

ALEXANDRE ANDRADE DOS ANJOS JÁCOME

**Influência da expressão dos receptores
dos fatores de crescimento epidérmico
na sobrevida de pacientes com câncer gástrico.
Análise pelo modelo de Weibull de longa duração**

**Tese de Doutorado apresentada ao
Departamento de Cirurgia e
Anatomia da Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto – Universidade de
São Paulo**

Área de Concentração: Cirurgia

**Orientador: Prof. Dr. José
Sebastião dos Santos**

Ribeirão Preto

2012

Ficha Catalográfica

Jácome, Alexandre Andrade dos Anjos

“Influência da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na sobrevida de pacientes com câncer gástrico. Análise pelo modelo de Weibull de longa duração”

65 p: il; 29,7 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Departamento de Cirurgia e Anatomia. Área de concentração: Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. José Sebastião dos Santos

1. Câncer gástrico
2. Receptores dos fatores de crescimento
3. Marcadores biológicos
4. Sobrevida

JÁCOME, ALEXANDRE ANDRADE DOS ANJOS. Influência da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na sobrevida de pacientes com câncer gástrico. Análise pelo modelo de Weibull de longa duração.

Tese apresentada ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

À minha esposa, **Cássia**, companheira de todas as horas, pelo amor que alegra, pela construção do lar que acolhe e renova, pelo abraço que tranquiliza e pela compreensão que nos amadurece.

Aos meus pais, **Geraldo e Ana Marta**, pela formação ética e estímulo ao estudo ao longo de toda a vida.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, **Prof. Dr. José Sebastião dos Santos**, pelo exemplo de professor que representou em minha carreira profissional, pelo estímulo acadêmico permanente e pela amizade construída.

AGRADECIMENTOS

À **Fundação Waldemar Barnsley Pessoa**, pelo financiamento dessa pesquisa.

Ao **Hospital de Câncer de Barretos**, pelo vasto e rico aprendizado e pela oportunidade da realização da pós-graduação.

À **Estela Cristina Carneseca**, estatística do Centro de Métodos Quantitativos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e do Hospital de Câncer de Barretos, pelo empenho e por ter dado o brilhantismo estatístico ao estudo.

Ao **Prof. Edson Zangiacomi Martinez**, professor do Departamento de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pela disponibilidade e importantes ideias acrescentadas ao trabalho.

À **Sra. Elis Regina Alves e Sra. Juliana Pischiottin da Silva Moraes**, secretárias do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, por terem sido sempre disponíveis e atenciosas.

Ao **Dr. Luciano de Souza Viana**, oncologista clínico do Hospital de Câncer de Barretos, pela oportunidade de conhecer e trabalhar em Barretos e pela relação fraternal.

Ao **Dr. Cristovam Scapulatempo Neto**, patologista do Hospital de Câncer de Barretos, pela incansável disposição dedicada ao estudo.

Ao **Dr. Durval Renato Wohnrath**, cirurgião oncológico do Hospital de Câncer de Barretos, pelo apoio e parceria sempre presentes.

Ao **Dr. Fernando Augusto Soares** e à **Dra. Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami**, do Departamento de Patologia do Hospital A.C. Camargo – Fundação Antônio Prudente, pela disponibilidade e parceria na confecção do *tissue microarray*.

RESUMO

JÁCOME, A. A. A. **Influência da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na sobrevida de pacientes com câncer gástrico. Análise pelo modelo de Weibull de longa duração.** 2012. 65 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Introdução: Os receptores dos fatores de crescimento epidérmico estão envolvidos nos processos de diferenciação e proliferação celular. A superexpressão do *Human Epidermal Receptor* (HER) 2 possui valor preditivo para resposta ao trastuzumabe no câncer gástrico avançado. No entanto, o valor prognóstico desses receptores encontra-se indefinido. Objetivo: Avaliar o valor prognóstico dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico em pacientes com câncer gástrico. Método: Estudo retrospectivo envolvendo 201 pacientes portadores de adenocarcinoma gástrico e junção esofagogástrica, estádios I a IV (*American Joint Committee on Cancer - AJCC 6ª edição*), submetidos à ressecção cirúrgica no Hospital de Câncer de Barretos entre janeiro de 2006 a dezembro de 2008. Foi realizado exame imunohistoquímico com pesquisa de HER1, HER2, HER3 e HER4, utilizando *tissue microarray*, em cada amostra de tumor primário. Escores 0 e 1+ foram classificados como negativos e 2+ e 3+ como positivos, tanto para expressão membranosa como citoplasmática. As correlações entre as expressões dos receptores e as características clínico-patológicas foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado. Para a avaliação de concordância entre a expressão dos receptores foi utilizado coeficiente kappa de concordância e o teste de McNemar. Foi empregado modelo de Weibull de longa duração para a análise de sobrevida. Para o estudo de variáveis prognósticas foi realizado modelo de regressão pela distribuição de Weibull de longa duração. Resultado: A idade mediana foi de 62 anos. O tipo histológico intestinal de Laurén foi observado em 63% dos pacientes. O tempo de seguimento mediano foi de 30,26 meses. A fração de cura foi estimada em 51% (IC 95% 0,42 – 0,59). A prevalência da expressão membranosa de HER1, HER2 e HER4 foi de 9%, 17% e 15%, respectivamente. Foi encontrada expressão membranosa de HER3 em apenas um paciente. A prevalência da expressão citoplasmática de HER1, HER3 e HER4 foi de 41%, 57% e 17%, respectivamente. Através do modelo de regressão ajustado para idade, radicalidade cirúrgica, tipo de cirurgia, classificação histológica de Laurén, tratamento adjuvante, estágio TNM e receptores celulares, apenas o estágio *Tumor Node Metastasis* (TNM) apresentou-se como variável com influência prognóstica. A expressão de HER2 e HER3 esteve associada à idade mais avançada e à histologia intestinal de Laurén (p: 0,022 e p: 0,002, respectivamente). Conclusão: Os métodos empregados no presente estudo nos permitem concluir que não houve influência prognóstica da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na amostra de pacientes estudada.

Palavras-chave: câncer gástrico, receptores dos fatores de crescimento epidérmico, fatores prognósticos, análise de sobrevida, modelo paramétrico de Weibull, EGFR, HER.

ABSTRACT

JÁCOME, A. A. A. **Influence of the expression of epidermal growth factor receptors on overall survival of gastric cancer patients. An analysis by Weibull model incorporating long-term survivors.** 2012. 65 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Background: The human epidermal growth factor receptors (EGFR) family is involved in the pathogenesis and progression of several solid tumors. However, there is no consensus about the prognostic role of Human Epidermal Receptor (HER) 2 expression and of other members of EGFR family in gastric cancer patients. The aim of this study was to evaluate the prognostic value of members of the EGFR family in gastric cancer. Method: Retrospective study with 201 patients with gastric and esophagogastric junction (EGJ) adenocarcinoma stages 0 to IV (American Joint Committee on Cancer - AJCC 6th edition) who underwent primary tumor resection between January 2006 and December 2008 at Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil. Tissues from primary tumors were analyzed by tissue microarray technology. Immunohistochemistry scores 0 and 1+ were classified as negative and scores 2+ and 3+ as positive, both for membrane and cytoplasmic expression of HER1, HER2, HER3 and HER4. The HER2 scoring system for gastric cancer was used for classification. Correlations between receptor expression and clinicopathological characteristics were performed according to the chi-square test. Kappa coefficient and McNemar test were utilized to assess concordance among the receptor expression. Survival analysis was calculated according to Weibull model with a mixture model incorporating long-term survivors. Multivariate analysis of prognostic factors was performed by a regression model incorporating long-term survivors with the Weibull distribution. Result: Median age was 62 years old. 63% of the patients presented Laurén intestinal-type. Median follow-up time was 30.26 months. The cure fraction was estimated in 51% (IC 95% 0,42 – 0,59). Membrane expression of HER1, HER2 and HER4 were 9%, 17% and 15%, respectively. No membrane expression of HER3 was observed. Cytoplasmic expression of HER1, HER3 and HER4 were 45%, 62% and 24%, respectively. Expression of HER2 and HER3 correlated with intestinal-type histology ($p: 0,001$ and $p < 0,001$, respectively) and advanced age ($p: 0,011$ and $p: 0,008$, respectively). According to a regression model adjusted for age, surgical radicality, surgical modality, Laurén histology, adjuvant therapy, Tumor Node Metastasis (TNM) stage and receptors expressions, only TNM stage showed prognostic influence. Conclusion: The methods employed in the present study allow us to conclude that HER2 and others members of EGFR family did not have influence on the overall survival in the gastric cancer population studied.

Key words: gastric cancer, epidermal growth factor receptors, prognostic factors, survival analysis, Weibull model, EGFR, HER.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global
- Figura 2.** Curvas de sobrevida estimadas pelo método de Kaplan-Meier e pelos modelos paramétricos assumindo as distribuições de Weibull, Exponencial e Weibull de longa duração
- Figura 3.** Gráficos das funções de sobrevida estimadas por Kaplan-Meier *versus* as funções de sobrevida estimadas pelos modelos assumindo distribuição Weibull, Exponencial e Weibull de longa duração
- Figura 4.** Função risco instantâneo
- Figura 5.** Exemplos de imunohistoquímica positiva para coloração de HER1 citoplasma, HER1 membrana, HER2 membrana, HER3 citoplasma, HER4 citoplasma e HER4 membrana
- Figura 6.** Estimativa dos parâmetros do modelo de regressão de Weibull de longa duração e variáveis relacionadas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos pacientes

Tabela 2. Concordância entre as expressões membranosas e citoplasmáticas dos receptores HER

Tabela 3. Comparação das taxas de expressão dos receptores HER em câncer gástrico entre os estudos

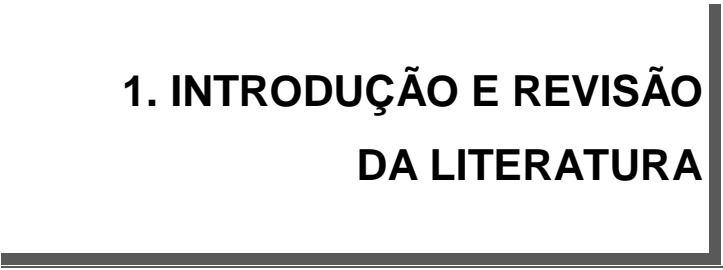
LISTA DE SIGLAS

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i> (Comitê Conjunto Americano em Câncer)
BRCA 1	<i>Breast cancer 1</i>
BRCA 2	<i>Breast cancer 2</i>
CDH1	<i>Cadherina 1</i>
CGDH	<i>Câncer gástrico difuso hereditário</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> (Receptores dos Fatores de Crescimento Epidérmico)
EGJ	<i>Esophagogastric junction</i> (Junção esofagogástrica)
HER1	<i>Human Epidermal Receptor 1</i> (Receptor Epidérmico Humano 1)
HER2	<i>Human Epidermal Receptor 1</i> (Receptor Epidérmico Humano 2)
HER3	<i>Human Epidermal Receptor 1</i> (Receptor Epidérmico Humano 3)
HER4	<i>Human Epidermal Receptor 1</i> (Receptor Epidérmico Humano 4)
OMS	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
TNM	<i>Tumor Node Metastasis</i> (Classificação TNM – Tumor Linfonodos Metástases)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	13
1.1. EPIDEMIOLOGIA.....	14
1.1.1. Dados epidemiológicos no mundo.....	14
1.1.2. Dados epidemiológicos no Brasil.....	15
1.2. ETIOLOGIA.....	16
1.3. CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA	18
1.3.1. Classificação da Organização Mundial da Saúde.....	18
1.3.2. Classificação de Laurén	19
1.4. GENÉTICA.....	20
1.5. ABORDAGEM TERAPÊUTICA ATUAL	21
1.5.1. Tratamento cirúrgico.....	21
1.5.2. Tratamento neoadjuvante e adjuvante	22
1.5.3. Tratamento paliativo	25
1.6. HER2 E CÂNCER GÁSTRICO.....	27
2. OBJETIVO	29
3. PACIENTES E MÉTODO.....	311
3.1. <i>TISSUE MICROARRAY</i>	33
3.2. IMUNOHISTOQUÍMICA	34
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4. RESULTADO.....	36
4.1. HER1.....	40
4.2. HER2.....	40
4.3. HER3.....	40
4.4. HER4.....	41
4.5. RECEPTORES E SOBREVIDA GLOBAL	43
5. DISCUSSÃO	45
6. CONCLUSÃO	52
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Error! Bookmark not defined.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA



1.1. EPIDEMIOLOGIA

1.1.1. Dados epidemiológicos no mundo

O câncer gástrico é a quarta neoplasia de maior incidência no mundo; no ano de 2002 foram registrados 933.000 novos casos (8.6% do total de casos novos de câncer), com 603.000 ocorrências no sexo masculino (PARKIN et al., 2005). Apesar do pequeno aumento absoluto do número de casos em relação ao ano de 2000, quando foram registrados 876.000 novos casos (PARKIN, 2001), a neoplasia gástrica manteve-se na quarta posição como câncer mais frequente no mundo, seguindo os tumores de pulmão, mama e cólon-reto, responsáveis, em ordem decrescente, pelas primeiras três posições (PARKIN et al., 2005).

A prevalência estimada para o câncer gástrico, no ano de 2002, foi de 1.473.000 casos, o que também o coloca na quarta posição no mundo, atrás dos cânceres de mama, cólon-reto e próstata (PARKIN et al., 2005). No entanto, com 699.000 mortes ocorridas no ano de 2002, o câncer gástrico é a segunda causa de morte relacionada ao câncer em todo o mundo, atrás apenas do câncer de pulmão.

A incidência do câncer gástrico possui marcantes diferenças geográficas. Os países em desenvolvimento, de uma maneira geral, apresentam maior número de casos novos (PARKIN et al., 2005).

As áreas com mais de 20 casos por 100.000 habitantes são classificadas como de alto risco, e incluem o leste da Ásia (Japão e China), leste europeu e regiões das Américas Central e Latina (PARKIN et al., 2005).

As áreas com menos de 10 casos por 100.000 habitantes são consideradas de baixo risco, e são compostas pelo sudeste asiático, norte e leste da África, América do Norte, Austrália e Nova Zelândia (PARKIN et al., 2005).

O Japão é o país que possui a maior taxa de incidência no mundo, com 88,2 casos por 100.000 habitantes, seguido da China (60,6) e do Leste Europeu (42,4). A América do Sul ocupa a quarta posição, com 36,4 casos por 100.000 habitantes (PARKIN et al., 2005).

1.1.2. Dados epidemiológicos no Brasil

De acordo com as estimativas para a incidência de câncer no ano de 2012 serão 25.460 casos novos (6,5% dos casos), a quinta neoplasia mais incidente em homens, com 12.670 casos, o que configura um risco estimado de 13,2 casos novos para cada 100.000 habitantes do sexo masculino, e 7.420 casos em mulheres, a sétima neoplasia mais incidente no sexo feminino (INCA, 2012).

A região Sudeste é a que possui o maior número absoluto de casos no Brasil, com 9.960 casos novos. No entanto, Mato Grosso do Sul é o estado que possui a maior taxa de incidência do país em homens, com 18,96 casos para cada 100.000 homens, e o Rio de Janeiro aquele com a maior taxa de incidência em mulheres, com 9,66 casos para cada 100.000 mulheres (INCA, 2012).

O câncer de estômago é a terceira causa de morte relacionada ao câncer no Brasil, responsável por 9,9% das mortes por câncer no período de 2000 a 2004 e 11,0% no período de 2005 a 2009 (INCA, 2012).

No período compreendido entre os anos de 2000 e 2009, registra-se uma queda progressiva da taxa de mortalidade por câncer de estômago no Brasil, de 11,07 casos por 100.000 homens em 2000, para 9,72 em 2009, e 4,65 casos por 100.000 mulheres em 2000, para 3,89 em 2009 (INCA, 2012).

O Paraná é o estado que possui a maior taxa de mortalidade por câncer de estômago em homens no Brasil, com 12,59 casos para cada

100.000 homens, e o Rio de Janeiro apresenta a maior taxa em mulheres, com 6,20 casos para cada 100.000 mulheres (INCA, 2012).

1.2. ETIOLOGIA

O adenocarcinoma gástrico não é uma única doença. Há tipos histológicos diferentes, que se acompanham de distintos fatores de risco, localizações no órgão, comportamento biológico, sensibilidade aos tratamentos e expressão molecular.

Estima-se que mais de 90% dos casos de câncer gástrico sejam esporádicos, enquanto que menos de 10% possam relacionar-se a mutações genéticas em linhagens celulares germinativas (HAMILTON; AALTONEN, 2000).

A presença de riscos distintos de desenvolvimento da doença, conforme a localização geográfica e mudança de risco em caso de mobilização, levanta a hipótese do envolvimento de fatores ambientais na carcinogênese gástrica.

Os japoneses que se mudam para os Estados Unidos e adotam uma dieta ocidental apresentam uma redução significativa do risco de desenvolver a doença, mas aqueles que mantêm uma dieta similar à japonesa mantêm um risco elevado (HAENSZEL et al., 1972; KAMINENI et al., 1999). Esse achado favorece o papel da dieta no desenvolvimento da neoplasia gástrica.

Os alimentos com alta concentração de sal, ricos em nitratos, que foram precariamente armazenados, por vezes sem refrigeração ou mantidos em soluções ricas em sal, aumentam o risco de câncer de estômago. Por outro lado, uma dieta rica em frutas e vegetais parece ser um fator protetor para o desenvolvimento da doença, particularmente, aqueles alimentos ricos em vitamina C. As exposições ocupacionais a carvão e a borracha parecem estar

envolvidas no desenvolvimento da doença (PISTERS; KELSEN; TEPPER, 2005).

A infecção por *Helicobacter pylori*, especialmente o subtipo cagA +, está envolvida na etiopatogênese do adenocarcinoma gástrico, notadamente do tipo intestinal de Laurén (PARSONNET et al., 1997; QUEIROZ et al., 1998).

A hipótese mais aceita é a de que a presença da bactéria leva ao desenvolvimento de gastrite atrófica e metaplasia intestinal, com a consequente transformação neoplásica em lesões que ocorrem tipicamente nas porções mais distais do órgão.

As regiões geográficas com altos índices de infecção por *H. pylori* tendem a apresentar maior incidência de neoplasia gástrica, mas diante da alta incidência da infecção em relação ao desenvolvimento da neoplasia, presume-se que outros fatores sejam necessários na interação com a infecção para a ocorrência da transformação maligna, como idade, dieta e sexo (UEMURA et al., 2001).

A obesidade aumenta o risco de câncer gástrico, principalmente para lesões distais esofageanas e proximais gástricas (CHOW et al., 1998). O aumento do índice de massa corpórea da população é uma das explicações para uma tendência observada de redução da incidência de tumores distais e um aumento da incidência de tumores de esôfago distal e da junção esofagogástrica.

A doença do refluxo gastroesofágico também aumenta o risco de adenocarcinoma do esôfago distal e da junção esofagogástrica (LAGERGREN et al., 1999).

O uso do tabaco associa-se a um risco relativo de 1,6 para o desenvolvimento do câncer gástrico. Esse risco eleva-se para 8,5 quando associado ao uso do álcool (BOSMAN et al., 2010).

O câncer gástrico hereditário é responsável por apenas 8 a 10% dos casos da doença (HAMILTON; AALTONEN, 2000). Dos pacientes que preenchem os critérios para a síndrome do câncer gástrico difuso hereditário,

cerca de 40% possuem a mutação de CDH1, que está associada à expressão de e-caderina. A causa genética da maioria destes pacientes ainda permanece desconhecida. Essa síndrome associa-se ao tipo histológico difuso de Laurén, que não tem predileção por localizações no órgão e pode ocorrer tanto nas porções proximais quanto distais (BOSMAN; HRUBAN; THEISE, 2010).

1.3. CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA

1.3.1. Classificação da Organização Mundial da Saúde

Apesar da variabilidade anatomopatológica do câncer gástrico, usualmente há o predomínio de um dos seguintes quatro tipos histológicos: tubular, papilar, mucinoso e em células em anel de sinete. O tipo tubular caracteriza-se por túbulos com diâmetro variado, podendo-se encontrar estruturas acinares. As células tumorais individuais apresentam-se colunares, cuboides ou achatadas pela presença de mucina intraluminal.

O tipo papilar associa-se a carcinomas bem diferenciados com formações exofíticas cobertas por células cilíndricas ou cuboides.

O tipo mucinoso, por definição, possui mais de 50% do tumor representado por lagos de mucina extracelular.

Os carcinomas em células em anel de sinete caracterizam-se por mais de 50% do tumor representado por células malignas isoladas ou em pequenos grupos contendo mucina intracitoplasmática (BOSMAN; HRUBAN; THEISE, 2010).

1.3.2. Classificação de Laurén

A classificação de Laurén é categorizada em tipos intestinal e difuso e mostra-se útil ao correlacionar o aspecto histológico com a história natural do carcinoma, sua associação com fatores ambientais, lesões precursoras e tendências de incidência (BOSMAN; HRUBAN; THEISE, 2010).

O tumor que apresenta distribuição similar dos dois tipos é chamado de misto e aqueles indiferenciados o bastante para não se assemelharem aos dois tipos principais são chamados de indeterminados.

O tipo intestinal forma glândulas pobremente diferenciadas, geralmente em uma área de metaplasia intestinal. O tipo difuso consiste em células pouco coesas, com infiltração difusa na parede do órgão, com formação glandular pobre ou ausente (BOSMAN; HRUBAN; THEISE, 2010).

O tipo intestinal responde pela grande maioria dos adenocarcinomas gástricos esporádicos. Apresenta melhor prognóstico quando comparado ao tipo difuso. Possui uma associação melhor definida com fatores de risco, tendo sua ocorrência intimamente relacionada à presença da infecção por *H. pylori*, que pode induzir à gastrite atrófica, seguido de metaplasia intestinal e transformação neoplásica. Também se associa à obesidade e à doença do refluxo gastroesofágico, além da idade e dieta (PISTERS; KELSEN; TEPPER, 2005).

Os tipos histológicos de Laurén também apresentam diferentes fenótipos moleculares; o tipo intestinal apresenta estreita correlação com a superexpressão ou amplificação de HER2 e, mais recentemente, foi demonstrada a associação com a superexpressão de HER3 (BEGNAMI et al., 2011).

A incidência relativa dos tipos histológicos de Laurén varia de acordo com a amostra populacional estudada. O tipo difuso não apresenta fatores de risco ambientais claramente definidos. Sabe-se que está associado a mutações de CDH1, responsável pela expressão de e-caderina. É o tipo histológico

habitualmente encontrado nas síndromes genéticas associadas ao câncer gástrico (BOSMAN; HRUBAN; THEISE, 2010).

As evidências reforçam que o adenocarcinoma gástrico tem apresentações distintas e prognósticos diferentes, mas ainda não há recomendações formais para tratamentos sistêmicos específicos.

1.4. GENÉTICA

Cerca de 3% dos pacientes com câncer gástrico apresentam a doença por herança genética, a qual se manifesta em faixas etárias mais jovens, geralmente antes dos 35 anos. O câncer gástrico difuso hereditário (CGDH) associa-se a mutação do gene CDH1, responsável pela codificação da e-caderina, e localiza-se no cromossomo 16q. Esta mutação é encontrada em cerca de 40% dos casos de CGDH e, portanto, presume-se que outros genes estejam envolvidos em sua manifestação (PISTERS; KELSEN; TEPPER, 2005).

Algumas síndromes genéticas que predisõem ao surgimento de neoplasias também aumentam o risco do desenvolvimento do adenocarcinoma gástrico.

A síndrome de Lynch, caracterizada pela deficiência de proteínas envolvidas no reparo do DNA, pode se manifestar com o surgimento do câncer gástrico.

As pessoas com mutação de BRCA1 e BRCA2, além de apresentar maior risco para o desenvolvimento de câncer de mama, também podem desenvolver câncer de ovário e gástrico. As síndromes de Peutz-Jeghers, Li-Fraumeni e a polipose adenomatosa familiar também aumentam o risco de neoplasia gástrica (PISTERS; KELSEN; TEPPER, 2005).

1.5. ABORDAGEM TERAPÊUTICA ATUAL

1.5.1. Tratamento cirúrgico

O tratamento cirúrgico é a modalidade terapêutica que oferece a oportunidade de cura para o paciente com câncer gástrico. Consiste na ressecção do tumor com margens amplas associada à linfadenectomia. A linfadenectomia D2 é a dissecação nodal mais recomendada, relacionada à menor taxa de recorrência loco-regional e à menor taxa de morte relacionada ao câncer gástrico, mas pode se associar a um maior risco de complicações pós-operatórias (SONGUN et al., 2010).

A probabilidade de doença residual em linfonodos não dissecados, que pode ser medida através de um estimador quantitativo denominado índice de Maruyama, mostra-se como um fator prognóstico independente em pacientes portadores de câncer gástrico, o que favorece dissecações mais amplas (HUNDAHL et al., 2002; PEETERS et al., 2005; DIKKEN et al., 2010).

Os tumores de transição esofagogástrica e de porções proximais do estômago são abordados com esofagogastrectomia, pelas vias transhiatal e transtorácica. Os tumores de terço médio e distal são tratados com gastrectomia, optando-se, quando possível, pela gastrectomia subtotal, a fim de evitar a saciedade precoce, a perda de peso e a necessidade de reposição de vitamina B12, habitualmente associadas à gastrectomia total (PISTERS; KELSEN; TEPPER, 2005).

O risco de recorrência após o tratamento cirúrgico depende do estágio inicial da doença, do tipo histológico e da radicalidade cirúrgica. As maiores séries da literatura demonstram riscos de recorrência que variam de 20 a 40% após ressecções com finalidade curativa (YOO et al., 2000; D'ANGELICA et al., 2004).

1.5.2. Tratamento neoadjuvante e adjuvante

As taxas de recidiva elevadas do adenocarcinoma gástrico com tratamento cirúrgico exclusivo abriram espaço para o desenvolvimento dos tratamentos adjuvantes. Os estudos iniciais eram conflitantes ao demonstrar benefício da introdução de quimioterapia adjuvante, em função da sua toxicidade elevada (NAKAJIMA et al., 1984; GRAU et al., 1993). À medida que os ensaios clínicos foram aperfeiçoando seus métodos e os regimes de quimioterapia passaram a ser melhor compreendidos, observou-se uma mudança nos resultados dos estudos randomizados.

Em 2001, o estudo INT0116 trouxe a comparação entre quimiorradioterapia adjuvante baseada em 5-Fluorouracil (5-FU) com cirurgia isolada em pacientes portadores de adenocarcinoma gástrico ou de junção esofagogástrica (JEG) estádios IB a IV sem metástases à distância (MACDONALD et al., 2001). Nesse estudo foi empregado regime de tratamento radioterápico com 45 Gy em 25 frações. Após tempo de seguimento mediano de 5 anos, observou-se sobrevida mediana de 36 meses no grupo de tratamento combinado comparado a 27 meses no grupo controle. Esses dados foram atualizados após período de seguimento mediano de 10 anos, mantendo-se o benefício do tratamento adjuvante (SMALLEY et al., 2012).

A atualização dos dados do estudo INT0116 trouxe uma contribuição interessante para a análise dos subgrupos, sugerindo a ausência de benefício do tratamento combinado nos pacientes com classificação histológica difusa de Laurén (SMALLEY et al., 2012). Este estudo caracteriza-se por um tratamento cirúrgico considerado subótimo, já que apenas 10% dos pacientes submeteram-se a linfadenectomia D2, o que levanta dúvidas sobre a eficácia do tratamento quimiorradioterápico adjuvante em pacientes com ressecção linfonodal ampliada.

Todavia, há estudos que favorecem o emprego do tratamento quimiorradioterápico adjuvante em pacientes submetidos à linfadenectomia D2. Estudo oriental demonstrou benefício em sobrevida a favor do tratamento

combinado em população operada com dissecação nodal ampla (KIM, S. et al., 2005), e, posteriormente, estudo ocidental também demonstrou menor risco de morte associado à quimiorradioterapia adjuvante, também em pacientes exclusivamente submetidos à linfadenectomia D2 (JACOME et al., 2012). Portanto, apesar da toxicidade elevada (54% dos pacientes apresentam eventos adversos hematológicos graus 3 e 4, e 33% eventos gastrointestinais), essa modalidade de tratamento tem sido adotada no ocidente.

A administração de quimioterapia pós-operatória em pacientes portadores de câncer gástrico deve ser cuidadosamente avaliada. Esses pacientes frequentemente apresentam idade avançada, comprometimento nutricional, *performance status* desfavorável e frequentemente estão em recuperação prolongada de complicações pós-operatórias.

A administração de quimioterapia neoadjuvante traz a possibilidade do início do tratamento sistêmico diante de melhores condições clínicas. Ainda oferece o tratamento precoce da doença micrometastática e a possibilidade de citoredução, com maior probabilidade de ressecção cirúrgica com margens livres.

Com essas hipóteses estabelecidas, o estudo MAGIC oferece informações sobre quimioterapia perioperatória com o regime ECF (epirrubicina, cisplatina e 5-FU), conhecido por sua atividade em doença avançada (CUNNINGHAM et al., 2006). A administração de três ciclos de quimioterapia pré-operatórios com três ciclos adicionais pós-operatórios prolongou a sobrevida global dos pacientes quando comparado à cirurgia isolada. No entanto, apenas 41.6% dos pacientes conseguiram concluir o tratamento proposto combinado de quimioterapia perioperatória e cirurgia. As principais razões para a descontinuação do tratamento foram progressão de doença, toxicidade ao tratamento quimioterápico e complicações pós-operatórias. O regime ECF demanda a infusão de 63 dias ininterruptos de 5-FU, o que prejudica a sua consolidação na prática clínica.

Os estudos INT0116 e MAGIC foram adotados como práticas padrões no ocidente por terem demonstrado ganho de sobrevida global e por terem sido realizados em populações ocidentais. Ainda não há dados

comparativos diretos entre os dois regimes de tratamento, mas aguardam-se tais informações em breve por meio do estudo CRITICS (clinicaltrials.gov NCT00407186).

Sabe-se que o câncer gástrico apresenta maior incidência em países como Japão, China, Coreia do Sul e Taiwan, e as políticas de rastreamento nessas regiões podem facilitar o diagnóstico precoce da neoplasia. Observa-se uma maior porcentagem de pacientes com tipo difuso de Laurén, o que levanta hipóteses acerca da similaridade da etiologia e carcinogênese do câncer gástrico entre populações ocidentais e orientais, com possíveis diferenças na expressão gênica desses tumores, com repercussões no prognóstico e sensibilidade aos tratamentos quimioterápicos.

Possivelmente por esses fatores, associados a maior experiência dos centros orientais no cuidado a estes pacientes, notam-se melhores resultados nos estudos randomizados envolvendo populações orientais (SAKURAMOTO et al., 2007). Portanto, torna-se discutível a reprodutibilidade dos estudos ocidentais e orientais em populações distintas.

A prática da linfadenectomia D2, ou até D3, encontra-se amplamente consolidada no oriente. Por outro lado, discute-se o impacto na mortalidade produzido pela dissecação linfonodal mais ampla.

Os últimos estudos randomizados que avaliaram o papel de tratamentos adjuvantes em populações orientais foram todos realizados em pacientes com linfadenectomia D2.

Em 2007, o estudo do grupo ACTS-GC demonstrou ganho em sobrevida global com a administração pós-operatória de uma fluoropirimidina oral denominada S-1, não difundida no ocidente e não disponível no Brasil. Houve um aumento de 10% de sobrevida em três anos com a quimioterapia adjuvante (80,1% vs 70,1%), com apenas 1,2% de leucopenia e 3,7% de náuseas graus 3 e 4 (SAKURAMOTO et al., 2007).

O estudo CLASSIC reforçou os dados do estudo do grupo ACTS-GC, mas teve a sobrevida livre de doença como seu objetivo primário (BANG et al., 2012). Utilizando regime de quimioterapia composto por capecitabina e

oxaliplatina, observou-se uma redução de 42% do risco relativo de recidiva da doença em três anos, com dados imaturos em relação à sobrevida global. Nota-se segurança aceitável deste regime de quimioterapia, com incidência de 22% de neutropenia graus 3 e 4 e 7% de vômitos graus 3 e 4.

Com esses quatro estudos importantes, associados aos dados da meta-análise que encontrou uma redução relativa de 20% e absoluta de 5% do risco de morte com a introdução da quimioterapia adjuvante (PAOLETTI et al., 2010), aceita-se hoje esta modalidade de tratamento como padrão após a ressecção cirúrgica com finalidade curativa.

O recente estudo ARTIST já estabelece a quimioterapia adjuvante com cisplatina e capecitabina como braço controle, comparando-a com quimiorradioterapia também composta pelas mesmas drogas, mas com capecitabina isolada durante a concomitância com radioterapia (LEE, J. et al., 2012). Em uma análise de sobrevida com tempo de seguimento considerado curto, houve uma similaridade entre os dois tratamentos, mas há a sugestão de melhor resultado do tratamento combinado em pacientes com linfonodos positivos. Portanto, este estudo, apesar de ser o primeiro estudo randomizado a avaliar a eficácia da quimiorradioterapia em pacientes submetidos à linfadenectomia D2, ainda não permite a modificação dos padrões atuais de tratamento.

1.5.3. Tratamento paliativo

O câncer de estômago recidivado ou metastático é uma doença incurável. Nesse contexto, o principal objetivo do tratamento é o controle de sintomas e a preservação da qualidade de vida. As medidas para o controle de dor, o suporte nutricional e o alívio da disfagia através de vias artificiais de alimentação são fundamentais nessa fase da doença. A radioterapia pode ser utilizada para controle de sintomas locais, como dor e sangramento.

A quimioterapia, desde a década de 1990, é o tratamento padrão para câncer gástrico localmente avançado ou metastático, pois reduz o risco de morte (MURAD et al., 1993; PYRHONEN et al., 1995; WAGNER et al., 2006).

O regime de quimioterapia mais aceito compõe-se de platinas e fluoropirimidinas. Inicialmente foram estudadas a cisplatina e o 5-FU, mas já foram avaliadas a eficácia e segurança da substituição por oxaliplatina e capecitabina, respectivamente (CUNNINGHAM et al., 2008).

À medida que a biologia molecular das doenças neoplásicas tem sido mais detalhadamente compreendida, percebeu-se que a expressão de HER2 pode desempenhar um papel importante na carcinogênese e progressão do câncer gástrico (GRAVALOS; JIMENO, 2008). Há estudos promissores de fase II com o uso do trastuzumabe que induziram à elaboração do estudo ToGA, um ensaio clínico que comparou a adição deste anticorpo monoclonal à quimioterapia composta por cisplatina e 5-FU/capecitabina em pacientes que apresentavam superexpressão ou amplificação de HER2 (BANG et al., 2010).

O trastuzumabe promoveu aumento da taxa de resposta, da sobrevida livre de progressão e da sobrevida global, com um ganho proeminente de 11,8 meses para 16 meses de sobrevida global em subgrupo de pacientes com imunohistoquímica 3+ ou imunohistoquímica 2+/FISH positivo. Este estudo subsidiou a aprovação do trastuzumabe em câncer de estômago e passou a ser considerado o tratamento padrão nos pacientes HER2 positivos.

Nos pacientes HER2 negativos, que compreendem cerca de 80% dos pacientes, discute-se o acréscimo de uma terceira droga ao regime duplo de quimioterapia. Há estudos que avaliaram a incorporação de docetaxel ou epirrubicina e demonstraram um modesto ganho em sobrevida, com significativa toxicidade (VAN CUTSEM et al., 2006; CUNNINGHAM et al., 2008). Portanto, regimes triplos são discutíveis em pacientes que apresentam melhor condição clínica e nutricional.

1.6. HER2 E CÂNCER GÁSTRICO

Os receptores dos fatores de crescimento epidérmico, HER1 (também denominado EGFR), HER2, HER3 e HER4, estão envolvidos na patogênese e progressão de tumores sólidos como câncer de mama, pulmão, bexiga, cólon, ovário e estômago (SALOMON et al., 1995; NICHOLSON; GEE; HARPER, 2001; SITHANANDAM; ANDERSON, 2008). Esses receptores compartilham a mesma estrutura molecular, com um domínio extracelular que se liga ao ligante, uma porção transmembrana e um domínio intracelular com atividade tirosino-quinase (com exceção do HER3).

A ligação de diferentes ligantes aos domínios extracelulares desencadeia reações de sinalização intracelulares envolvidas na diferenciação, proliferação e sobrevivência celular. A ligação do ligante ao domínio extracelular induz a homodimerização do HER1 e a heterodimerização dos demais receptores, especialmente do HER2 (HUDIS, 2007; GRAVALOS; JIMENO, 2008).

A superexpressão e/ou amplificação do HER2 apresenta papel prognóstico bem estabelecido em câncer de mama e é fator preditivo de resposta a drogas que agem sobre o receptor, como trastuzumabe e lapatinibe (SLAMON et al., 2001; GEYER et al., 2006).

No câncer gástrico, estudos de fase II demonstram benefício do uso do trastuzumabe e do lapatinibe na doença localmente avançada e metastática com superexpressão e/ou amplificação de HER2 (GRAVALOS et al., 2011; IQBAL et al., 2011).

Recentemente, estudo de fase III demonstrou ganho em sobrevivência global com a adição de trastuzumabe ao tratamento quimioterápico em pacientes com câncer gástrico avançado HER2 positivo, reforçando o papel deste receptor como fator preditivo de resposta a drogas anti-HER2, mas o seu papel prognóstico ainda permanece incerto (BANG et al., 2010; PARK et al., 2011; SHAH et al., 2011; TERASHIMA et al., 2011; BOHANES et al., 2012).

Além do HER2, o HER1 e o HER3 também são apontados como fatores prognósticos no câncer gástrico, mas com ressalvas importantes aos recursos metodológicos de avaliação (HAYASHI et al., 2008; KIM, M. A. et al., 2008; ZHANG et al., 2009; BEGNAMI et al., 2011; TERASHIMA et al., 2011; BOHANES et al., 2012).

O HER4 foi pouco estudado até o momento em câncer gástrico, mas parece desempenhar diferentes efeitos em sobrevida conforme o tumor avaliado (SUO et al., 2002; KOUNTOURAKIS et al., 2006; MEMON et al., 2006).

As informações sobre o valor prognóstico da família EGFR (Receptores de Fatores de Crescimento Epidérmico) em câncer gástrico são escassas e conflitantes e existe a demanda por novos estudos que venham contribuir para melhor compreensão do tema. A identificação de marcadores biológicos com valor prognóstico permite uma melhor compreensão da heterogeneidade molecular da neoplasia e dos diferentes comportamentos biológicos da mesma doença, com o reconhecimento de potenciais alvos terapêuticos, o que possibilita melhor individualização de tratamento.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é avaliar o valor prognóstico dos receptores que compõem a família EGFR em pacientes com câncer gástrico.

3. PACIENTES E MÉTODO

A decorative L-shaped line consisting of a horizontal bar extending to the right and a vertical bar extending upwards, both in a dark gray color, framing the section header.

Trata-se de estudo com série histórica envolvendo 201 pacientes com adenocarcinoma gástrico e da junção esofagogástrica (EGJ), estádios 0 a IV com metástases à distância (AJCC 6ª edição), submetidos à gastrectomia ou esofagogastrectomia no período de 01 de janeiro de 2006 a 31 de dezembro de 2008 no Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, São Paulo, Brasil (Tabela 1) e com espécimes cirúrgicos disponíveis para a pesquisa proteica.

Tabela 1: Características dos pacientes

Características	No. (%)
Total	201 (100)
Sexo	
Masculino	124 (62)
Feminino	77 (38)
Idade	
Mediana	62
Intervalo	27 - 88
Localização do tumor	
Estômago	160 (81)
JEG	38 (19)
Histologia de Laurén	
Intestinal	124 (63)
Difuso	57 (29)
Misto	16 (8)
Radicalidade cirúrgica	
R0	150 (75)
R1	16 (8)
R2	33 (17)
Profundidade do tumor	
Tis	3 (2)
T1	18 (9)
T2	32 (16)
T3	130 (65)
T4	18 (9)
Status nodal	
N0	69 (35)
N1	66 (34)
N2	41 (21)
N3	21 (11)
Estádio TNM	
0	3 (2)
IA	15 (8)
IB	19 (10)
II	38 (19)
IIIA	49 (25)
IIIB	25 (13)
IV M0	19 (10)
IV M1	30 (15)
Tratamento adjuvante	
Cirurgia isolada	76 (38)
Quimiorradioterapia	125 (62)

Após o tratamento cirúrgico ou quimiorradioterapia adjuvante, os pacientes foram acompanhados com consultas médicas, exame físico, exames laboratoriais e radiografia de tórax a cada três meses nos primeiros dois anos, a cada quatro meses no terceiro ano, a cada seis meses no quarto e quinto anos, e anualmente após o quinto ano. Os pacientes foram submetidos à ultrassonografia de abdome a cada quatro meses durante os primeiros dois anos, a cada seis meses a partir do terceiro ano, e anualmente após o quinto ano. A tomografia computadorizada, a ressonância nuclear magnética e a endoscopia digestiva alta foram realizadas a critério clínico. Os pacientes foram avaliados para quimioterapia paliativa em caso de recorrências.

A expressão proteica dos receptores foi relacionada com características clínicas e patológicas, como idade, classificação histológica de Laurén, profundidade do tumor (pT), metástases nodais, estágio TNM e sobrevida global.

A sobrevida global foi definida como o tempo, em meses, decorrido desde a data da cirurgia a data do óbito por qualquer causa. Os pacientes que perderam seguimento foram censurados na data do último contato com o Hospital. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital.

3.1. TISSUE MICROARRAY

As amostras teciduais foram fixadas em formalina tamponada a 4%, embebidas em parafina e usadas para construção do *tissue microarray* (TMA) (KONONEN et al., 1998). Para a sua construção, um bloco de parafina com uma porção representativa do tumor foi selecionada e uma área do tumor foi circulada. Foram retirados dois fragmentos da área de interesse do bloco com uma agulha de 1,0 mm de diâmetro e transferidos para um bloco de parafina recipiente. Esse novo bloco de parafina construído a partir de fragmentos dos tumores foi a fonte das lâminas coradas para a análise imunohistoquímica, podendo-se, portanto, analisar inúmeros tumores diferentes em apenas uma lâmina.

3.2. IMUNOHISTOQUÍMICA

As laminas de TMA foram coradas com anticorpos: HER1 (H11 mouse monoclonal [Dako, Carpinteria, CA]; dilution 1:100), HER2 (A0485 rabbit polyclonal [Dako]; dilution 1:1500), HER3 (RB-9211 rabbit polyclonal [Nterminal; Neomarkers, Fremont, CA]; dilution 1:100), e HER4 (RB-9045 rabbit polyclonal [C-terminal; Neomarkers]; dilution 1:300). O método padrão estreptavidina-biotina peroxidase-conjugado foi utilizado para detectar a coloração da reação (LSAB+; Dako).

Os controles positivos externos incluíam amostras de tecido placentário positivas para os anticorpos estudados. Para os controles negativos, os anticorpos foram omitidos e substituídos por solução salina tamponada em fosfato. A coloração foi avaliada por meio de microscopia óptica e interpretada por um patologista que não conhecia as informações clínicas.

A coloração de membrana foi avaliada para HER1, HER2, HER3 e HER4. Para a classificação da coloração de HER1, HER3 e HER4 utilizou-se score com quatro categorias (0: sem coloração; 1+: coloração de leve intensidade; 2+: coloração de moderada intensidade; 3+: coloração de forte intensidade), conforme critérios já estabelecidos (WITTON et al., 2003; HAYASHI et al., 2008).

Para a classificação de HER2, foram utilizadas as recomendações do painel de consenso para HER2 em câncer gástrico (HOFMANN et al., 2008; RUSCHOFF et al., 2010). A coloração em citoplasma foi avaliada para HER1, HER3 e HER4, também se utilizando score com quatro categorias (0: sem coloração; 1+: coloração de leve intensidade; 2+: coloração de moderada intensidade; 3+: coloração de forte intensidade), conforme critérios utilizados em estudo similar (HAYASHI et al., 2008).

Os cortes classificados como 0 e 1+ foram classificados como negativos e aqueles como 2+ e 3+ como positivos, tanto para expressão membranosa como citoplasmática.

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As correlações entre as expressões dos receptores e as características clínico-patológicas foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado. Para a avaliação de concordância entre a expressão dos receptores foi utilizado coeficiente kappa de concordância e o teste de McNemar. Foi empregado modelo de Weibull de longa duração para a análise de sobrevida (FAREWELL, 1982; LAM; FONG; TANG, 2005; PERPEROGLOU; KERAMOPOULLOS; VAN HOUWELINGEN, 2007). Para o estudo de variáveis prognósticas também foi realizado modelo de regressão pela distribuição de Weibull de longa duração. Como o pressuposto de proporcionalidade do modelo de riscos proporcionais de Cox não foi atendido, ele não seria uma escolha adequada para a análise dos dados do presente estudo. O nível de significância adotado foi de 0,05. As análises foram realizadas pelo software R.

4. RESULTADO

Na série estudada houve uma grande parcela de pacientes com sobrevida de longo prazo (Figura 1). Oitenta e três pacientes (43,9%) morreram e 106 (56,1%) foram censurados em um tempo de seguimento mediano de 30.26 meses. Essa distribuição de dados de sobrevida possibilitou o emprego do modelo de Weibull de longa duração (FAREWELL, 1982; LAM; FONG; TANG, 2005; PERPEROGLU; KERAMOPOULLOS; VAN HOUWELINGEN, 2007), após avaliação dos modelos exponencial e Weibull. As figuras 2 e 3 demonstram a adequação dos modelos paramétricos ao não-paramétrico de Kaplan-Meier.

A exploração do modelo de Weibull de longa duração permitiu a estimativa da fração de cura, estimada em 51% (IC 95% 0,42 - 0,59). Também foi possível avaliar a função risco instantâneo, que demonstrou um risco crescente de óbito ao longo do tempo, mas mais expressivo aos 4, 12 e 17 meses após o tratamento cirúrgico, na amostra estudada (Figura 4).

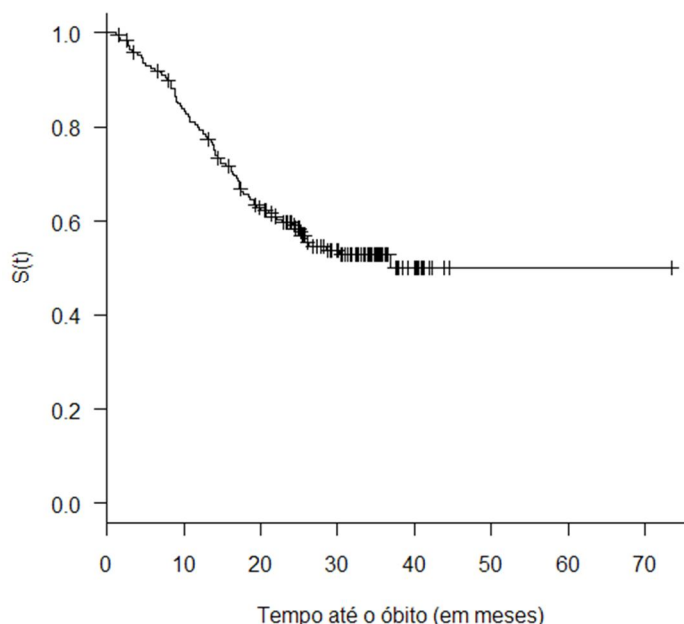


Figura 1. Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global.

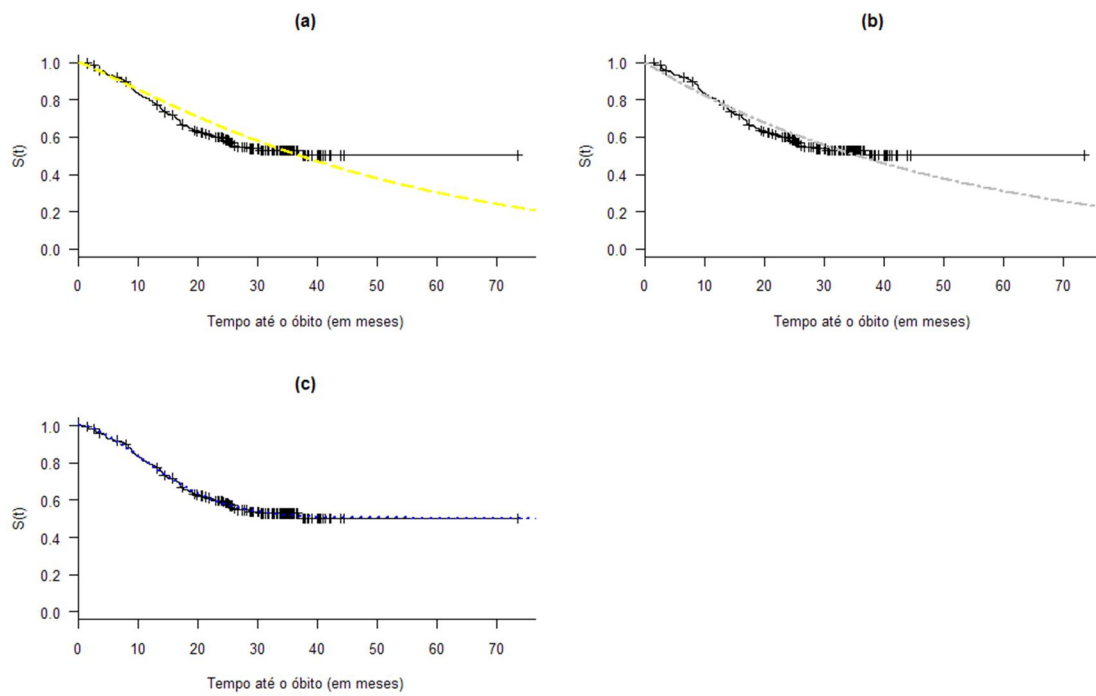


Figura 2. Curvas de sobrevida estimadas pelo método de Kaplan-Meier e pelos modelos paramétricos assumindo as distribuições de Weibull (a), Exponencial (b) e Weibull de longa duração (c).

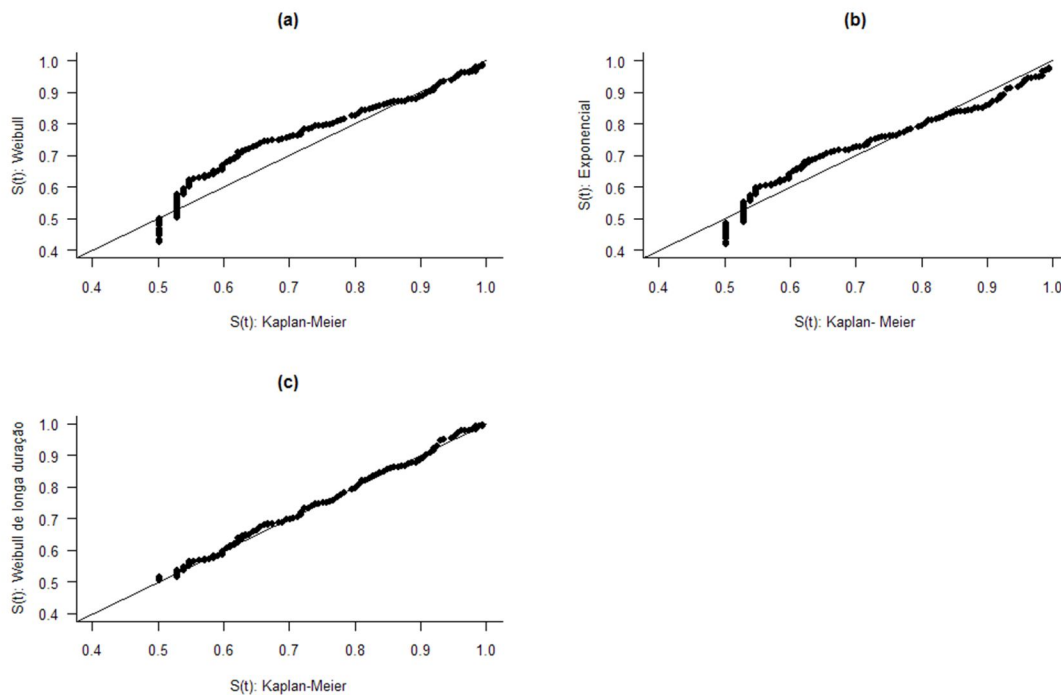


Figura 3. Gráficos das funções de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier *versus* as funções de sobrevivência estimadas pelos modelos assumindo distribuição Weibull (a), Exponencial (b) e Weibull de longa duração (c).

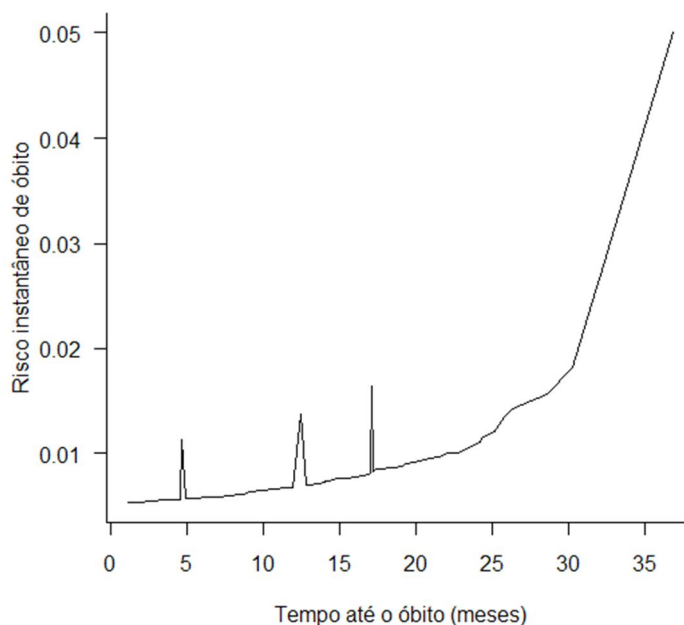


Figura 4. Função risco instantâneo.

4.1. HER1

Houve 198 amostras disponíveis para a análise de HER1, com 9% de amostras positivas em coloração de membrana (4% score 2+ e 5% score 3+) e 45% de positividade na coloração citoplasmática. Não houve correlação entre a expressão de HER1 e idade, classificação histológica de Laurén, profundidade do tumor, metástases nodais e estágio TNM.

4.2. HER2

Trinta e quatro das 201 amostras (17%) foram positivas para coloração membranosa de HER2, com 11% score 2+ e 6% score 3+. A positividade para HER2 correlacionou-se com idade mais avançada ($p: 0,011$) e com o tipo intestinal de Laurén ($p: 0,001$). Não houve correlação entre expressão de HER2 e profundidade do tumor, metástases nodais e estágio TNM.

4.3. HER3

Das 200 amostras disponíveis para HER3, apenas 1 paciente apresentou reatividade membranosa. Por outro lado, 62% apresentaram positividade citoplasmática, que esteve relacionada com idade mais avançada e com padrão intestinal de Laurén ($p < 0,001$). Não houve correlação entre expressão de HER3 citoplasmático e profundidade do tumor, metástases nodais e estágio TNM. Não foi avaliada a correlação da expressão membranosa de HER3 com características clínico-patológicas e sobrevida global, pois apenas 1 paciente apresentou positividade em membrana.

4.4. HER4

Vinte e nove pacientes das 199 amostras disponíveis (15%) foram positivos para coloração membranosa de HER4, com 10% score 2+ e 5% score 3+. Na reação citoplasmática, 24% foram positivos. Não houve correlação entre expressão de HER4 e idade, classificação histológica de Laurén, profundidade do tumor, metástases nodais e estágio TNM. Exemplos de imunohistoquímica positiva para HER1, HER2, HER3 e HER4 são exibidos na figura 5.

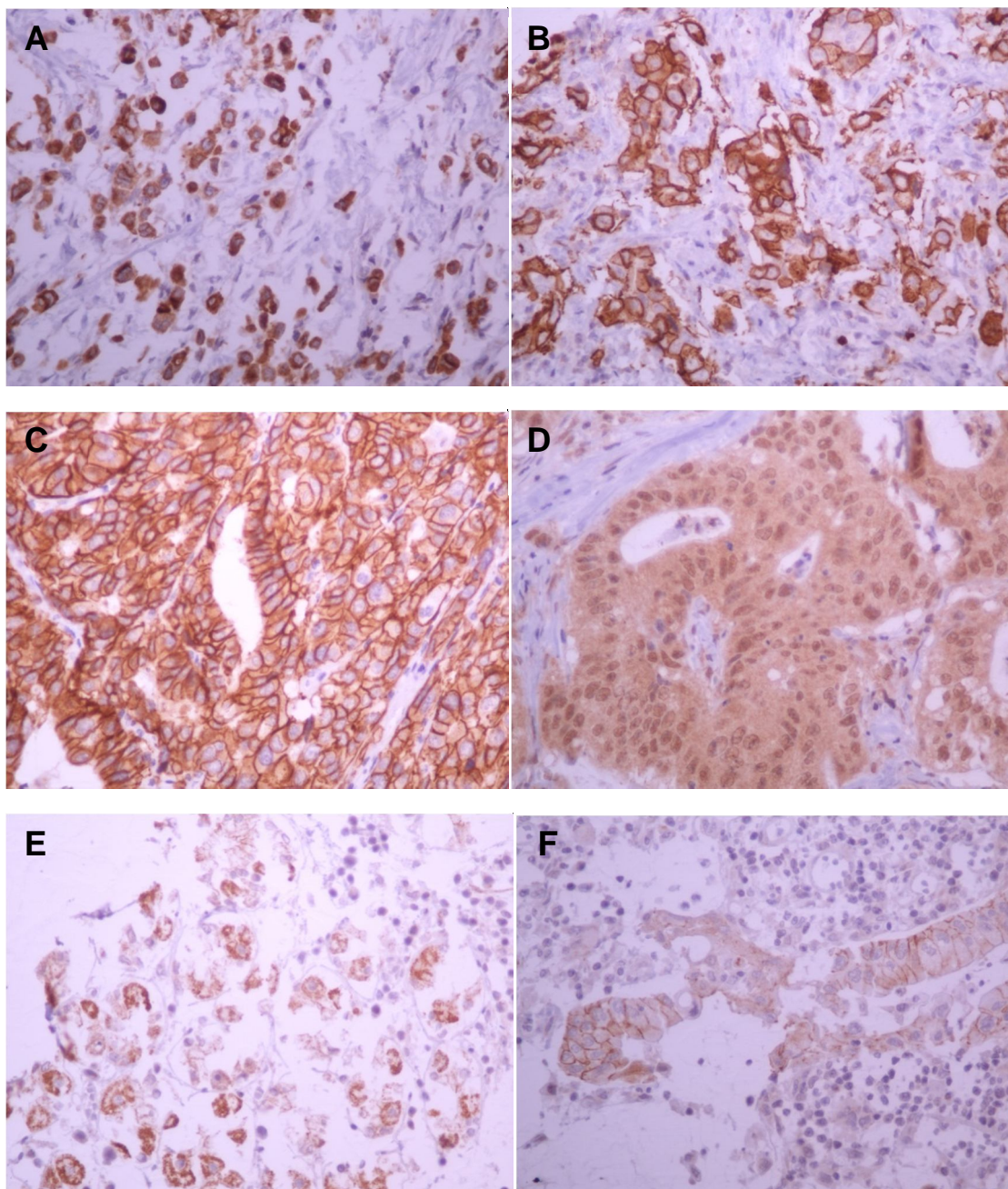


Figura 5: Exemplos de imunohistoquímica positiva para coloração de HER1 citoplasma (A), HER1 membrana (B), HER2 membrana (C), HER3 citoplasma (D), HER4 citoplasma (E) e HER4 membrana (F). Magnificação 400x.

4.5. RECEPTORES E SOBREVIDA GLOBAL

Observou-se concordância entre as expressões dos receptores da família EGFR, com exceção de HER1 e HER4 membranosos, e HER2 e HER4 membranosos (Tabela 2).

Tabela 2: Concordância entre as expressões membranosas e citoplasmáticas dos receptores HER

	HER1(citoplasma)				HER2(membrana)				HER3(citoplasma)				HER4(membrana)				HER4(citoplasma)				
	Pos	Neg	$k^{(a)}$	$p^{(b)}$	Pos	Neg	$k^{(a)}$	$p^{(b)}$	Pos	Neg	$k^{(a)}$	$p^{(b)}$	Pos	Neg	$k^{(a)}$	$p^{(b)}$	Pos	Neg	$k^{(a)}$	$p^{(b)}$	
HER1(membrana)																					
Pos	13	4	0,115	<0,001	5	12	0,092	0,008	13	4	0,042	<0,001	4	13	0,279	0,052	5	12	0,028	<0,001	
Neg	77	104			29	152			109	71			25	156			44	137			
HER1(citoplasma)																					
Pos					17	73	0,033	<0,001	58	31	0,057	<0,001	10	80	0,0	<0,001	27	63	0,100	<0,001	
Neg					17	91			64	44			19	89			22	86			
HER2(membrana)																					
Pos									23	11	0,033	<0,001	7	27	0,077	0,475	14	20	0,170	0,043	
Neg									101	65			22	143			35	130			
HER3(citoplasma)																					
Pos													24	99	0,103	<0,001	35	88	0,082	<0,001	
Neg													5	70			14	61			
HER4(membrana)																					
Pos																	13	16	0,184	0,006	
Neg																	36	134			

(a) Coeficiente kappa de concordância

(b) Teste de McNemar

Para análise de sobrevida foram excluídos os pacientes que morreram no pós-operatório (n=12), restando 189 pacientes. Através do modelo de regressão pela distribuição de Weibull de longa duração ajustado para idade, radicalidade cirúrgica, tipo de cirurgia, classificação histológica de Laurén, tratamento adjuvante, estágio TNM e receptores celulares, apenas o estágio TNM apresentou-se como variável com influência prognóstica (Figura 6).

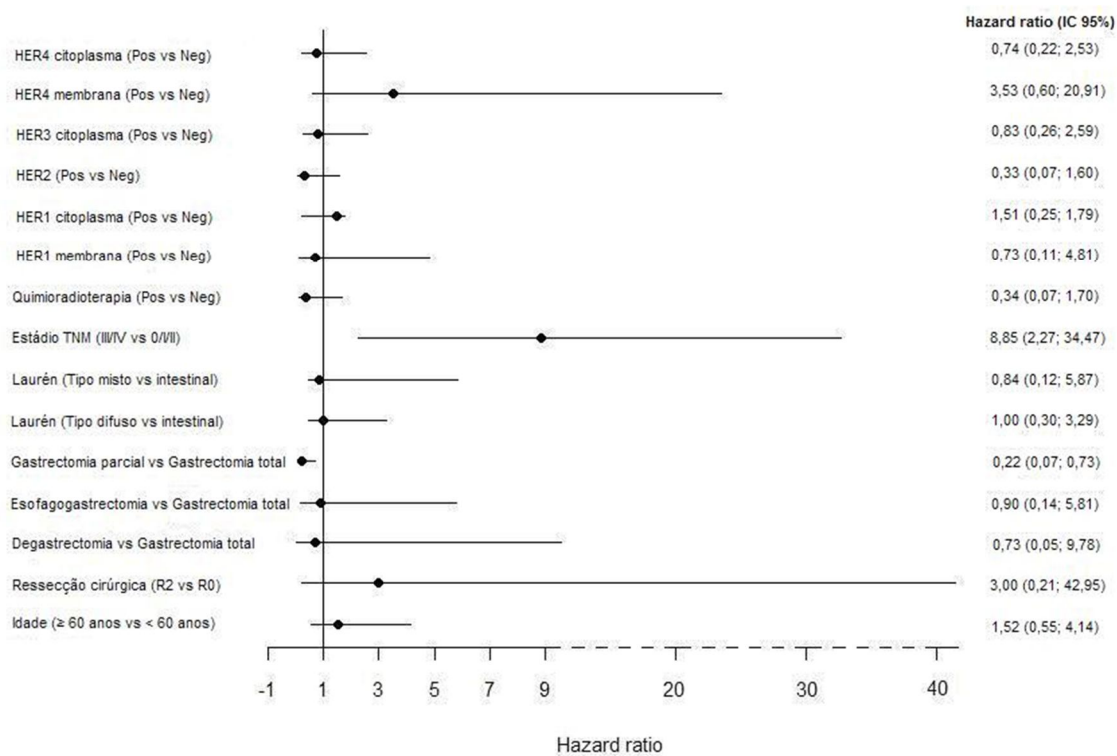


Figura 6: Estimativa dos parâmetros do modelo de regressão de Weibull de longa duração e variáveis relacionadas.

5. DISCUSSÃO

A amostra estudada representa uma população heterogênea e engloba pacientes com adenocarcinoma gástrico localizado e metastático, com subtipos histológicos diferentes e que receberam tratamentos adjuvantes diferentes. A metodologia empregada nesse estudo não demonstrou valor prognóstico da expressão dos receptores da família EGFR em pacientes com câncer gástrico submetidos à gastrectomia, como já foi registrado em dois estudos (HAYASHI et al., 2008; BEGNAMI et al., 2011).

A positividade para expressão dos receptores da família EGFR depende da amostra estudada e da metodologia utilizada. Fatores como prevalência do tipo histológico de Laurén, idade da população, qualidade das amostras utilizadas, anticorpos empregados, critérios adotados e metodologias diferentes entre os estudos, provavelmente, são os responsáveis pela variabilidade dos resultados registrados na literatura.

No estudo realizado com população japonesa, também com características heterogêneas em relação ao estadiamento da doença e tratamentos adjuvantes recebidos, com adoção dos mesmos critérios de classificação dos receptores da família EGFR empregados no presente trabalho, mas sem avaliação imunohistoquímica através de TMA, registrou influência prognóstica do HER3 no câncer gástrico (HAYASHI et al., 2008).

A avaliação em população ocidental também com doença localizada e metastática, mas sem tratamentos adjuvantes oferecidos, encontrou influência prognóstica da expressão do HER2 e HER3 em análise univariada, o que não se reproduziu na análise multivariada (BEGNAMI et al., 2011; BOHANES et al., 2012). Este trabalho, assim como o presente estudo, utilizou TMA para leitura do estudo imunohistoquímico, mas empregou critérios diferentes para interpretação da expressão de HER1, HER3 e HER4, além de ter acrescentado FISH em sua análise.

Não há ainda um consenso acerca dos critérios a serem adotados para a leitura desses três receptores em câncer gástrico, assim como há para a interpretação da expressão do HER2 (HOFMANN et al., 2008; RUSCHOFF et al., 2010). Há similaridade entre as taxas de expressão dos receptores do presente estudo e o estudo realizado em população ocidental, enquanto que a

população japonesa demonstrou valores bem mais elevados da expressão de HER1 em membrana e HER4 em citoplasma (Tabela 5). Até o momento não há registros atribuindo à raça e à localização geográfica à condição de determinantes desta variabilidade.

Tabela 5: Comparação das taxas de expressão dos receptores HER em câncer gástrico

Receptores	(HAYASHI et al., 2008)	(BEGNAMI et al., 2011)	(JACOME et al., 2012)
HER 1 (membrana)	30%	2%	9%
HER1 (citoplasma)	NR	NR	45%
HER2	18% (IHC)	12% (IHC) 8% (FISH)	17% (IHC)
HER3 (membrana)	13%	< 1%	< 1%
HER3 (citoplasma)	58%	64%	62%
HER4 (membrana)	22%	18%	15%
HER4 (citoplasma)	84%	23%	24%

NR: não relacionada

A expressão de HER1 em câncer gástrico varia de 2% a 44% (GAMBOA-DOMINGUEZ et al., 2004; MAMMANO et al., 2006; GALIZIA et al., 2007; LIETO et al., 2008) e o achado de 9% de positividade, no presente estudo, está dentro dos limites registrados. O valor prognóstico da sua expressão é controverso, existindo dados que sugerem que a superexpressão possa prever um maior risco de recorrência da doença após tratamento adjuvante com platina e fluoropirimidina (GARCIA et al., 2003; GAMBOA-DOMINGUEZ et al., 2004; GALIZIA et al., 2007; LIETO et al., 2008; KIM, J. S. et al., 2009).

O valor preditivo da mutação de HER1 para o uso de inibidores tirosino-quinase encontra-se bem estabelecido no câncer de pulmão não-

pequenas células, mas não foi adequadamente avaliado em câncer gástrico (EBERHARD et al., 2005; MAEMONDO et al., 2010). Presume-se que a taxa de mutação de HER1 em câncer gástrico seja de 5% (MAMMANO et al., 2006; LIU et al., 2011). O uso de erlotinib foi avaliado em estudo prospectivo não-randomizado envolvendo pacientes com doença avançada, demonstrando apenas atividade modesta (DRAGOVICH et al., 2006). Por outro lado, estudos prospectivos também não-randomizados demonstram atividade promissora do cetuximab em pacientes com doença avançada (PINTO et al., 2007; PINTO et al., 2009; LORDICK et al., 2010; KIM, C. et al., 2011), com possível papel preditivo da expressão do HER1 (HAN et al., 2009). No entanto, não foram realizadas análises exploratórias para avaliação de mutação do Kras.

A taxa de expressão do HER2 em câncer gástrico varia de 8 a 34%, com média de 17,6% (HOFMANN et al., 2008). A positividade de 17% na presente amostra e a associação frequente entre a expressão de HER2 e o tipo intestinal de Laurén também foi observada no presente estudo. Devido à participação da infecção por *Helicobacter pylori* na patogênese do adenocarcinoma gástrico tipo intestinal de Laurén, a possível relação entre a presença da bactéria e a superexpressão de HER2 já foi aventada, mas carece de evidências até o momento (WANG et al., 2002; PRYCZYNICZ et al., 2009).

Também foi encontrada no presente estudo uma associação entre a superexpressão de HER2 com idade avançada, o que se alinha com os achados de um estudo recente, que encontrou taxa de apenas 3% de superexpressão e 5% de amplificação de HER2 em pacientes com menos de 45 anos de idade (MOELANS et al., 2011). Esses dados corroboram a hipótese de que o câncer gástrico de início precoce apresenta um perfil de expressão molecular distinto da doença de início tardio (MILNE et al., 2006; MILNE et al., 2007).

Na presente amostra, a superexpressão de HER3, assim como a de HER2, esteve associada ao tipo intestinal de Laurén e a idade avançada. Os estudos envolvendo a expressão de HER3 em câncer gástrico ainda são escassos, mas a associação com o tipo histológico de Laurén é controversa, já tendo sido encontrada relação tanto com o tipo intestinal (BEGNAMI et al.,

2011), quanto com o tipo difuso (ZHANG et al., 2009). A associação da superexpressão de HER3 com a idade avançada não havia sido descrita previamente (HAYASHI et al., 2008; ZHANG et al., 2009; BEGNAMI et al., 2011). Em câncer de mama, doença em que a família EGFR foi estudada mais extensivamente, também não foi encontrada associação da expressão de HER3 com a idade (NAIDU et al., 1998).

No presente estudo, houve associação entre a expressão membranosa de HER2 e citoplasmática de HER3, o que, somado ao achado de correlações clínico-patológicas semelhantes, contribui para a hipótese de que esses dois receptores, dentre os heterodímeros da família EGFR, constituem-se entre aqueles expressados com elevada frequência (BEGNAMI et al., 2011) e com relevante importância na sinalização da via do fosfatidilinositol-3 quinase (HSIEH; MOASSER, 2007; LEE-HOEFLICH et al., 2008), o que torna o HER3 um potencial alvo no tratamento do câncer gástrico.

A ausência de atividade tirosino-quinase do HER3 levou inicialmente à concepção de tratar-se de um receptor de menor importância na proliferação e diferenciação celular, mas evidências crescentes têm demonstrado o seu papel como um importante regulador da atividade do HER2 (HOLBRO et al., 2003; STERN, 2008; BASELGA; SWAIN, 2009). O benefício demonstrado pelo acréscimo do pertuzumab – uma droga que inibe a heterodimerização HER2-HER3 - ao trastuzumab no tratamento do câncer de mama metastático HER2 positivo reforça a importância deste heterodímero na proliferação das células tumorais com superexpressão e/ou amplificação de HER2 (BASELGA et al., 2012), e torna este novo anticorpo monoclonal um potencial agente efetivo no tratamento do câncer gástrico.

O HER4 não apresentou valor prognóstico na presente amostra, assim como nos estudos similares (HAYASHI et al., 2008; BEGNAMI et al., 2011). Alguns dados discutidos em câncer de mama sugerem que a expressão dos receptores da família EGFR não devem ser analisados e interpretados isoladamente, como unidades distintas. Provavelmente, o valor prognóstico destes receptores é determinado pela interrelação entre eles (MEMON et al., 2006; KARAMOUZIS; BADRA; PAPAVALASSIOU, 2007). Alguns estudos

sugerem, inclusive, que o HER4 possa ter uma função inibitória do crescimento e diferenciação das células mamárias (MURAOKA-COOK et al., 2008; DAS et al., 2010; KOUTRAS et al., 2010). Em câncer de bexiga, alguns dados sugerem que a expressão de HER4 pode denotar melhor prognóstico quando expresso isoladamente (MEMON et al., 2004) ou quando associado à superexpressão de HER2 e HER3 (MEMON et al., 2006).

A acoplação da distribuição dos dados de sobrevida a um modelo pré-definido permite sua análise por modelos paramétricos, que são conhecidos por garantirem uma interpretação mais minuciosa e fidedigna dos dados (LEE, E. T.; WANG, 2003). No seguimento a longo prazo e com parcela significativa de sobreviventes em longo termo, os modelos não-paramétricos perdem poder de análise e preferencialmente não devem ser empregados (GAMEL; VOGEL, 1997). Nas análises de sobrevida, é frequente encontrar indivíduos que após um longo período de acompanhamento, não apresentam o evento de interesse. No presente estudo, foi dada preferência à análise dos dados por um modelo paramétrico, tendo em vista a adaptação da distribuição dos dados de sobrevida ao modelo de Weibull de longa duração, o que permitiu a incorporação de pacientes com baixa probabilidade de ocorrência do evento de interesse óbito. Apesar do modelo de Cox ser o método mais frequentemente utilizado nas análises envolvendo o tempo até determinado evento, não é sempre que a suposição de proporcionalidade dos riscos entre as categorias de uma determinada covariável é atendida.

O ajuste ao modelo Weibull demonstrou a flexibilidade dos modelos paramétricos quanto à facilidade de incorporação dos efeitos das covariáveis em seus parâmetros, além da capacidade em fornecer mais informações sobre a natureza da distribuição do tempo de sobrevida, e do comportamento da função risco ao longo do tempo, dados que os modelos não paramétricos ou semi-paramétricos não são capazes de fornecer (HARREL JR., 1996). Conforme as recomendações para o estudo prognóstico dos marcadores tumorais, eles foram incluídos no modelo de análise multivariada, com utilização do modelo de regressão paramétrico (MCSHANE et al., 2005; BOHANES et al., 2012).

A heterogeneidade da expressão do HER2 em câncer gástrico induz ao questionamento do valor do TMA como um método de avaliação do status do HER2 nesta neoplasia. A avaliação da expressão e amplificação utilizando amostras contendo uma maior porção de tecido tumoral talvez seja mais representativa para o teste e diminua a probabilidade de resultados falso-negativos. No entanto, tal método tem sido extensamente utilizado para pesquisa de biomarcadores, inclusive para aqueles que têm uma distribuição heterogênea no tecido tumoral, com boa confiabilidade (CAMP; NEUMEISTER; RIMM, 2008). Ademais, este método simula as biópsias gástricas que são realizadas através de endoscopia digestiva alta, as quais possuem critérios de avaliação bem definidos para o status do HER2, e também tem sido utilizado em diversos estudos (ISMAIL et al., 2007; BEGNAMI et al., 2011; KUNZ et al., 2011). Por outro lado, há necessidade de estudos adicionais que validem o TMA como um método adequado de avaliação do status HER2.

A ausência de valor prognóstico do HER2 em câncer gástrico demonstrado por alguns estudos não impede que este receptor tenha um valor preditivo a terapias anti-HER2, como demonstrado pelo estudo ToGA (BANG et al., 2010). Em câncer de mama, tal receptor demonstra-se como um biomarcador prognóstico e preditivo de benefício à terapias anti-HER2 (SLAMON et al., 2001). A ausência de associação entre valores prognósticos e preditivos é vista em câncer de cólon e a presença de mutação do Kras (ROTH et al., 2010). O valor prognóstico da mutação do Kras é incerto, mas os pacientes que a abrigam não apresentam benefício com o uso de anticorpos monoclonais anti-EGFR (BOKEMEYER et al., 2009; VAN CUTSEM et al., 2009). Os estudos prospectivos poderão verificar o real valor prognóstico da expressão do HER2 em câncer gástrico.

Em resumo, os métodos empregados neste estudo não evidenciaram influência da expressão dos receptores da família EGFR na sobrevida de pacientes portadores de adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia. Observou-se também correlação entre a expressão de HER2 e HER3 com o tipo intestinal de Laurén e com idade avançada, o que contribui para a hipótese da expressão associada deste heterodímero, que pode ser avaliado como um potencial alvo terapêutico.

6. CONCLUSÃO

Os métodos empregados no presente estudo nos permitem concluir que não houve influência prognóstica da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na amostra de pacientes estudada, e a correlação entre a expressão de HER2 e HER3 com o tipo intestinal de Laurén e com idade avançada reforça a hipótese da expressão associada deste heterodímero, constituindo-se em um potencial alvo terapêutico.

REFERÊNCIAS

- BANG, Y. J.; KIM, Y. W.; YANG, H. K.; CHUNG, H. C.; PARK, Y. K.; LEE, K. H.; LEE, K. W.; KIM, Y. H.; NOH, S. I.; CHO, J. Y.; MOK, Y. J.; JI, J.; YE, T. S.; BUTTON, P.; SIRZEN, F.; NOH, S. H. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. **Lancet**. 379, 9813, 315-321, 2012
- BANG, Y. J.; VAN CUTSEM, E.; FEYEREISLOVA, A.; CHUNG, H. C.; SHEN, L.; SAWAKI, A.; LORDICK, F.; OHTSU, A.; OMURO, Y.; SATOH, T.; APRILE, G.; KULIKOV, E.; HILL, J.; LEHLE, M.; RUSCHOFF, J.; KANG, Y. K. 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**. 376, 9742, 687-697, 2010
- BASELGA, J.; CORTES, J.; KIM, S. B.; IM, S. A.; HEGG, R.; IM, Y. H.; ROMAN, L.; PEDRINI, J. L.; PIENKOWSKI, T.; KNOTT, A.; CLARK, E.; BENYUNES, M. C.; ROSS, G.; SWAIN, S. M. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. **N Engl J Med**. 366, 2, 109-119, 2012
- BASELGA, J.; SWAIN, S. M. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3. **Nat Rev Cancer**. 9, 7, 463-475, 2009
- BEGNAMI, M. D.; FUKUDA, E.; FREGNANI, J. H.; NONOGAKI, S.; MONTAGNINI, A. L.; DA COSTA, W. L., JR.; SOARES, F. A. Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (HERs) in gastric carcinomas: HER2 and HER3 are predictors of poor outcome. **J Clin Oncol**. 29, 22, 3030-3036, 2011
- BOHANES, P.; LOUPAKIS, F.; LABONTE, M. J.; WAKATSUKI, T.; LENZ, H. J. "HER Majesty's a Pretty Nice Girl but She Changes From Day to Day". **J Clin Oncol**. 30, 4, 465-466, 2012
- BOKEMEYER, C.; BONDARENKO, I.; MAKHSON, A.; HARTMANN, J. T.; APARICIO, J.; DE BRAUD, F.; DONEA, S.; LUDWIG, H.; SCHUCH, G.; STROH, C.; LOOS, A. H.; ZUBEL, A.; KORALEWSKI, P. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol**. 27, 5, 663-671, 2009
- BOSMAN, F. T.; CARNEIRO, F.; HRUBAN, R. H.; THEISE, N. D. WHO Classification of Tumours of the Digestive System In: BOSMAN FT, C. F., HRUBAN RH, THEISE ND. **WHO Classification of Tumours of the Digestive System** Lyon: IARC Press, 2010

- CAMP, R. L.; NEUMEISTER, V.; RIMM, D. L. A decade of tissue microarrays: progress in the discovery and validation of cancer biomarkers. **J Clin Oncol.** 26, 34, 5630-5637, 2008
- CHOW, W. H.; BLOT, W. J.; VAUGHAN, T. L.; RISCH, H. A.; GAMMON, M. D.; STANFORD, J. L.; DUBROW, R.; SCHOENBERG, J. B.; MAYNE, S. T.; FARROW, D. C.; AHSAN, H.; WEST, A. B.; ROTTERDAM, H.; NIWA, S.; FRAUMENI, J. F., JR. Body mass index and risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia. **J Natl Cancer Inst.** 90, 2, 150-155, 1998
- CUNNINGHAM, D.; ALLUM, W. H.; STENNING, S. P.; THOMPSON, J. N.; VAN DE VELDE, C. J.; NICOLSON, M.; SCARFFE, J. H.; LOFTS, F. J.; FALK, S. J.; IVESON, T. J.; SMITH, D. B.; LANGLEY, R. E.; VERMA, M.; WEEDEN, S.; CHUA, Y. J.; PARTICIPANTS, M. T. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. **N Engl J Med.** 355, 1, 11-20, 2006
- CUNNINGHAM, D.; STARLING, N.; RAO, S.; IVESON, T.; NICOLSON, M.; COXON, F.; MIDDLETON, G.; DANIEL, F.; OATES, J.; NORMAN, A. R. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. **N Engl J Med.** 358, 1, 36-46, 2008
- D'ANGELICA, M.; GONEN, M.; BRENNAN, M. F.; TURNBULL, A. D.; BAINS, M.; KARPEH, M. S. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. **Ann Surg.** 240, 5, 808-816, 2004
- DAS, P. M.; THOR, A. D.; EDGERTON, S. M.; BARRY, S. K.; CHEN, D. F.; JONES, F. E. Reactivation of epigenetically silenced HER4/ERBB4 results in apoptosis of breast tumor cells. **Oncogene.** 29, 37, 5214-5219, 2010
- DIKKEN, J. L.; JANSEN, E. P.; CATS, A.; BAKKER, B.; HARTGRINK, H. H.; KRANENBARG, E. M.; BOOT, H.; PUTTER, H.; PEETERS, K. C.; VAN DE VELDE, C. J.; VERHEIJ, M. Impact of the extent of surgery and postoperative chemoradiotherapy on recurrence patterns in gastric cancer. **J Clin Oncol.** 28, 14, 2430-2436, 2010
- DRAGOVICH, T.; MCCOY, S.; FENOGLIO-PREISER, C. M.; WANG, J.; BENEDETTI, J. K.; BAKER, A. F.; HACKETT, C. B.; URBA, S. G.; ZANER, K. S.; BLANKE, C. D.; ABBRUZZESE, J. L. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. **J Clin Oncol.** 24, 30, 4922-4927, 2006
- EBERHARD, D. A.; JOHNSON, B. E.; AMLER, L. C.; GODDARD, A. D.; HELDENS, S. L.; HERBST, R. S.; INCE, W. L.; JANNE, P. A.; JANUARIO, T.; JOHNSON, D. H.; KLEIN, P.; MILLER, V. A.; OSTLAND, M. A.; RAMIES, D. A.; SEBISANOVIC, D.; STINSON, J. A.; ZHANG, Y. R.; SESHAGIRI, S.; HILLAN, K. J. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in

patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. **J Clin Oncol.** 23, 25, 5900-5909, 2005

FAREWELL, V. T. The use of mixture models for the analysis of survival data with long-term survivors. **Biometrics.** 38, 4, 1041-1046, 1982

GALIZIA, G.; LIETO, E.; ORDITURA, M.; CASTELLANO, P.; MURA, A. L.; IMPERATORE, V.; PINTO, M.; ZAMBOLI, A.; DE VITA, F.; FERRARACCIO, F. Epidermal growth factor receptor (EGFR) expression is associated with a worse prognosis in gastric cancer patients undergoing curative surgery. **World J Surg.** 31, 7, 1458-1468, 2007

GAMBOA-DOMINGUEZ, A.; DOMINGUEZ-FONSECA, C.; QUINTANILLA-MARTINEZ, L.; REYES-GUTIERREZ, E.; GREEN, D.; ANGELES-ANGELES, A.; BUSCH, R.; HERMANNSTADTER, C.; NAHRIG, J.; BECKER, K. F.; BECKER, I.; HOFER, H.; FEND, F.; LUBER, B. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinoma from Mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system. **Mod Pathol.** 17, 5, 579-587, 2004

GAMEL, J. W.; VOGEL, R. L. Comparison of parametric and non-parametric survival methods using simulated clinical data. **Stat Med.** 16, 14, 1629-1643, 1997

GARCIA, I.; VIZOSO, F.; MARTIN, A.; SANZ, L.; ABDEL-LAH, O.; RAIGOSO, P.; GARCIA-MUNIZ, J. L. Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. **Ann Surg Oncol.** 10, 3, 234-241, 2003

GEYER, C. E.; FORSTER, J.; LINDQUIST, D.; CHAN, S.; ROMIEU, C. G.; PIENKOWSKI, T.; JAGIELLO-GRUSZFELD, A.; CROWN, J.; CHAN, A.; KAUFMAN, B.; SKARLOS, D.; CAMPONE, M.; DAVIDSON, N.; BERGER, M.; OLIVA, C.; RUBIN, S. D.; STEIN, S.; CAMERON, D. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. **N Engl J Med.** 355, 26, 2733-2743, 2006

GRAU, J. J.; ESTAPE, J.; ALCOBENDAS, F.; PERA, C.; DANIELS, M.; TERES, J. Positive results of adjuvant mitomycin-C in resected gastric cancer: a randomised trial on 134 patients. **Eur J Cancer.** 29A, 3, 340-342, 1993

GRAVALOS, C.; GOMEZ-MARTIN, C.; RIVERA, F.; ALES, I.; QUERALT, B.; MARQUEZ, A.; JIMENEZ, U.; ALONSO, V.; GARCIA-CARBONERO, R.; SASTRE, J.; COLOMER, R.; CORTES-FUNES, H.; JIMENO, A. Phase II study of trastuzumab and cisplatin as first-line therapy in patients with HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer. **Clin Transl Oncol.** 13, 3, 179-184, 2011

- GRAVALOS, C.; JIMENO, A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. **Ann Oncol.** 19, 9, 1523-1529, 2008
- HAENSZEL, W.; KURIHARA, M.; SEGI, M.; LEE, R. K. Stomach cancer among Japanese in Hawaii. **J Natl Cancer Inst.** 49, 4, 969-988, 1972
- HAMILTON, S. R.; AALTONEN, L. A. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. In: KLEIHUES, P., SOBIN, L.H. **World Health Organization Classification of Tumours.** Lyon: IARC Library, 2000
- HAN, S. W.; OH, D. Y.; IM, S. A.; PARK, S. R.; LEE, K. W.; SONG, H. S.; LEE, N. S.; LEE, K. H.; CHOI, I. S.; LEE, M. H.; KIM, M. A.; KIM, W. H.; BANG, Y. J.; KIM, T. Y. Phase II study and biomarker analysis of cetuximab combined with modified FOLFOX6 in advanced gastric cancer. **Br J Cancer.** 100, 2, 298-304, 2009
- HARREL JR., F. E. Predicting Outcomes: Applied Survival Analysis and Logistic Regression. In: HARREL JR., F. E. **Predicting Outcomes: Applied Survival Analysis and Logistic Regression.** Charlottesville: University of Virginia, 1996,
- HAYASHI, M.; INOKUCHI, M.; TAKAGI, Y.; YAMADA, H.; KOJIMA, K.; KUMAGAI, J.; KAWANO, T.; SUGIHARA, K. High expression of HER3 is associated with a decreased survival in gastric cancer. **Clin Cancer Res.** 14, 23, 7843-7849, 2008
- HOFMANN, M.; STOSS, O.; SHI, D.; BUTTNER, R.; VAN DE VIJVER, M.; KIM, W.; OCHIAI, A.; RUSCHOFF, J.; HENKEL, T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. **Histopathology.** 52, 7, 797-805, 2008
- HOLBRO, T.; BEERLI, R. R.; MAURER, F.; KOZICZAK, M.; BARBAS, C. F., 3RD; HYNES, N. E. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit: ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 100, 15, 8933-8938, 2003
- HSIEH, A. C.; MOASSER, M. M. Targeting HER proteins in cancer therapy and the role of the non-target HER3. **Br J Cancer.** 97, 4, 453-457, 2007
- HUDIS, C. A. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. **N Engl J Med.** 357, 1, 39-51, 2007
- HUNDAHL, S. A.; MACDONALD, J. S.; BENEDETTI, J.; FITZSIMMONS, T. Surgical treatment variation in a prospective, randomized trial of chemoradiotherapy in gastric cancer: the effect of undertreatment. **Ann Surg Oncol.** 9, 3, 278-286, 2002
- INCA. Rio de Janeiro: Estimativa 2012, 2012. Disponível em: <www.inca.gov.br>. Acesso em: 27/Jun/12

- IQBAL, S.; GOLDMAN, B.; FENOGLIO-PREISER, C. M.; LENZ, H. J.; ZHANG, W.; DANENBERG, K. D.; SHIBATA, S. I.; BLANKE, C. D. Southwest Oncology Group study S0413: a phase II trial of lapatinib (GW572016) as first-line therapy in patients with advanced or metastatic gastric cancer. **Ann Oncol.** 2011
- ISMAIL, H. M.; MONEER, M.; EL-BARADIE, M.; KHORSHID, O.; TOUNY, A. Clinicopathologic and prognostic significance of overexpression of her-2/neu and p53 oncoproteins in gastric carcinoma using tissue microarray. **J Egypt Natl Canc Inst.** 19, 2, 147-157, 2007
- JACOME, A. A.; WOHNATH, D. R.; SCAPULATEMPO NETO, C.; CARNESECA, E. C.; NUNES, J. S.; VIANA, L. S.; SERRANO, S. V.; SANTOS, J. S. Prognostic value of epidermal growth factor receptors (EGFR) on overall survival of gastric cancer patients. **Journal of Clinical Oncology, 2012 ASCO Annual Meeting Proceedings.** 30, May 20 Supplement, 2012
- JACOME, A. A.; WOHNATH, D. R.; SCAPULATEMPO NETO, C.; FREGNANI, J. H.; QUINTO, A. L.; OLIVEIRA, A. T.; VAZQUEZ, V. L.; FAVA, G.; MARTINEZ, E. Z.; SANTOS, J. S. Effect of adjuvant chemoradiotherapy on overall survival of gastric cancer patients submitted to D2 lymphadenectomy. **Gastric Cancer.** 2012
- KAMINENI, A.; WILLIAMS, M. A.; SCHWARTZ, S. M.; COOK, L. S.; WEISS, N. S. The incidence of gastric carcinoma in Asian migrants to the United States and their descendants. **Cancer Causes Control.** 10, 1, 77-83, 1999
- KARAMOUZIS, M. V.; BADRA, F. A.; PAPAVALASSILIOU, A. G. Breast cancer: the upgraded role of HER-3 and HER-4. **Int J Biochem Cell Biol.** 39, 5, 851-856, 2007
- KIM, C.; LEE, J. L.; RYU, M. H.; CHANG, H. M.; KIM, T. W.; LIM, H. Y.; KANG, H. J.; PARK, Y. S.; RYOO, B. Y.; KANG, Y. K. A prospective phase II study of cetuximab in combination with XELOX (capecitabine and oxaliplatin) in patients with metastatic and/or recurrent advanced gastric cancer. **Invest New Drugs.** 29, 2, 366-373, 2011
- KIM, J. S.; KIM, M. A.; KIM, T. M.; LEE, S. H.; KIM, D. W.; IM, S. A.; KIM, T. Y.; KIM, W. H.; YANG, H. K.; HEO, D. S.; BANG, Y. J.; LEE, K. U.; CHOE, K. J.; KIM, N. K. Biomarker analysis in stage III-IV (M0) gastric cancer patients who received curative surgery followed by adjuvant 5-fluorouracil and cisplatin chemotherapy: epidermal growth factor receptor (EGFR) associated with favourable survival. **Br J Cancer.** 100, 5, 732-738, 2009
- KIM, M. A.; LEE, H. S.; LEE, H. E.; JEON, Y. K.; YANG, H. K.; KIM, W. H. EGFR in gastric carcinomas: prognostic significance of protein

overexpression and high gene copy number. **Histopathology**. 52, 6, 738-746, 2008

- KIM, S.; LIM, D. H.; LEE, J.; KANG, W. K.; MACDONALD, J. S.; PARK, C. H.; PARK, S. H.; LEE, S. H.; KIM, K.; PARK, J. O.; KIM, W. S.; JUNG, C. W.; PARK, Y. S.; IM, Y. H.; SOHN, T. S.; NOH, J. H.; HEO, J. S.; KIM, Y. I.; PARK, C. K.; PARK, K. An observational study suggesting clinical benefit for adjuvant postoperative chemoradiation in a population of over 500 cases after gastric resection with D2 nodal dissection for adenocarcinoma of the stomach. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**. 63, 5, 1279-1285, 2005
- KONONEN, J.; BUBENDORF, L.; KALLIONIEMI, A.; BARLUND, M.; SCHRAML, P.; LEIGHTON, S.; TORHORST, J.; MIHATSCH, M. J.; SAUTER, G.; KALLIONIEMI, O. P. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nat Med**. 4, 7, 844-847, 1998
- KOUNTOURAKIS, P.; PAVLAKIS, K.; PSYRRI, A.; RONTOGIANNI, D.; XIROS, N.; PATSOURIS, E.; PECTASIDES, D.; ECONOMOPOULOS, T. Prognostic significance of HER3 and HER4 protein expression in colorectal adenocarcinomas. **BMC Cancer**. 6, 46, 2006
- KOUTRAS, A. K.; FOUNTZILAS, G.; KALOGERAS, K. T.; STARAKIS, I.; ICONOMOU, G.; KALOFONOS, H. P. The upgraded role of HER3 and HER4 receptors in breast cancer. **Crit Rev Oncol Hematol**. 74, 2, 73-78, 2010
- KUNZ, P. L.; MOJTAMED, A.; FISHER, G. A.; FORD, J. M.; CHANG, D. T.; BALISE, R. R.; BANGS, C. D.; CHERRY, A. M.; PAI, R. K. HER2 Expression in Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma in a US Population: Clinicopathologic Analysis With Proposed Approach to HER2 Assessment. **Appl Immunohistochem Mol Morphol**. 2011
- LAGERGREN, J.; BERGSTROM, R.; LINDGREN, A.; NYREN, O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. **N Engl J Med**. 340, 11, 825-831, 1999
- LAM, K. F.; FONG, D. Y.; TANG, O. Y. Estimating the proportion of cured patients in a censored sample. **Stat Med**. 24, 12, 1865-1879, 2005
- LEE-HOEFLICH, S. T.; CROCKER, L.; YAO, E.; PHAM, T.; MUNROE, X.; HOEFLICH, K. P.; SLIWKOWSKI, M. X.; STERN, H. M. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer: implications for targeted therapy. **Cancer Res**. 68, 14, 5878-5887, 2008
- LEE, E. T.; WANG, J. W. **Statistical Methods for Survival Data Analysis**. In: LEE, E. T. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003

- LEE, J.; LIM DO, H.; KIM, S.; PARK, S. H.; PARK, J. O.; PARK, Y. S.; LIM, H. Y.; CHOI, M. G.; SOHN, T. S.; NOH, J. H.; BAE, J. M.; AHN, Y. C.; SOHN, I.; JUNG, S. H.; PARK, C. K.; KIM, K. M.; KANG, W. K. Phase III trial comparing capecitabine plus cisplatin versus capecitabine plus cisplatin with concurrent capecitabine radiotherapy in completely resected gastric cancer with D2 lymph node dissection: the ARTIST trial. **J Clin Oncol.** 30, 3, 268-273, 2012
- LIETO, E.; FERRARACCIO, F.; ORDITURA, M.; CASTELLANO, P.; MURA, A. L.; 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.** 15, 1, 69-79, 2008
- LIU, Z.; LIU, L.; LI, M.; WANG, Z.; FENG, L.; ZHANG, Q.; CHENG, S.; LU, S. Epidermal growth factor receptor mutation in gastric cancer. **Pathology.** 43, 3, 234-238, 2011
- LORDICK, F.; LUBER, B.; LORENZEN, S.; HEGEWISCH-BECKER, S.; FOLPRECHT, G.; WOLL, E.; DECKER, T.; ENDLICHER, E.; ROTHLING, N.; SCHUSTER, T.; KELLER, G.; FEND, F.; PESCHEL, C. Cetuximab plus oxaliplatin/leucovorin/5-fluorouracil in first-line metastatic gastric cancer: a phase II study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO). **Br J Cancer.** 102, 3, 500-505, 2010
- MACDONALD, J. S.; SMALLEY, S. R.; BENEDETTI, J.; HUNDAHL, S. A.; ESTES, N. C.; STEMMERMANN, G. N.; HALLER, D. G.; AJANI, J. A.; GUNDERSON, L. L.; JESSUP, J. M.; MARTENSON, J. A. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. **N Engl J Med.** 345, 10, 725-730, 2001
- MAEMONDO, M.; INOUE, A.; KOBAYASHI, K.; SUGAWARA, S.; OIZUMI, S.; ISOBE, H.; GEMMA, A.; HARADA, M.; YOSHIZAWA, H.; KINOSHITA, I.; FUJITA, Y.; OKINAGA, S.; HIRANO, H.; YOSHIMORI, K.; HARADA, T.; OGURA, T.; ANDO, M.; MIYAZAWA, H.; TANAKA, T.; SAIJO, Y.; HAGIWARA, K.; MORITA, S.; NUKIWA, T. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. **N Engl J Med.** 362, 25, 2380-2388, 2010
- MAMMANO, E.; BELLUCO, C.; SCIRO, M.; MENCARELLI, R.; AGOSTINI, M.; MICHELOTTO, M.; MARCHET, A.; NITTI, D. Epidermal growth factor receptor (EGFR): mutational and protein expression analysis in gastric cancer. **Anticancer Res.** 26, 5A, 3547-3550, 2006
- MCSHANE, L. M.; ALTMAN, D. G.; SAUERBREI, W.; TAUBE, S. E.; GION, M.; CLARK, G. M. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies. **J Clin Oncol.** 23, 36, 9067-9072, 2005

- MEMON, A. A.; SORENSEN, B. S.; MELDGAARD, P.; FOKDAL, L.; THYKJAER, T.; NEXO, E. The relation between survival and expression of HER1 and HER2 depends on the expression of HER3 and HER4: a study in bladder cancer patients. **Br J Cancer**. 94, 11, 1703-1709, 2006
- MEMON, A. A.; SORENSEN, B. S.; MELGARD, P.; FOKDAL, L.; THYKJAER, T.; NEXO, E. Expression of HER3, HER4 and their ligand heregulin-4 is associated with better survival in bladder cancer patients. **Br J Cancer**. 91, 12, 2034-2041, 2004
- MILNE, A. N.; CARVALHO, R.; MORSINK, F. M.; MUSLER, A. R.; DE LENG, W. W.; RISTIMAKI, A.; OFFERHAUS, G. J. Early-onset gastric cancers have a different molecular expression profile than conventional gastric cancers. **Mod Pathol**. 19, 4, 564-572, 2006
- MILNE, A. N.; SITARZ, R.; CARVALHO, R.; CARNEIRO, F.; OFFERHAUS, G. J. Early onset gastric cancer: on the road to unraveling gastric carcinogenesis. **Curr Mol Med**. 7, 1, 15-28, 2007
- MOELANS, C. B.; MILNE, A. N.; MORSINK, F. H.; OFFERHAUS, G. J.; VAN DIEST, P. J. Low frequency of HER2 amplification and overexpression in early onset gastric cancer. **Cell Oncol (Dordr)**. 34, 2, 89-95, 2011
- MURAD, A. M.; SANTIAGO, F. F.; PETROIANU, A.; ROCHA, P. R.; RODRIGUES, M. A.; RAUSCH, M. Modified therapy with 5-fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced gastric cancer. **Cancer**. 72, 1, 37-41, 1993
- MURAOKA-COOK, R. S.; FENG, S. M.; STRUNK, K. E.; EARP, H. S., 3RD. ErbB4/HER4: role in mammary gland development, differentiation and growth inhibition. **J Mammary Gland Biol Neoplasia**. 13, 2, 235-246, 2008
- NAIDU, R.; YADAV, M.; NAIR, S.; KUTTY, M. K. Expression of c-erbB3 protein in primary breast carcinomas. **Br J Cancer**. 78, 10, 1385-1390, 1998
- NAKAJIMA, T.; TAKAHASHI, T.; TAKAGI, K.; KUNO, K.; KAJITANI, T. Comparison of 5-fluorouracil with fluorouracil in adjuvant chemotherapies with combined inductive and maintenance therapies for gastric cancer. **J Clin Oncol**. 2, 12, 1366-1371, 1984
- NICHOLSON, R. I.; GEE, J. M.; HARPER, M. E. EGFR and cancer prognosis. **Eur J Cancer**. 37 Suppl 4, S9-15, 2001
- PAOLETTI, X.; OBA, K.; BURZYKOWSKI, T.; MICHIELS, S.; OHASHI, Y.; PIGNON, J. P.; ROUGIER, P.; SAKAMOTO, J.; SARGENT, D.; SASAKO, M.; VAN CUTSEM, E.; BUYSE, M. Benefit of adjuvant chemotherapy for resectable gastric cancer: a meta-analysis. **JAMA**. 303, 17, 1729-1737, 2010

- PARK, Y. S.; RYU, M.; PARK, H. J.; KIM, H. J.; RYOO, B.; YOOK, J. H.; KIM, B. S.; JANG, S. J.; KANG, Y. HER2 status as an independent prognostic marker in patients with advanced gastric cancer receiving adjuvant chemotherapy after curative gastrectomy. **J Clin Oncol.** 29, 2011
- PARKIN, D. M. Global cancer statistics in the year 2000. **Lancet Oncol.** 2, 9, 533-543, 2001
- PARKIN, D. M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. Global cancer statistics, 2002. **CA Cancer J Clin.** 55, 2, 74-108, 2005
- PARSONNET, J.; FRIEDMAN, G. D.; ORENTREICH, N.; VOGELMAN, H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. **Gut.** 40, 3, 297-301, 1997
- PEETERS, K. C.; HUNDAHL, S. A.; KRANENBARG, E. K.; HARTGRINK, H.; VAN DE VELDE, C. J. Low Maruyama index surgery for gastric cancer: blinded reanalysis of the Dutch D1-D2 trial. **World J Surg.** 29, 12, 1576-1584, 2005
- PERPEROGLOU, A.; KERAMOPOULLOS, A.; VAN HOUWELINGEN, H. C. Approaches in modelling long-term survival: an application to breast cancer. **Stat Med.** 26, 13, 2666-2685, 2007
- PINTO, C.; DI FABIO, F.; BARONE, C.; SIENA, S.; FALCONE, A.; CASCINU, S.; ROJAS LLIMPE, F. L.; STELLA, G.; SCHINZARI, G.; ARTALE, S.; MUTRI, V.; GIAQUINTA, S.; GIANNETTA, L.; BARDELLI, A.; MARTONI, A. A. Phase II study of cetuximab in combination with cisplatin and docetaxel in patients with untreated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (DOCETUX study). **Br J Cancer.** 101, 8, 1261-1268, 2009
- PINTO, C.; DI FABIO, F.; SIENA, S.; CASCINU, S.; ROJAS LLIMPE, F. L.; CECCARELLI, C.; MUTRI, V.; GIANNETTA, L.; GIAQUINTA, S.; FUNAIOLI, C.; BERARDI, R.; LONGOBARDI, C.; PIANA, E.; MARTONI, A. A. Phase II study of cetuximab in combination with FOLFIRI in patients with untreated advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (FOLCETUX study). **Ann Oncol.** 18, 3, 510-517, 2007
- PISTERS, P. W. T.; KELSEN, D. P.; TEPPER, J. E. Cancer of the Stomach. In: DE VITA VT, L. T., ROSENBERG SA. **Cancer: Principles and Practice of Oncology.** Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, 1043
- PRYCZYNICZ, A.; GUZINSKA-USTYMOWICZ, K.; KEMONA, A.; CZYZEWSKA, J. *Helicobacter pylori* infection and expressions of EGF, EGFR and c-erbB-2 proteins in gastric carcinoma. **Folia Histochem Cytobiol.** 47, 3, 447-451, 2009
- PYRHONEN, S.; KUITUNEN, T.; NYANDOTO, P.; KOURI, M. Randomised comparison of fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX)

plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer. **Br J Cancer.** 71, 3, 587-591, 1995

- QUEIROZ, D. M.; MENDES, E. N.; ROCHA, G. A.; OLIVEIRA, A. M.; OLIVEIRA, C. A.; MAGALHAES, P. P.; MOURA, S. B.; CABRAL, M. M.; NOGUEIRA, A. M. cagA-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. **Int J Cancer.** 78, 2, 135-139, 1998
- ROTH, A. D.; TEJPAR, S.; DELORENZI, M.; YAN, P.; FIOCCA, R.; KLINGBIEL, D.; DIETRICH, D.; BIESMANS, B.; BODOKY, G.; BARONE, C.; ARANDA, E.; NORDLINGER, B.; CISAR, L.; LABIANCA, R.; CUNNINGHAM, D.; VAN CUTSEM, E.; BOSMAN, F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. **J Clin Oncol.** 28, 3, 466-474, 2010
- RUSCHOFF, J.; DIETEL, M.; BARETTON, G.; ARBOGAST, S.; WALCH, A.; MONGES, G.; CHENARD, M. P.; PENAULT-LLORCA, F.; NAGELMEIER, I.; SCHLAKE, W.; HOFLE, H.; KREIPE, H. H. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. **Virchows Arch.** 457, 3, 299-307, 2010
- SAKURAMOTO, S.; SASAKO, M.; YAMAGUCHI, T.; KINOSHITA, T.; FUJII, M.; NASHIMOTO, A.; FURUKAWA, H.; NAKAJIMA, T.; OHASHI, Y.; IMAMURA, H.; HIGASHINO, M.; YAMAMURA, Y.; KURITA, A.; ARAI, K. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. **N Engl J Med.** 357, 18, 1810-1820, 2007
- SALOMON, D. S.; BRANDT, R.; CIARDIELLO, F.; NORMANNO, N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. **Crit Rev Oncol Hematol.** 19, 3, 183-232, 1995
- SHAH, M. A.; JANJIGIAN, Y. Y.; PAULIGK, C.; WERNER, D.; KELSEN, D. P.; JAEGER, E.; ALTMANNBERGER, H.; ROBINSON, E.; TANG, L. H.; BARBASHINA, V. V.; AL-BATRAN, S. Prognostic significance of human epidermal growth factor-2 (HER2) in advanced gastric cancer: A U.S. and European international collaborative analysis. **J Clin Oncol.** 29, 2011
- SITHANANDAM, G.; ANDERSON, L. M. The ERBB3 receptor in cancer and cancer gene therapy. **Cancer Gene Ther.** 15, 7, 413-448, 2008
- SLAMON, D. J.; LEYLAND-JONES, B.; SHAK, S.; FUCHS, H.; PATON, V.; BAJAMONDE, A.; FLEMING, T.; EIERMANN, W.; WOLTER, J.; PEGRAM, M.; BASELGA, J.; NORTON, L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. **N Engl J Med.** 344, 11, 783-792, 2001

- SMALLEY, S. R.; BENEDETTI, J. K.; HALLER, D. G.; HUNDAHL, S. A.; ESTES, N. C.; AJANI, J. A.; GUNDERSON, L. L.; GOLDMAN, B.; MARTENSON, J. A.; JESSUP, J. M.; STEMMERMANN, G. N.; BLANKE, C. D.; MACDONALD, J. S. Updated Analysis of SWOG-Directed Intergroup Study 0116: A Phase III Trial of Adjuvant Radiochemotherapy Versus Observation After Curative Gastric Cancer Resection. **J Clin Oncol.** 30, 19, 2327-2333, 2012
- SONGUN, I.; PUTTER, H.; KRANENBARG, E. M.; SASAKO, M.; VAN DE VELDE, C. J. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. **Lancet Oncol.** 11, 5, 439-449, 2010
- STERN, D. F. ERBB3/HER3 and ERBB2/HER2 duet in mammary development and breast cancer. **J Mammary Gland Biol Neoplasia.** 13, 2, 215-223, 2008
- SUO, Z.; RISBERG, B.; KALSSON, M. G.; WILLMAN, K.; TIERENS, A.; SKOVLUND, E.; NESLAND, J. M. EGFR family expression in breast carcinomas. c-erbB-2 and c-erbB-4 receptors have different effects on survival. **J Pathol.** 196, 1, 17-25, 2002
- TERASHIMA, M.; OCHIAI, A.; KITADA, K.; ICHIKAWA, W.; KURAHASHI, I.; SAKURAMOTO, S.; FUKAGAWA, T.; SANO, T.; IMAMURA, H.; SASAKO, M. Impact of human epidermal growth factor receptor (EGFR) and ERBB2 (HER2) expressions on survival in patients with stage II/III gastric cancer, enrolled in the ACTS-GC study. **J Clin Oncol.** 29, suppl; abstr 4013, 2011
- UEMURA, N.; OKAMOTO, S.; YAMAMOTO, S.; MATSUMURA, N.; YAMAGUCHI, S.; YAMAKIDO, M.; TANIYAMA, K.; SASAKI, N.; SCHLEMPER, R. J. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. **N Engl J Med.** 345, 11, 784-789, 2001
- VAN CUTSEM, E.; KOHNE, C. H.; HITRE, E.; ZALUSKI, J.; CHANG CHIEN, C. R.; MAKHSON, A.; D'HAENS, G.; PINTER, T.; LIM, R.; BODOKY, G.; ROH, J. K.; FOLPRECHT, G.; RUFF, P.; STROH, C.; TEJPAR, S.; SCHLICHTING, M.; NIPPGEN, J.; ROUGIER, P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med.** 360, 14, 1408-1417, 2009
- VAN CUTSEM, E.; MOISEYENKO, V. M.; TJULANDIN, S.; MAJLIS, A.; CONSTENLA, M.; BONI, C.; RODRIGUES, A.; FODOR, M.; CHAO, Y.; VOZNYI, E.; RISSE, M. L.; AJANI, J. A. Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: a report of the V325 Study Group. **J Clin Oncol.** 24, 31, 4991-4997, 2006
- WAGNER, A. D.; GROTHE, W.; HAERTING, J.; KLEBER, G.; GROTHEY, A.; FLEIG, W. E. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic

review and meta-analysis based on aggregate data. **J Clin Oncol.** 24, 18, 2903-2909, 2006

WANG, Y. L.; SHEU, B. S.; YANG, H. B.; LIN, P. W.; CHANG, Y. C. Overexpression of c-erb-B2 proteins in tumor and non-tumor parts of gastric adenocarcinoma--emphasis on its relation to H. pylori infection and clinicohistological characteristics. **Hepatogastroenterology.** 49, 46, 1172-1176, 2002

WITTON, C. J.; REEVES, J. R.; GOING, J. J.; COOKE, T. G.; BARTLETT, J. M. Expression of the HER1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer. **J Pathol.** 200, 3, 290-297, 2003

YOO, C. H.; NOH, S. H.; SHIN, D. W.; CHOI, S. H.; MIN, J. S. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. **Br J Surg.** 87, 2, 236-242, 2000

ZHANG, X. L.; YANG, Y. S.; XU, D. P.; QU, J. H.; GUO, M. Z.; GONG, Y.; HUANG, J. Comparative study on overexpression of HER2/neu and HER3 in gastric cancer. **World J Surg.** 33, 10, 2112-2118, 2009