientes.

A taxa de recorrência para aqueles submetidos à ressecção considerada R0 pode chegar a 30%, com tempo médio de recorrência de 21,8 meses, sendo o mais frequente a recorrência peritoneal (YOO *et al.*, 2000).

Expressão dos marcadores tumorais

c-MYC

Este marcador é um oncogene que codifica fator de transcrição que desempenha papel fundamental na proliferação, crescimento, diferenciação e apoptose celular, sendo amplamente expresso durante a embriogênese e em tecidos adultos que possuem alto conteúdo proliferativo, como a epiderme e o intestino (FAN *et al.*, 2001). Foi descrito como elemento-chave de vários processos de carcinogênese em seres humanos (KRETZNER *et al.*, 1992).

A superexpressão do *c-MYC* foi descrita em mais de 40% dos cânceres gástricos (MILNE *et al.*, 2007). Descobriu-se que a proteína *c-MYC* foi expressa em todos os casos de amostras de adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal e difuso de indivíduos do Norte do Brasil (CALCAGNO *et al.*, 2006). Existe associação entre a expressão de *c-MYC* e as características histopatológica e há expressão significativamente maior de *c-MYC* em adenocarcinomas gástricos do tipo intestinal do que no difuso (XU *et al.*, 2001).

A expressão de *c-MYC* mais elevada foi também encontrada em câncer gástrico com infecção por *H. pylori* do que os sem ela (ZHANG *et al.*, 2004). Esta infecção pode afetar a expressão de *c-MYC* em doenças gástricas, especialmente na gastrite crônica atrófica (GEORGE *et al.*, 2020). Isto foi corroborado em estudo que identificou expressão aumentada de *c-MYC* em lesões gástricas consideradas pré-neoplásicas, como gastrite crônica atrófica com metaplasia intestinal assim como associado à infecção por *H. pylori* (CALGAGNO *et al.*, 2008), independentemente do status de CagA, e está associado a alta proliferação celular (GEORGE *et al.*, 2020).

O EBV é outro agente infeccioso que pode contribuir para a transformação oncológica de células hospedeiras, sendo identificado em cerca de 10% dos casos de adenocarcinoma gástrico (LIMA *et al.*, 2008). A expressão de *c-MYC* nos casos de câncer gástrico positivos para infecção por EBV foi maior do que os casos de câncer sem infecção associada. O mecanismo sugerido foi que EBV pode fazer com que a célula hospedeira induza a expressão de *c-MYC* no desenvolvimento precoce do tumor, mas depois afeta negativamente a expressão de *c-MYC* em estádios avançados de câncer, tornando-os menos propensos a ter uma regressão natural através da apoptose (ISHII *et al.*, 2001).

Os níveis de *c-MYC* no tumor podem ser importantes ao se projetar estratégias de tratamento, com a possibilidade de se usar doses terapêuticas mais baixas, superando assim a resistência, toxicidade e os efeitos colaterais dos medicamentos (VITA *et al.*, 2006).

Neste estudo o c-MYC não pode ser relacionado à presença da lesão ou a sua agressividade biológica, pois foi negativo em 99,1% dos pacientes.

Beta-catenina

Ela é proteína multifuncional que desempenha função como proteína de adesão e como fator nas vias de sinalização, principalmente às relacionadas com a Wnt (SCHWEIZER *et al.*, 2003). É codificada pelo gene CTNNB1 e é expressada na membrana, no citoplasma e no núcleo (KATOH, 2018).

A beta-catenina interage com moléculas de adesão, como a E-caderina (CDH1), com mucinas transmembrânicas, como CD227 e CA125, com reguladores de sinalização citoplasmática e com reguladores transcricionais nucleares (KATOH, 2018). As células são unidas umas às outras e à matriz extracelular através de proteínas de superfície chamadas de moléculas de adesão celular, sendo assim tais glicoproteínas podem unir célula-célula ou célula-matriz extracelular (KATOH, 2018). As principais moléculas de adesão celular responsáveis pela adesão entre as células são as caderinas, que são glicoproteínas transmembrânicas, dependentes de cálcio, que unem as células por meio de interações homofílicas proteína-proteína através de uma grande cadeia polipeptídica extracelular (VALENTA *et al.*, 2012)

O tipo mais comum de adesão intercelular acontece através das junções aderentes. Elas são importantes para manter a arquitetura tecidual e polaridade celular, limitando a movimentação e proliferação celular. A interação entre a porção citoplasmática das caderinas com as cateninas e a actina do citoesqueleto é fundamental para a estabilidade e funcionamento das junções aderentes. A beta-catenina fica em posição intermediária ligada à E-caderina na extremidade e, na outra liga-se, através da A-catenina, aos filamentos de actina do citoesqueleto para formar as junções aderente (CLEVERS *et al.*, 2012).

A regulação negativa da E-caderina e da beta-catenina diminui a capacidade de as células aderirem uma à outra, o que induz a sua separação do tumor primário, levando à infiltração nos tecidos circundantes (KABASHIMA *et al.*, 2005). Assim, níveis anormais de expressão da E-caderina e da beta-catenina são potenciais marcadores da invasão submucosa no câncer gástrico precoce (TANAKA *et al.*, 2002).

A ativação da sinalização da beta-catenina é encontrada em cerca de 30% a 50% dos casos de câncer gástrico (CHIURILLO, 2015). Sua expressão é frequentemente perdida em cânceres gástricos do tipo difuso e em metástases à distância e pode ser devida à hipermetilação do promotor da beta-catenina. Esta perda da expressão de moléculas de adesão leva à formação de metástases e progressão do câncer. A reversão terapêutica desta alteração genética, poderia ter papel na supressão da metástase do câncer gástrico (EBERT *et al.*, 2003).

A infecção pelo *H. pylori* leva ao acúmulo desta beta-catenina, principalmente em amostras positivas CagA (NAGY *et al.*, 2011). A erradicação dele pode reduzir o risco de câncer gástrico, mas não pode prevenir completamente a carcinogênese, pois a ativação de vias oncogênicas, como a beta-catenina, pode ocorrer antes da erradicação (SONG *et al.*, 2015).

Neste estudo, a beta-catenina não foi expressada em 90,9% dos pacientes, e inconclusiva em outros 6 (5,5%). Quando positiva, apresentava titulações iguais, um caso em cada.

Foram analisados os percentuais de beta-catenina em relação a todas as variáveis propostas. A única diferença significativa entre as classificações foi para a idade.

Estas divergências entre os resultados, tanto para a beta-catenina quanto para o c-MYC, podem ter ocorrido devido as diferentes técnicas de execução dos procedimentos diretamente relacionados à reação imunoistoquímica. Estes fatores podem estar relacionados à sensibilidade, à especificidade ou à qualidade do tecido (TORLAKOVIC *et al.*, 2015).

A sensibilidade pode estar diminuída devido às alterações nos epítomos aos quais os anticorpos são direcionados ou nos anticorpos primários, a molécula pode estar dentro de um compartimento da célula que não é acessível aos reagentes imunoistoquímicos ou pode ter sido degradada ou ainda o processamento do tecido pode ter afetado os antígenos (TRUE, 2008; WILLIAMS *et al.*, 1997). Outro estudo relatou que a natureza e duração das etapas do procedimento de imunoistoquímica possuíam potencial de alterar os resultados (MENGEL *et al.* 2002).

A não especificidade de uma coloração imunoistoquímica pode levar à coloração falso-positiva e isto pode ocorrer por causas imunológicas e não imunológicas (TRUE, 2008).

Além destas razões técnicas elencadas, relacionadas à imunoistoquímica, observa-se que não há padronização de diversos pontos do método de pesquisa, o que tornaria os resultados mais confiáveis para comparação (TORLAKOVIC *et al.*, 2015). O uso de diferentes anticorpos para o mesmo biomarcador, a falta de sistematização na leitura das marcações positivas e a falta de relato sobre a localização da marcação podem influenciar no resultado e alterar a padronização da pesquisa (TRUE, 2008).

CONCLUSÃO

Não foi observada expressão imunoistoquímica das proteínas beta-catenina e c-MYC neste câncer e esses biomarcadores não apresentaram associação com a agressividade tumoral em câncer gástrico.

REFERÊNCIAS

1. Aghedo BO, Kasi A. Virchow Node. [Updated 2020 Oct 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan.
2. Al-Batran S-E, Homann N, Schmalenberg H, et al. Perioperative chemotherapy with docetaxel, oxaliplatin, and fluorouracil/ leucovorin (FLOT) versus epirubicin, cisplatin, and fluorouracil or capecitabine (ECF/ECX) for resectable gastric or gastroesophageal junction (GEJ) adenocarcinoma (FLOT4-AIO): a multicenter, randomized phase 3 trial. *J Clin Oncol.* 2017;35(15_suppl):4004–4.
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biologia molecular da célula.* 4 ed. São Paulo (SP): Artmed; 2006.
4. Albiñá A, Loven J, Ohlsson J, et al. c-Myc-dependent etoposide-induced apoptosis involves activation of Bax and caspases, and PKCdelta signaling. *J Cell Biochem* 2006.
5. Alonzo TA. Standards for reporting prognostic tumor marker studies. *J Clin Oncol.* 2005;23(36):9053-9054.
6. American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures 2016.* Atlanta, GA: American Cancer Society; 2016.
7. An JY, Kim H, Cheong JH, Hyung WJ, Kim H, Noh SH. Microsatellite instability in sporadic gastric cancer: its prognostic role and guidance for 5-FU based chemotherapy after R0 resection. *Int J Cancer.* 2012 Jul 15;131(2):505-11.
8. Aoyama T, Nishikawa K, Fujitani K, et al. Early results of a randomized two-by-two factorial phase II trial comparing neoadjuvant chemotherapy with two and four courses of cisplatin/S-1 and docetaxel/cisplatin/S-1 as neoadjuvant chemotherapy for locally advanced gastric cancer. *Ann Oncol.* 2017;28(8):1876–81.
9. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:687-97.
10. Bergman JJ, Fockens P. Endoscopic ultrasonography in patients with gastroesophageal cancer. *Eur J Ultrasound* 1999;10:127–38.

11. Bernards N, Creemers GJ, Nieuwenhuijzen GA, Bosscha K, Pruijt JF, Lemmens VE. No improvement in median survival for patients with metastatic gastric cancer despite increased use of chemotherapy. *Ann Oncol.* 2013;24:3056–3060.
12. Bernini M, Barbi S, Roviello F, Scarpa A, Moore P, Pedrazzani C, et al. Family history of gastric cancer: a correlation between epidemiologic findings and clinical data. *Gastric Cancer.* 2006;9:9–13.
13. Berth F, Bollschweiler E, Drebbler U, Hoelscher AH, Moenig S. Pathohistological classification systems in gastric cancer: diagnostic relevance and prognostic value. *World J Gastroenterol.* 2014;20(19):5679-5684. doi:10.3748/wjg.v20.i19.5679
14. Bertuccio P, Rosato V, Andreano A, Ferraroni M, Decarli A, Edefonti V, et al. Dietary patterns and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol.* 2013;24:1450–8.
15. Blackham AU, Swords DS, Levine EA, Fino NF, Squires MH, Poultsides G, Fields RC, Bloomston M, Weber SM, Pawlik TM, Jin LX, Spolverato G, Schmidt C, Worhunsky D, Cho CS, Maithel SK, Votanopoulos KI. Is Linitis Plastica a Contraindication for Surgical Resection: A Multi-Institution Study of the U.S. Gastric Cancer Collaborative. *Ann Surg Oncol.* 2016 Apr;23(4):1203-11.
16. Borchard FJH. Classification of gastric carcinoma. *Hepato-Gastroenterology.* 1990;37(2):223–232.
17. Borrmann R. Geschwülste des Magens und Duodenums, in Henke F. Lubarsch O (ed), *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie* (in German). Berlin: Springer-Verlag; 1926.
18. Brar G, Shah MA. The role of pembrolizumab in the treatment of PD-L1 expressing gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Therap Adv Gastroenterol.* 2019;12:1756284819869767.
19. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:175-205.
20. Calcagno DQ, Leal MF, Assumpcao PP, Smith MA, Burbano RR. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. *World J Gastroenterol.* 2008;14(39):5962-5968.
21. Calcagno DQ, Leal MF, Seabra AD, Khayat AS, Chen ES, Demachki S, Assumpcao PP, Faria MH, Rabenhorst SH, Ferreira MV, de Arruda Cardoso Smith M, Burbano RR. Interrelationship between chromosome 8 aneuploidy, C-MYC amplification and increased expression in individuals from northern Brazil with gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6207-6211.
22. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood).* 2018; 243 (3) :213-221.
23. Campelo JCL, Lima LC. Perfil clinicoepidemiológico do câncer gástrico precoce em um hospital de referência em Teresina, Piauí. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2012; 58(1):15-20.
24. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014 Sep 11;513(7517):202-9.
25. Cats A, Jansen EPM, van Grieken NCT, et al.; CRITICS investigators. Chemotherapy versus chemoradiotherapy after surgery and preoperative chemotherapy for resectable gastric cancer (CRITICS): an international, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018 May;19(5):616-628.
26. Chan SH, Wu CW, Li AF, Chi CW, Lin WC. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association. *Anticancer Res.* 2008;28:907–911.
27. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, et al. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am J Surg Pathol* 2000;24:402-9.
28. Charalampakis N, Economopoulou P, Kotsantis I, Tolia M, Schizas D, Liakakos T, Elimova E, Ajani JA, Psyri A. Medical management of gastric cancer: a 2017 update. *Cancer Med.* 2018 Jan;7(1):123-133.
29. Cheon SH, Rha SY, Jeung HC, et al. Survival benefit of combined curative resection of the stomach (D2 resection) and liver in gastric cancer patients with liver metastases. *Ann Oncol.* 2008;19:1146–1153.
30. Chiurillo MA. Role of the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer: An in-depth literature review. *World J Exp Med.* 2015 May 20;5(2):84-102.
31. Chivu-Economescu M, Matei L, Necula LG, Dragu DL, Bleotu C, Diaconu CC. New therapeutic options opened by the molecular classification of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2018;24(18):1942-1961.
32. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell.* 2012 Jun 8;149(6):1192-205.
33. Corley DA, Kubo A, Zhao W. Abdominal obesity and the risk of esophageal and gastric cardia carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:352–8.
34. Csendes A, Burgos AM, Smok G, Burdiles P, Braghetto I, Díaz JC. Latest results (12-21 years) of a prospective randomized study comparing Billroth II and Roux-en-Y anastomosis after a partial gastrectomy plus vagotomy in patients with duodenal ulcers. *Ann Surg.* 2009 Feb;249(2):189-94.
35. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, van de Velde C, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med.* 2006;355(1):11–20.
36. Dai X, Zhang X, Yu J. Clinicopathological features and Borrmann classification associated with HER2-positive in primary gastric cancer. *Clin Exp Gastroenterol.* 2019;12:287-294. Published 2019 Jun 28.
37. Dang CV. C-MYC target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. *Mol Cell Biol.* 1999;19:1-11.
38. De Andrade JP, Mezhir JJ. The critical role of peritoneal cytology in the staging of gastric cancer: an evidence-based review. *J Surg Oncol.* 2014;110(3):291–7.
39. Deng J, You Q, Gao Y, Yu Q, Zhao P, Zheng Y, Fang W, Xu N, Teng L. Prognostic value of perineural invasion in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014 Feb 21;9(2):e88907.
40. Denysenko T, Annovazzi L, Cassoni P, Melcarne A, Mellai M, Schiffer D. WNT/ β -catenin Signaling Pathway and Downstream Modulators in Low- and High-grade Glioma. *Cancer Genomics Proteomics.* 2016 Jan-Feb;13(1):31-45.

41. Digkila A, Wagner AD. Advanced gastric cancer: Current treatment landscape and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2016 Feb 28;22(8):2403-14.
42. Ding SZ, Goldberg JB, Hatakeyama M. Helicobacter pylori infection, oncogenic pathways and epigenetic mechanisms in gastric carcinogenesis. *Future Oncol*. 2010 May;6(5):851-62.
43. Ebert MP, Yu J, Hoffmann J, Rocco A, Röcken C, Kahmann S, Müller O, Korc M, Sung JJ, Malfertheiner P. Loss of beta-catenin expression in metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol*. 2003 May 1;21(9):1708-14.
44. Ebinger SM, Warschkow R, Tarantino I, et al. Modest overall survival improvements from 1998 to 2009 in metastatic gastric cancer patients: a population-based SEER analysis. *Gastric Cancer*. 2016;19(3):723–734.
45. Endoh Y, Sakata K, Tamura G, Ohmura K, Ajioka Y, Watanabe H, Motoyama T. Cellular phenotypes of differentiated-type adenocarcinomas and precancerous lesions of the stomach are dependent on the genetic pathways. *J Pathol*. 2000 Jul;191(3):257-63
46. Ernst PB, Peura DA, Crowe SE. The translation of Helicobacter pylori basic research to patient care. *Gastroenterology* 2006;130(1):188–206. quiz 212–213.
47. Everett SM, Axon AT. Early gastric cancer in Europe. *Gut* 1997;41:142-50.
48. Fan XM, Wong BC, Wang WP, Zhou XM, Cho CH, Yuen ST, Leung SY, Lin MC, Kung HF, Lam SK. Inhibition of proteasome function induced apoptosis in gastric cancer. *Int J Cancer*. 2001 Aug 15;93(4):481-8.
49. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US), www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/ (Acessado em 19 de novembro de 2020).
50. Feng F, Tian Y, Xu G, Liu Z, Liu S, Zheng G, Guo M, Lian X, Fan D, Zhang H. Diagnostic and prognostic value of CEA, CA19-9, AFP and CA125 for early gastric cancer. *BMC Cancer*. 2017 Nov 9;17(1):737.
51. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127:2893–917.
52. Fernandes, LRA; Lippi, UG; Baracat, FF. Índice de risco de malignidade para tumores do ovário incorporando idade, ultra-sonografia e o CA-125. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. 2003, vol.25, n.5, pp.345-351.
53. Figueiredo J, Melo S, Carneiro P, et al. Clinical spectrum and pleiotropic nature of CDH1 germline mutations. *J Med Genet* 2019;56:199-208. 10.1136/jmedgenet-2018-105807.
54. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, Safran H, Dos Santos LV, Aprile G, Ferry DR, Melichar B, Tehfe M, Topuzov E, Zalberg JR, Chau I, Campbell W, Sivanandan C, Pikiel J, Koshiji M, Hsu Y, Liepa AM, Gao L, Schwartz JD, Taberero J; REGARD Trial Investigators. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2014 Jan 4;383(9911):31-39.
55. Galiatsatos P, Foulkes WD. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:385–98.
56. George S, Lucero Y, Torres JP, Lagomarcino AJ, O’Ryan M. Gastric Damage and Cancer-Associated Biomarkers in *Helicobacter pylori*-Infected Children. *Front Microbiol*. 2020;11:90. Published 2020 Feb 12.
57. Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM: Synthesis of alpha-feto-protein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. *Cancer Res* 1972;32:979–982.
58. Giordano, T.J. The Cancer Genome Atlas Research Network: A Sight to Behold. *Endocr Pathol* 25, 362–365 (2014).
59. Grassilli E, Ballabeni A, Maellaro E, Del Bello B, Helin K. Loss of MYC confers resistance to doxorubicin-induced apoptosis by preventing the activation of multiple serine protease- and caspase-mediated pathways. *J Biol Chem*. 2004 May 14;279(20):21318-26.
60. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008;19:1523-9.
61. Gu L, Chen M, Guo D, Zhu H, Zhang W, Pan J, Zhong X, Li X, Qian H, Wang X. PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017 Aug 10;12(8):e0182692.
62. Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Surg Oncol*. 2013 Mar;107(3):230-6.
63. Guner A, Yildirim R. Surgical management of metastatic gastric cancer: moving beyond the guidelines. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019 Aug 19;4:58.
64. Hallinan JT, Venkatesh SK. Gastric carcinoma: imaging diagnosis, staging and assessment of treatment response. *Cancer Imaging*. 2013;13:212–227.
65. Han JP, Hong SJ, Kim HK, Kim HS, Lee YN, Lee TH, Lee JS. Expression of immunohistochemical markers according to histological type in patients with early gastric cancer. *Scand J Gastroenterol*. 2016 Jan;51(1):60-6.
66. Hayes T, Smyth E, Riddell A, Allum W. Staging in Esophageal and Gastric Cancers. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2017 Jun;31(3):427-440.
67. Holian O., Wahid, S., Atten, M.J., & Attar, B. (2002). Inhibition of gastric cancer cell proliferation by resveratrol: role of nitric oxide. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 282 5, G809-16 .
68. Howlader N, Noone A, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER cancer statistics review, 1975-2008. National Cancer Institute; Bethesda, MD: 2011. p. 19.

69. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(3):251-261.
70. Huang KH, Chen JH, Wu CW, Lo SS, Hsieh MC, Li AF, et al. Factors affecting recurrence in node-negative advanced gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24(9):1522–1526.
71. Hugen N, van de Velde CJH, de Wilt JHW, Nagtegaal ID. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol*. 2014;25:651–657.
72. Hwang JE, Hong JY, Kim JE, Shim HJ, Bae WK, Hwang EC, Jeong O, Park YK, Lee KH, Lee JH, Cho SH, Chung IJ. Prognostic significance of the concomitant existence of lymphovascular and perineural invasion in locally advanced gastric cancer patients who underwent curative gastrectomy and adjuvant chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2015 Jun;45(6):541-6.
73. Hwang SW, Lee DH, Lee SH, et al. Preoperative staging of gastric cancer by endoscopic ultrasonography and multidetector-row computed tomography. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:512-8.
74. Huang X, Wang C, Sun J, Luo J, You J, Liao L, Li M. Clinical value of CagA, c-Met, PI3K and Beclin-1 expressed in gastric cancer and their association with prognosis. *Oncol Lett*. 2018 Jan;15(1):947-955.
75. Iba T, Kigawa J, Kanamori Y, Itamochi H, Oishi T, Simada M, Uegaki K, Naniwa J, Terakawa N. Expression of the c-myc gene as a predictor of chemotherapy response and a prognostic factor in patients with ovarian cancer. *Cancer Sci*. 2004 May;95(5):418-23.
76. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.
77. Ishii H, Gobe G, Kawakubo Y, Sato Y, Ebihara Y. Interrelationship between Epstein-Barr virus infection in gastric carcinomas and the expression of apoptosis associated proteins. *Histopathology* 2001; 38: 111-119
78. Isobe Y, Nashimoto A, Akazawa K, Oda I, Hayashi K, Miyashiro I, et al. Gastric cancer treatment in Japan: 2008 annual report of the JGCA nationwide registry. *Gastric Cancer*. 2011;14:301–16.
79. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). *Gastric Cancer*. 2017 Jan;20(1):1-19.
80. Jawhari A, Jordan S, Poole S, et al: Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: Relationship with patient survival. *Gastroenterology* 112:46-54, 1997.
81. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90.
82. Johnston FM, Beckman M. Updates on Management of Gastric Cancer. *Curr Oncol Rep*. 2019 Jun 24;21(8):67.
83. Julia C, Valleron A-J, Louis-René Villermé. (1782-1863), a pioneer in social epidemiology: re-analysis of his data on comparative mortality in Paris in the early 19th century. *J Epidemiol Community Health*. 2011;65:666–70.
84. Kabashima A, Yao T, Maehara Y, Tsuneyoshi M. Relationship between biological behavior and phenotypic expression in undifferentiated-type gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2005;8:220–7.
85. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 May;23(5):700-13.
86. Katai H, Ishikawa T, Akazawa K, Isobe Y, Miyashiro I, Oda I, Tsujitani S, Ono H, Tanabe S, Fukagawa T, et al. Five-year survival analysis of surgically resected gastric cancer cases in Japan: A retrospective analysis of more than 100,000 patients from the nationwide registry of the Japanese Gastric Cancer Association (2001–2007) *Gastric Cancer*. 2018;21:144–154.
87. Katoh M. Multi-layered prevention and treatment of chronic inflammation, organ fibrosis and cancer associated with canonical WNT/ β -catenin signaling activation (Review). *Int J Mol Med*. 2018;42(2):713-725.
88. Khaleghian M, Shakoori A, Razavi AE, Azimi C. Relationship of Amplification and Expression of the C-MYC Gene with Survival among Gastric Cancer Patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(16):7061-9.
89. Kim JJ, Lee JH, Jung HY, Lee GH, Cho JY, Ryu CB, Chun HJ, Park JJ, Lee WS, Kim HS, Chung MG, Moon JS, Choi SR, Song GA, Jeong HY, Jee SR, Seol SY, Yoon YB. EMR for early gastric cancer in Korea: a multicenter retrospective study. *Gastrointest Endosc*. 2007 Oct;66(4):693-700.
90. Kodera Y, Fujitani K, Fukushima N, et al. Surgical resection of hepatic metastasis from gastric cancer: a review and new recommendation in the Japanese gastric cancer treatment guidelines. *Gastric Cancer*. 2014;17:206–212.
91. Koide N, Nishio A, Igarashi J, Kajikawa S, Adachi W, Amano J. Alpha-fetoprotein-producing gastric cancer: histochemical analysis of cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *Am J Gastroenterol*. 1999 Jun;94(6):1658-63.
92. Korpál M, Lee ES, Hu G, Kang Y. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem*. 2008;283:14910–14914.
93. Koshiol J, Qiao YL, Mark SD, Dawsey SM, Abnet CC, Kamangar F, et al. Epstein-Barr virus serology and gastric cancer incidence and survival. *Br J Cancer*. 2007;97:1567–9.
94. Kretzner L, Blackwood EM, Eisenman RN. Myc and Max proteins possess distinct transcriptional activities. *Nature*. 1992;359:426-9.

95. Kusano M, Toyota M, Suzuki H, Akino K, Aoki F, Fujita M, Hosokawa M, Shinomura Y, Imai K, Tokino T. Genetic, epigenetic, and clinicopathologic features of gastric carcinomas with the CpG island methylator phenotype and an association with Epstein-Barr virus. *Cancer*. 2006 Apr 1;106(7):1467-79.
96. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965;64:31-49.
97. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*. 1997 Feb 7;88(3):323-31.
98. Li Y, Xie D, Chen X, Hu T, Lu S, Han Y. Prognostic Value of the Site of Distant Metastasis and Surgical Interventions in Metastatic Gastric Cancer: A Population-Based Study. *Technol Cancer Res Treat*. 2020.
99. Liao YY, Peng NF, Long D, Yu PC, Zhang S, Zhong JH, Li LQ. Hepatectomy for liver metastases from gastric cancer: a systematic review. *BMC Surg*. 2017 Feb 13;17(1):14.
100. Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, Castellano P, Mura AL, Pinto M, Zamboli A, De Vita F, Galizia G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2008 Jan;15(1):69-79.
101. Lima VP, de Lima MA, Andre AR, Ferreira MV, Barros MA, Rabenhorst SH. H pylori (CagA) and Epstein-Barr virus infection in gastric carcinomas: correlation with p53 mutation and c-Myc, Bcl-2 and Bax expression. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 884-891
102. Liu X, Cheng Y, Sheng W, Lu H, Xu Y, Long Z, Zhu H, Wang Y. Clinicopathologic features and prognostic factors in alpha-fetoprotein-producing gastric cancers: analysis of 104 cases. *J Surg Oncol*. 2010 Sep 1;102(3):249-55.
103. Lynch HT, Grady W, Suriano G, Huntsman D. Gastric cancer: new genetic developments. *J Surg Oncol*. 2005;90:114-33.
104. Lynch HT, Lynch JF. Hereditary diffuse gastric cancer: lifesaving total gastrectomy for *CDH1* mutation carriers. *Journal of Medical Genetics* 2010;47:433-435.
105. Lu H, Yamaoka Y, Graham DY. Helicobacter pylori virulence factors: facts and fantasies. *Curr Opin Gastroenterol* 2005;21(6):653-659.
106. Ma J, Shen H, Kapesa L, Zeng S. Lauren classification and individualized chemotherapy in gastric cancer. *Oncol Lett*. 2016;11(5):2959-2964.
107. Maehara Y, Ikeda Y, Miyazaki M, et al. Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma. *Surgery*. 2000;128:408-416.
108. Maehara Y, Oshiro T, Baba H, et al. Lymphatic invasion and potential for tumor growth and metastasis in patients with gastric cancer. *Surgery*. 1995;117:380-385.
109. Maruyama K, Gunvén P, Okabayashi K, Sasako M, Kinoshita T. Lymph node metastases of gastric cancer. General pattern in 1931 patients. *Ann Surg*. 1989;210(5):596-602.
110. Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, Roy A, Bottaro DP. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Sci*. 2017 Mar;108(3):296-307.
111. Matsuoka T, Yashiro M. Biomarkers of gastric cancer: Current topics and future perspective. *World J Gastroenterol*. 2018;24(26):2818-2832.
112. Mengardo V, Treppiedi E, Bencivenga M, Dal Cero M, Giacomuzzi S. Tailored treatment for signet ring cell gastric cancer. *Updates Surg*. 2018 Jun;70(2):167-171.
113. Mengel M, von Wasielewski R, Wiese B, Rüdiger T, Müller-Hermelink HK, Kreipe H. Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol*. 2002 Nov;198(3):292-9.
114. Milne AN, Sitarz R, Carvalho R, Carneiro F, Offerhaus GJ. Early onset gastric cancer: on the road to unraveling gastric carcinogenesis. *Curr Mol Med* 2007; 7: 15-28.
115. Miller, DM., et al. c-Myc and cancer metabolism. *Clin Cancer Res*. v. 18, n. 20, p .5546-5553, 2012.
116. Ming SC. Cellular and molecular pathology of gastric carcinoma and precursor lesions: A critical review. *Gastric Cancer*. 1998 Dec;1(1):31-50.
117. Mocellin S, McCulloch P, Kazi H, Gama-Rodrigues JJ, Yuan Y, Nitti D. Extent of lymph node dissection for adenocarcinoma of the stomach. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;8:CD001964.
118. Mokadem I, Dijksterhuis WPM, van Putten M, Heuthorst L, de Vos-Geelen JM, Haj Mohammad N, Nieuwenhuijzen GAP, van Laarhoven HWM, Verhoeven RHA. Recurrence after preoperative chemotherapy and surgery for gastric adenocarcinoma: a multicenter study. *Gastric Cancer*. 2019 Nov;22(6):1263-1273.
119. Mullen, J.T., Kwak, E.L. & Hong, T.S. What's the Best Way to Treat GE Junction Tumors? Approach Like Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol* 23, 3780-3785 (2016).
120. Muraro, CLPM. Câncer gástrico precoce: contribuição ao diagnóstico e resultado do tratamento cirúrgico. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 2003. 30(5), 352-358.
121. Mūsri FY, Mutlu H, Karaagac M, et al. Primary Tumor Resection and Survival in Patients with Stage IV Gastric Cancer. *J Gastric Cancer* 2016;16:78-84.
122. Nagy TA, Wroblewski LE, Wang D, Piazuolo MB, Delgado A, Romero-Gallo J, Noto J, Israel DA, Ogden SR, Correa P, Cover TL, Peek RM Jr. β -Catenin and p120 mediate PPAR δ -dependent proliferation induced by Helicobacter pylori in human and rodent epithelia. *Gastroenterology*. 2011;141:553-564.
123. Namikawa T, Kawanishi Y, Fujisawa K, Munekage E, Iwabu J, Munekage M, Maeda H, Kitagawa H, Kobayashi M, Hanazaki K. Serum carbohydrate antigen 125 is a significant prognostic marker in patients with unresectable advanced or recurrent gastric cancer. *Surg Today*. 2018 Apr;48(4):388-394.

124. Ono H, Yao K, Fujishiro M, Oda I, Uedo N, Nimura S, Yahagi N, Iishi H, Oka M, Ajioka Y, Fujimoto K. Guidelines for endoscopic submucosal dissection and endoscopic mucosal resection for early gastric cancer (second edition). *Dig Endosc*. 2020 Oct 26.
125. Oki E, Zhao Y, Yoshida R, Egashira A, Ohgaki K, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. The difference in p53 mutations between cancers of the upper and lower gastrointestinal tract. *Digestion*. 2009;79 Suppl 1:33-9.
126. Pacheco FA, Paschoal MEM, Carvalho MGC. Marcadores tumorais no câncer de pulmão: um caminho para uma terapia biológica. *J Pneumol*. 2002;28(3):143-49.
127. Pan, M., Huang, P., Li, S. *et al*. Double contrast-enhanced ultrasonography in preoperative Borrmann classification of advanced gastric carcinoma: comparison with histopathology. *Sci Rep* 3, 3338 (2013).
128. Paoletti X, Oba K, Burzykowski T, Michiels S, Ohashi Y, Pignon JP, Rougier P, Sakamoto J, Sargent D, Sasako M, Van Cutsem E, Buyse M. GASTRIC (Global Advanced/Adjuvant Stomach Tumor Research International Collaboration) Group, Benefit of adjuvant chemotherapy for resectable gastric cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2010 May 5;303(17):1729-37.
129. Peek RM Jr, Crabtree JE. Helicobacter infection and gastric neoplasia. *J. Pathol* 2006;208(2):233–248.
130. Pharoah PD, Guilford P, Caldas C, International Gastric Cancer Linkage Consortium Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology* 2001;121:1348-53.
131. Pinto M, Oliveira C, Machado JC, Cirnes L, Tavares J, Carneiro F, Hamelin R, Hofstra R, Seruca R, Sobrinho-Simões M. MSI-L gastric carcinomas share the hMLH1 methylation status of MSI-H carcinomas but not their clinicopathological profile. *Lab Invest*. 2000 Dec;80(12):1915-23
132. Polkowski W, van Sandick JW, Offerhaus GJ, et al. Prognostic value of Laurén classification and c-erbB-2 oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Ann Surg Oncol* 1999;6:290-7.
133. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to Helicobacter pylori. *Int J Cancer*. 2015 Jan 15;136(2):487-90.
134. Puli SR, Reddy JBK, Bechtold ML, Antillon MR, Ibdah JA. How good is endoscopic ultrasound for TNM staging of gastric cancers? A meta-analysis and systematic review. *World J Gastroenterol* 2008; 14(25): 4011-4019
135. Qiu MZ, Cai MY, Zhang DS, Wang ZQ, Wang DS, Li YH, Xu RH. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *J Transl Med*. 2013;11:58.
136. Qu Y, Dang S, Hou P. Gene methylation in gastric cancer. *Clin Chim Acta*. 2013 Sep 23;424:53-65.
137. Ren W, Yu J, Zhang ZM, Song YK, Li YH, Wang L. Missed diagnosis of early gastric cancer or high-grade intraepithelial neoplasia. *World J Gastroenterol*. 2013;19:2092–2096.
138. Rice TW, Blackstone EH, Rusch VW. 7th edition of the AJCC Cancer Staging Manual: esophagus and esophagogastric junction. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jul;17(7):1721-4.
139. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. Metastatic spread in patients with gastric cancer. *Oncotarget*. 2016 Aug 9;7(32):52307-52316.
140. Rous P. Transmission of a malignant new growth by means of a cell-free filtrate. *JAMA*. 1911;56:198.
141. Rüschoff J, Hanna W, Bilous M, et al. HER2 testing in gastric cancer: a practical approach. *Mod Pathol* 2012;25:637-50.
142. Ryan KM, Birnie GD. Myc oncogenes: the enigmatic family. *Biochem J*. 1996;314:713-21.
143. Lan J, Xiong YY, Lin YX, Wang BC, Gong LL, Xu HS, Guo GS. Helicobacter pylori infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 54-58.
144. Sano T, Sasako M, Kinoshita T, Maruyama K. Recurrence of early gastric cancer. Follow-up of 1475 patients and review of the Japanese literature. *Cancer* 1993;72:3174-3178.
145. Schweizer L, Varmus H. Wnt/wingless signaling through b-catenin requires the function of both LRP/arrow and frizzled classes of receptors. *BMC Cell Biol* 2003; 4: 4.
146. Sheiness D, Bishop JM. DNA and RNA from uninfected vertebrate cells contain nucleotide sequences related to the putative transforming gene of avian myelocytomatosis virus. *J Virol*. 1979;31:514-21.
147. Schrader KA, Masciari S, Boyd N, Wiyrick S, Kaurah P, Senz J, Burke W, Lynch HT, Garber JE, Huntsman DG. Hereditary diffuse gastric cancer: association with lobular breast cancer. *Fam Cancer* 2008;7:73e82.
148. Seevaratnam R, Cardoso R, McGregor C, et al. How useful is preoperative imaging for tumor, node, metastasis (TNM) staging of gastric cancer? A meta-analysis. *Gastric Cancer* 2012;15:S3–18.
149. Seyfried F, von Rahden BH, Miras AD, Gasser M, Maeder U, Kunzmann V, et al. Incidence, time course and independent risk factors for metachronous peritoneal carcinomatosis of gastric origin—a longitudinal experience from a prospectively collected database of 1108 patients. *BMC Cancer*. 2015;15:10.
150. Siewert JR, Stein HJ. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. *Br J Surg* 1998;85:1457-9.
151. Singh S, Varayil JE, Devanna S, Murad MH, Iyer PG. Physical Activity Is Associated with Reduced Risk of Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cancer Prev Res*. 2014;7:12–22.
152. Shen M, Wang H, Wei K, Zhang J, You C. Five common tumor biomarkers and CEA for diagnosing early gastric cancer: A protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Medicine (Baltimore)*. 2018 May;97(19):e0577.

153. Shigeyasu K, Nagasaka T, Mori Y, Yokomichi N, Kawai T, Fuji T, et al. (2015) Clinical Significance of MLH1 Methylation and CpG Island Methylator Phenotype as Prognostic Markers in Patients with Gastric Cancer. *PLoS ONE* 10(6): e0130409.
154. Shimada H, Noie T, Ohashi M, Oba K, Takahashi Y. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer*. 2014 Jan;17(1):26-33.
155. Shin VY, Chu KM. MiRNA as potential biomarkers and therapeutic targets for gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 14;20(30):10432-9.
156. Shokal U, Sharma PC. Implication of microsatellite instability in human gastric cancers. *Indian J Med Res*. 2012 May;135(5):599-613.
157. Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, van Grieken NC, Lordick F. Gastric cancer. *Lancet*. 2020 Aug 29;396(10251):635-648.
158. Smyth EC, Wotherspoon A, Peckitt C, Gonzalez D, Hulkki-Wilson S, Eltahir Z, Fassan M, Rugge M, Valeri N, Okines A, Hewish M, Allum W, Stenning S, Nankivell M, Langley R, Cunningham D. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. *JAMA Oncol*. 2017 Sep 1;3(9):1197-1203.
159. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016;27 (suppl 5): v38–49.
160. Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Parkin DM, Ferlay J, Mathers C, Forman D, et al. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions. *Lancet*. 2012;380:1840–50.
161. Song YX, Huang XZ, Gao P, et al. Clinicopathologic and Prognostic Value of Serum Carbohydrate Antigen 19-9 in Gastric Cancer: A Meta-Analysis. *Dis Markers*. 2015;2015:549843.
162. Song X, Xin N, Wang W, Zhao C. Wnt/ β -catenin, an oncogenic pathway targeted by *H. pylori* in gastric carcinogenesis. *Oncotarget*. 2015;6(34):35579-35588.
163. Sumiyama K. Erratum to: Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer*. 2017;20:562.
164. Tahara T, Shibata T, Okamoto Y, et al. Mutation spectrum of TP53 gene predicts clinicopathological features and survival of gastric cancer. *Oncotarget*. 2016;7(27):42252-42260.
165. Tahara T, Tahara S, Horiguchi N, Okubo M, Terada T, Yamada H, Yoshida D, Omori T, Osaki H, Maeda K, Kamano T, Funasaka K, Nagasaka M, Nakagawa Y, Shibata T, Ohmiya N. Molecular subtyping of gastric cancer combining genetic and epigenetic anomalies provides distinct clinicopathological features and prognostic impacts. *Hum Mutat*. 2019 Mar;40(3):347-354.
166. Tamura S, Takeno A, Miki H. Lymph node dissection in curative gastrectomy for advanced gastric cancer. *Int J Surg Oncol*. 2011;2011:748745.
167. Tan Z. Recent Advances in the Surgical Treatment of Advanced Gastric Cancer: A Review. *Med Sci Monit*. 2019;25:3537-3541. Published 2019 May 13.
168. Tanaka M, Kitajima Y, Edakuni G, Sato S, Miyazaki K. Abnormal expression of E-cadherin and beta-catenin may be a molecular marker of submucosal invasion and lymph node metastasis in early gastric cancer. *Br J Surg* 2002;89:236–44.
169. Taniguchi K, Ota M, Yamada T, et al. Staging of gastric cancer with the Clinical Stage Prediction score. *World J Surg Oncol*. 2019;17(1):47. Published 2019 Mar 8.
170. Takayama H: A case of bladder cancer producing alphafetoprotein (AFP). *Hinyokika Kyo* 1995;41:387–389.
171. Thomassen I, van Gestel YR, van Ramshorst B, Luyer MD, Bosscha K, Nienhuijs SW, Lemmens VE, de Hingh IH. Peritoneal carcinomatosis of gastric origin: a population-based study on incidence, survival and risk factors. *Int J Cancer*. 2014;134:622–628.
172. Torlakovic EE, Nielsen S, Vyberg M, Taylor CR. Getting controls under control: the time is now for immunohistochemistry. *J Clin Pathol*. 2015;68(11):879-882.
173. True LD. Quality control in molecular immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol*. 2008;130(3):473-480.
174. Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β -catenin. *EMBO J*. 2012;31(12):2714-2736. doi:10.1038/emboj.2012.150.
175. Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, et al. Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* 2009;27:LBA 4509.
176. Van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. *J Med Genet* 2015;52:361-74.
177. Velho S, Fernandes MS, Leite M, Figueiredo C, Seruca R. Causes and consequences of microsatellite instability in gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16433-16442. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16433
178. Verstegen MH, Harker M, van de Water C, van Dieren J, Hugen N, Nagtegaal ID, Rosman C, van der Post RS. Metastatic pattern in esophageal and gastric cancer: Influenced by site and histology. *World J Gastroenterol*. 2020 Oct 21;26(39):6037-6046.
179. Vita M, Henriksson M. The Myc oncoprotein as a therapeutic target for human cancer. *Semin Cancer Biol*. 2006 Aug;16(4):318-30.
180. Wagner AD, Unverzagt S, Grothe W, Kleber G, Grothey A, Haerting J, Fleig WE. Chemotherapy for

- advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010.
181. Washington K. 7th edition of the AJCC cancer staging manual: stomach. *Ann Surg Oncol* 2010;17:3077–9.
 182. Wagner AD, Unverzagt S, Grothe W, Kleber G, Grothey A, Haerting J, Fleig WE. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Mar 17;(3):CD004064.
 183. Wang Q, Liu G, Hu C. Molecular Classification of Gastric Adenocarcinoma. *Gastroenterology Res*. 2019;12(6):275-282.
 184. Werner M, Becker KF, Keller G, Höfler H. Gastric adenocarcinoma: pathomorphology and molecular pathology. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2001;127(4):207-216.
 185. Williams JH, Mepham BL, Wright DH. Tissue preparation for immunocytochemistry. *J Clin Pathol*. 1997 May;50(5):422-8.
 186. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E, Oh SC, Bodoky G, Shimada Y, Hironaka S, Sugimoto N, Lipatov O, Kim TY, Cunningham D, Rougier P, Komatsu Y, Ajani J, Emig M, Carlesi R, Ferry D, Chandrawansa K, Schwartz JD, Ohtsu A; RAINBOW Study Group. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Oct;15(11):1224-35.
 187. Wu CW, Lo SS, Shen KH, Hsieh MC, Chen JH, Chiang JH, et al. Incidence and factors associated with recurrence patterns after intended curative surgery for gastric cancer. *World J Surg*. 2003;27(2):153–158.
 188. Wu HH, Lin WC, Tsai KW. Advances in molecular biomarkers for gastric cancer: miRNAs as emerging novel cancer markers. *Expert Rev Mol Med*. 2014;16:e1.
 189. Wu XD, Zeng K, Xue FQ, Chen JH, Chen YQ. Statins are associated with reduced risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69:1855–60.
 190. Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 403-406.
 191. Ylä-Herttua S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Mar 13;49(10):1015-26.
 192. Yamashita K, Arimura Y, Kurokawa S, et al: Microsatellite instability in patients with multiple primary cancers of the gastrointestinal tract. *Gut* 46:790-794, 2000.
 193. Yamao T, Shirao K, Ono H, Kondo H, Saito D, Yamaguchi H, Sasako M, Sano T, Ochiai A, Yoshida S. Risk factors for lymph node metastasis from intramucosal gastric carcinoma. *Cancer*. 1996 Feb 15;77(4):602-6.
 194. Yaghoobi M, Bijarchi R, Narod S. Family history and the risk of gastric cancer. *Br J Cancer*. 2009;102:237–42.
 195. Yang Y, Deng CS, Peng JZ, Wong BC, Lam SK, Xia HH. Effect of *Helicobacter pylori* on apoptosis and apoptosis related genes in gastric cancer cells. *Mol Pathol* 2003; 56: 19-24.
 196. Yashiro M, Nishii T, Hasegawa T, Matsuzaki T, Morisaki T, Fukuoka T, Hirakawa K. A c-Met inhibitor increases the chemosensitivity of cancer stem cells to the irinotecan in gastric carcinoma. *Br J Cancer*. 2013 Nov 12;109(10):2619-28.
 197. Ye DM, Xu G, Ma W, et al. Significant function and research progress of biomarkers in gastric cancer. *Oncol Lett*. 2020;19(1):17-29.
 198. Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg*. 2000 Feb;87(2):236-42.
 199. Yusefi AR, Bagheri Lankarani K, Bastani P, Radinmanesh M, Kavosi Z. Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018;19(3):591-603. Published 2018 Mar 27.
 200. Yousefi B, Mohammadlou M, Abdollahi M, Salek Farrokhi A, Karbalaei M, Keikha M, Kokhaei P, Valizadeh S, Rezaeiemanesh A, Arabkari V, Eslami M. Epigenetic changes in gastric cancer induction by *Helicobacter pylori*. *J Cell Physiol*. 2019 Dec;234(12):21770-21784.
 201. Yuen ST, Chung LP, Leung SY, Luk IS, Chan SY, Ho J. In situ detection of Epstein-Barr virus in gastric and colorectal adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 1994 Nov;18(11):1158-63.
 202. Zhang Z, Li Z, Gao C, Chen P, Chen J, Liu W, Xiao S, Lu H. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest*. 2008;88:1358–1366.
 203. Zhang GX, Gu YH, Zhao ZQ, Xu SF, Zhang HJ, Wang HD, Hao B. Coordinate increase of telomerase activity and c-Myc expression in *Helicobacter pylori*-associated gastric diseases. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1759-1762
 204. Zhou J, Hayakawa Y, Wang TC, Bass AJ. RhoA mutations identified in diffuse gastric cancer. *Cancer Cell*. 2014 Jul 14;26(1):9-11.
 205. Zhu X, Lv M, Wang H, Guan W. Identification of circulating microRNAs as novel potential biomarkers for gastric cancer detection: a systematic review and meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2014;59:911–919.

Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.