

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ

Teza de doctorat

Rezumat

**Implicațiile patogenice ale factorilor de creștere EGF și TGF și ale
receptorilor acestora în carcinoamele gastrice**

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof. Univ. Dr. SIMIONESCU CRISTIANA EUGENIA

STUDENT – DOCTORAND:

ANCA OANA MITRUȚ

CRAIOVA

- 2013 -



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI ȘI
PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POS DRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
CERCETĂRII
TINERETULUI
ȘI SPORTULUI

OIPOSDRU



UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI
FARMACIE CRAIOVA

Investește în oameni !

FONDUL SOCIAL EUROPEAN

**Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane
2007 – 2013**

Axa prioritară 1

**„Educația și formarea profesională în sprijinul creșterii
economice și dezvoltării societății bazate pe cunoaștere”**

Domeniul major de intervenție 1.5

„Programe doctorale și postdoctorale în sprijinul cercetării”

Titlul proiectului

***„Creșterea calității și vizibilității rezultatelor cercetării științifice a
doctoranzilor cu frecvență prin acordarea de burse doctorale”***

Contract nr: POSDRU/107/1.5/S/82705

Beneficiar

Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova

DISCIPLINE FUNDAMENTALE – DAM 01

MORFOPATOLOGIE – DASc 22

CUPRINS

INTRODUCERE.....	3
STADIUL CUNOAȘTERII.....	5
CAPITOLUL I EPIDEMIOLOGIE ȘI FACTORI DE RISC ÎN CANCERUL GASTRIC.....	5
I.A. EPIDEMIOLOGIA CANCERULUI GASTRIC.....	5
I.B. FACTORII DE RISC AI CANCERULUI GASTRIC.....	8
CAPITOLUL II CARCINOGENEZA GASTRICĂ.....	17
II.A. TUMORILE GASTRICE DE TIP INTESTINAL (MODELUL CORREA).....	17
II.B. CANCERUL GASTRIC DE TIP DIFUZ.....	24
II.C. EVENIMENTELE MOLECULARE IMPLICATE ÎN CARCINOGENEZA GASTRICĂ.....	26
CAPITOLUL III CLASIFICAREA ȘI STADIALIZAREA CARCINOAMELOR GASTRICE.....	33
III.A. CLASIFICAREA MACROSCOPICĂ A CANCERULUI GASTRIC.....	33
III.B. CLASIFICAREA MICROSCOPICĂ A CANCERULUI GASTRIC.....	34
III.C. STADIALIZAREA CANCERULUI GASTRIC.....	38
CERCETARI PERSONALE SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI.....	41
CAPITOLUL IV MATERIAL ȘI METODE.....	42
IV.A. MATERIALUL STUDIAT.....	42
IV.B. METODE UTILIZATE.....	43
CAPITOLUL V REZULTATE.....	50
V.A. STUDIU CLINICO-EPIDEMIOLOGIC ȘI ENDOSCOPIC AL CARCINOAMELOR GASTRICE.....	50
V.A.1. STUDIUL DATELOR EPIDEMIOLOGICE LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	50
V.A.2. STUDIUL DATELOR CLINICE LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	56
V.A.3. STUDIUL ENDOSCOPIC LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	58
V.B. STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL CARCINOAMELOR GASTRICE.....	65
V.B.1. ANALIZA TIPULUI ȘI GRADULUI CARCINOAMELOR GASTRICE.....	66
V.B.2. ANALIZA PARAMETRIILOR HISTOPATOLOGICI CU ROL PROGNOSTIC ȘI ÎNCADRAREA pTNM.....	74
V.C. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL CARCINOAMELOR GASTRICE.....	90
V.C.1. REZULTATELE STUDIULUI IMUNOHISTOCHIMIC PRIVIND EXPRESIA FACTORULUI DE CREȘTERE TGF- β ȘI A RECEPTORULUI SĂU TGFBR1 ÎN CORELAȚIE CU INDEXUL DE PROLIFERARE NUCLEARĂ Ki67.....	91
V.C.1.1. IMUNOREACTIVITATEA TGF-B1 ȘI TGFBR1 ÎN PARENCHIMUL NORMAL GASTRIC ȘI LEZIUNILE METAPLAZICE, RESPECTIV DISPLAZICE ASOCIATE CARCINOAMELOR INVESTIGATE.....	92
V.C.1.2. IMUNOREACTIVITATEA TGF-B1 ȘI TGFBR1 LA NIVELUL SPECIMENELOR TUMORALE.....	94
V.C.2. REZULTATELE STUDIULUI IMUNOHISTOCHIMIC PRIVIND EXPRESIA FACTORULUI DE CREȘTERE EGF ȘI A RECEPTORILOR SĂI C-ERBB-2 ȘI EGFR.....	103
V.C.2.1. IMUNOREACTIVITATEA EGF.....	104
V.C.2.2. IMUNOREACTIVITATEA C-ERB-B2.....	107

V.C.2.3 IMUNOREACTIVITATEA EGFR.....	112
CAPITOLUL VI. DISCUȚII.....	116
VI.A. ANALIZA CLINICO-EPIDEMIOLOGICĂ ȘI ENDOSCOPICĂ A CANCERULUI GASTRIC.....	116
VI.A1. ANALIZA DATELOR EPIDEMIOLOGICE LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	116
VI.A.2. ANALIZA DATELOR CLINICE LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	124
VI.A.3. ANALIZA DATELOR ENDOSCOPICE LA PACIENȚII CU CANCER GASTRIC.....	126
VI.B. ANALIZA HISTOPATOLOGICA A CANCERULUI GASTRIC.....	128
VI.C. ANALIZA IMUNOHISTOCHIMICĂ A FACTORILOR DE CREȘTERE ÎN CANCERUL GASTRIC.....	136
VI.C.1 DISCUȚII PRIVIND IMUNOREACTIVITATEA TGF- β 1 ȘI A RECEPTORULUI SĂU TGFBR1.....	136
CAPITOLUL VII. CONCLUZII.....	146
BIBLIOGRAFIE.....	151

INTRODUCERE

Cancerle tubului digestiv prezintă o incidență crescută în societatea actuală, etiologia lor fiind legată atât de predispoziția genetică cât și de factorii de mediu. Dintre acestea cancerul gastric deși prezintă o incidență în scădere, în special în țările vestice comparativ cu cel colonic și esofagian, își păstrează gravitatea și mortalitatea crescută. Paralel cu creșterea incidenței cancerului esofagian se constată actualmente o creștere a frecvenței formelor de cancer gastric cu localizare cardială și o scădere a celor cu localizare antropilorică. Această evoluție este legată în primul rând de modificarea modului de viață și alimentație în țările vestice.

Studiul efectuat aduce argumente clare asupra faptului că o explorare complexă imunohistochimică a țesutului tumoral este utilă pentru aprecierea prognosticului și evoluției bolii. Astfel adenocarcinoamele gastrice de tip intestinal investigate s-au asociat cu o supraexpresie a factorului EGF, iar în aproape 50% din cazuri și de supraexpresia receptorilor săi HER2 și EGFR1. Se pare că viitorul în cercetarea carcinogenezei gastrice este reprezentată de evaluarea imunohistochimică și genetică a țesutului tumoral, studiul nostru reprezentând un mic pas în acest sens. Sperăm că viitoarele cercetări vor lămurii multe aspecte încă neclare care vor permite prevenția și creșterea eficienței terapiei antineoplazice cu consecințe benefice pentru creșterea supraviețuirii pacienților.

Cuvinte cheie: adenocarcinom gastric, epidemiologie, histopatologie imunohistochimie, factori de creștere, EGF, EGFR1, HER2 neu, TGF- β 1, TGFBR1, Ki67

STADIUL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I – ”Epidemiologia și factorii de risc în cancerul gastric” – în acest capitol se prezintă epidemiologia cancerului gastric pe plan mondial și în România. Se insistă asupra repațiției în funcție de sex, vârstă și în funcție de localizare (formele cardiale și pilorice). Se face o trecere în revistă ai factorilor de risc ai cancerului gastric, cu mențiuni speciale pentru influența alimentației, a infecției cu helicobacter pilory, a fumatului, a obezității și a afecțiunilor cu risc crescut (stomac operat, anemie Biermer, polipoza gastrică) asupra carcinogenezei gastrice. Se menționează și rolul eredității și a istoricului familial în acest proces.

CAPITOLUL II – ”Carcinogeneza gastrică” – prezintă principalele modele teoretice care încearcă să explice dezvoltarea tumorilor gastrice (modelul Correa). Se face o trecere în revistă și a principalelor evenimente moleculare implicate în carcinogeneza gastrică (gena p53, instabilitatea microsateiților, ciclonele, factorii de creștere vasculari, hepatocelulari și fibroblastici, etc.).

CAPITOLUL III – ”Clasificarea și stadializarea carcinoamelor gastrice” – prezintă clasificarea macroscopică a cancerului gastric (cancerul gastric precoce și avansat) și clasificarea microscopică a cancerului gastric cu accent pe clasificările OMS, Lauren și Goseki.

OBIECTIVELE STUDIULUI

Prezentul studiu își propune o evaluare completă și amănunțită a implicării factorilor de creștere (EGF, EGFR1 și HER2 neu, TGF- β 1 și TGFBR1, Ki67) în carcinogeneza gastrică, cu scopul de a identifica posibile ținte prognostice și terapeutice. Identificarea mecanismelor complexe care se desfășoară la nivel molecular și a interacțiunilor dintre acestea furnizează informații valoroase și utile în ceea ce privește inițierea, progresia tumorală și prognosticul pacienților. În prezentul studiu sunt evaluați markeri implicați în toate etapele carcinogenezei gastrice pornind de la cele preinvazive la boala invazivă și metastazantă.

În acest scop am urmărit îndeplinirea următoarelor obiective:

- Extinderea cunoștințelor asupra trăsăturilor clinice, endoscopice, histopatologice și imunohistochimice ale carcinoamelor gastrice raportate la fenotipul tumoral, în vederea aprofundării mecanismelor carcinogenice;
- Stabilirea unei baze de date cu înscrierea principalilor parametri clinici, histopatologici și imunohistochimici ai pacienților luați în studiu;
- Identificarea și definirea parametrilor endoscopici ce caracterizează carcinoamele gastrice, cu scopul corelării lor ulterioare cu datele histopatologice și imunohistochimice, în vederea selectării celor mai fiabili markeri ai prognosticului;
- Identificarea și definirea parametrilor histopatologici ce caracterizează carcinoamele gastrice, cu scopul aplicării unei terapii precoce și diferențiate prin identificarea posibilelor ținte moleculare;
- Identificarea mecanismelor prin care acționează diferiții factori de creștere implicați în invazia și agresivitatea carcinoamelor gastrice și identificarea celor mai specifici markeri ai prognosticului carcinoamelor gastrice invazive și metastazante.

CERCETĂRI PERSONALE

CAPITOLUL IV – "Material și Metodă" – oferă informații despre materialul studiat și metodele utilizate în cercetare.

- Materialul biologic studiat a fost material uman, cuprinzând un număr de 464 de cazuri selectate într-un interval de timp de 5 ani (2008-2012), de la pacienți internați în Clinicile Medicale și de Chirurgie ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova. Cele 464 de cazuri au furnizat materialul biologic reprezentat de fragmente obținute în urma endoscopiei urmată de biopsie efectuată cu scop diagnostic, sau a pieselor operatorii reprezentate de una sau mai multe structuri anatomice sau porțiuni ale acestora (stomac, ganglioni, epiplon, ficat, etc). De asemenea, s-au folosit condicile operatorii și registrele anatomopatologice care alături de foile de observație clinică au permis obținerea unor date cum sunt cele epidemiologice, clinice, aspectul macroscopic al pieselor de exereză chirurgicală (formă, dimensiuni, număr, consistență) și diagnosticul histopatologic pentru cazurile studiate retrospectiv.

- Metode utilizate. Pentru toate cazurile investigate ne-au interesat datele clinice și epidemiologice, precum și cele obținute cu ocazia endoscopiei, parametrii histopatologici și imunohistochimici, care au fost înregistrate în fișele tipizate și apoi stocate în baze de date electronice care a utilizat platforma Microsoft Acces 2003 și au stat la baza alcătuirii loturilor de pacienți care au fost analizate statistic.

Materialul biologic a fost fixat în formol 4% tamponat, apoi prelucrate prin tehnica uzuală de includere la parafină și colorate cu hematoxilină-eozină. Analiza histopatologică s-a realizat pe un lot de 464 de carcinoame gastrice confirmate microscopic și a inclus următoarele criterii de apreciere: analiza tipului și gradul histologic al carcinoamelor gastrice; evaluarea profunzimii invaziei; metastazele limfoganglionare; metastazele în structuri aflate la

distanță; invazia vaselor sanguine/limfatice și invazia perineurală; status-ul limitelor de rezecție chirurgicală.

Pentru studiul imunohistochimic am investigat un număr de 25 de cazuri de carcinoame gastrice. Am folosit blocurile de parafină din care au fost efectuate secțiunile histopatologice care au fost prelucrate prin tehnica LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin2 System). Am utilizat anticorpi concentrați dezvoltăți în șoarece sau iepure direcționați împotriva omului, ale căror principale caracteristici sunt redată în tabelul de mai jos (Tabel 1).

Tabelul 1. Anticorpi utilizați în studiul carcinoamelor gastrice

ANTICORP	CLONA	DEMASCARE ANTIGENICĂ	DILUȚIA	CONTROL POZITIV
TGF-β	TB21	citrat pH 6	1:1000	Hepatocarcinom
TGFBR1	T-19	citrat pH 6	1:300	Hepatocarcinom
Ki67	Mib-1	citrat pH 6	1:50	Carcinom mamar ductal invaziv
EGF	-	citrat pH 6	1:200	Glandă parotidă
EGFR	-	citrat pH 6	1:100	Carcinom scuamos oral
c-erbB-2		citrat pH 6	1:200	Carcinom mamar ductal invaziv

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul pachetului de programe Microsoft Excel (Microsoft Office 2007), folosind testul –" χ^2 " (chi- pătrat) pentru evidențierea diferențelor semnificative dintre diversele grupuri categoriale ale pacienților investigați.

CAPITOLUL V – "Rezultate" și CAPITOLUL VI – "Discuții" prezintă rezultatele din cadrul studiului nostru comparativ cu datele recente din literatură.

- Din studiul clinico-epidemiologic și endoscopic al carcinoamelor gastrice se observă că incidența cancerului de stomac crește odată cu vârsta, atingând apogeul în decada de vârstă 60-80 de ani [15], lucru observat și de noi, procentul pacienților diagnosticați cu cancer gastric în această decadă de vârstă fiind de 62,5%. Consumul crescut de carne roșie mai mult de 5 zile/săptămână se corelează cu creșterea riscurilor de cancer digestiv. În studiul nostru numărul de vegetarieni a fost foarte redus (0,6%), iar cei cu un consum crescut de carne roșie au reprezentat o pondere importantă (38,8%). Rezultatele fiind în concordanță cu cele din studiul EPIC care a adus argumente asupra creșterii riscului de cancer gastric la marii consumatori de carne roșie [6].

Atrofia gastrică și gastrita cronică s-au asociat cu un număr ridicat de pacienți diagnosticați cu cancer gastric în studiul nostru. Atrofia gastrică a fost documentată în 29,3% din cazuri, iar gastrita cronică în 38,4% din cazuri.

Infecția cu *Helicobacter pylori*, carcinogen de clasa I, este cel mai important factor de risc cunoscut pentru cancerul gastric [17], în special pentru cel cu localizare non-cardială. Acest lucru este observat și de noi, procentul celor infectați cu acest germen care prezintă cancer gastric cu localizare non-cardială este de 65,8% (263 cazuri), spre deosebire de 18,8% (12 cazuri) în cazul cancerului gastric cu localizare cardinală.

Din punct de vedere al manifestărilor clinice se constată o frecvență deosebită în studiul nostru a fenomenelor dispeptice în special inapetența și anorexia (82,1%) și a durerilor epigastrice (52,4%). De asemenea, în special în formele de cancer gastric cu localizare cardinală au fost prezente într-o proporție semnificativă pirozisul (42%) și disfagia (22%). De asemenea greața și vărsăturile au fost semnalate la 43,3% din cazuri. Diagnosticul în stadiul cu determinări secundare hepatice dovedește deficiențe fie de diagnostic, fie ignoranța

pacienților care se prezintă tardiv la medic. Rezultatele sunt în concordanță cu cele din literatură [18, 3].

Analiza datelor endoscopice la pacienții cu cancer gastric arată în 36,9% localizare la nivelul antrului gastric, 24,1% localizare la nivelul micii curburii, 13,8% la nivelul cardiei și 10,1% la nivelul fornixului. Localizări în procent mai redus au fost observate la nivelul micii curburii, 7,1% din cazuri, la nivelul feței anterioare a stomacului 4,1% din cazuri și la nivelul feței posterioare a stomacului, 3,9% din cazuri. Se observă și la noi o creștere a incidenței formelor proximale (cardie, fornix) în concordanță cu tendința actuală din țările vestice [10, 2].

Analiza histopatologică efectuată pe un număr de 464 de carcinoame gastrice selectate într-o perioadă de timp de 5 ani (2008-2012), a indicat predominanța netă a carcinoamelor gastrice de tip intestinal față de cele de tip difuz. În acest sens, prin utilizarea clasificării Laurens (1965) am găsit un număr de 376 (81%) de cazuri de carcinoame gastrice de tip intestinal față de numai 88 (19%) de carcinoame gastrice de tip difuz în concordanță cu studiile recente [13, 16, 14]. Încadrarea cazuisticii în stadiile clinicopatologice (categoriile pTNM) a indicat următoarele incidente: stadiul I (A și B): care a inclus 7,8% dintre carcinoamele de tip intestinal și 17% dintre cele de tip difuz; stadiul II: reprezentat de 33,5% dintre tumorile de tip intestinal și o proporție mai redusă a carcinoamelor de tip difuz (22,6%); stadiul III (A, B și C): care a inclus cea mai mare parte a carcinoamelor de tip intestinal (50,4%) și un număr semnificativ dintre tumorile cu celule inel-cu-pecete (47,2%); stadiul IV: reprezentat de 13,2% dintre tumorile de tip difuz și 8,3% dintre tumorile de tip intestinal.

Studiul imunohistochimic a urmărit expresia TGF- β , TGFBR1, Ki67, EGF, EGFR, c-erbB-2 în raport cu markeri implicați în progresia tumorală, precum și cu unii parametrii histopatologici de prognostic pentru tumorile gastrice. Materialul cercetat a fost reprezentat de 25 de cazuri de carcinoame gastrice. Analiza imunohistochimică a factorilor de creștere în cancerul gastric ajută la o mai bună înțelegere a mecanismelor de carcinogeneză gastrică, fapt care poate contribui la dezvoltarea de terapii moleculare țintite ce pot viza procesele de diferențiere, proliferare și supraviețuire celulară [8].

Rezultatele obținute de către noi arată prezența unei reactivități pentru ambii markeri (TGF- β 1 și TGFBR1) în toate cele trei cazuri de adenocarcinom gastric difuz investigate, dar referitor la imunoreactivitatea pentru TGF- β 1 în cele 25 de adenocarcinoame de tip intestinal studiate am remarcat un pattern heterogen al reacției, cu diferențe de reactivitate dependente și de gradul de diferențiere tumorală, dar și de profunzimea invaziei tumorale [6].

În studiul nostru am găsit faptul că 88% din adenocarcinoamele gastrice de tip intestinal au fost imunoreactive pentru EGF, iar 52% din acestea au prezentat o reactivitate mare [5]. În cazul imunoreactivității la EGF nu am putut stabili decât o singură corelație și anume cu gradul de diferențiere tumorală. Totodată nu am putut evidenția existența vreunei corelații între expresia lui EGF și cea a receptorilor săi c-erbB-2 și EGFR în cazurile de carcinom gastric investigate. Dimpotrivă Czyzewska și colab. au găsit o corelație semnificativă între expresia lui c-erbB-2, EGF, și EGFR la nivelul specimenelor tumorale și a metastazelor limfoganglionare [4].

Potrivit datelor din literatură, rata imunoexpresivității HER2 în cancerul gastric variază în limite foarte largi, astfel în determinările de tip imunohistochimic acestea au fost de 6,8% - 34%, în timp ce investigațiile de tip FISH au raportat variații între 7,1% și 42,6% [9]. În studiul nostru rata imunoexpresiei pentru HER2 a fost de 32%, cu marea majoritate a cazurilor prezentând scorul 2 de imunoreactivitate [5].

Potrivit datelor din literatură, frecvența expresiei EGFR1 și/sau a amplificării genei EGFR1 în cancerul gastric variază între 0% și 35% [1; 11; 12]. În studiul nostru procentajul imunoexpresiei EGFR1 a fost unul mai ridicat, respectiv de 46,4% [5], apropiindu-se de nivelurile raportate de către Czyzewska și colab. (54%) or Yk și colab. (52,2%), [4; 19].

CAPITOLUL VI – ”Concluzii” redă concluziile studiului.

- Factorii de risc cel mai semnificativ corelați cu apariția cancerului gastric în studiul nostru au fost mediul de proveniență (61,9% pacienți din mediul urban legat de modul de alimentație procesată) și dieta bogată în sare (42,2%) și în carne roșie (38,8%). În ceea ce privește leziunile preexistente cel mai frecvent asociate cu cancerul gastric au fost atrofia gastrică (29,3%), gastrita cronică (38,4%) și displazia gastrică plană (21,1%) și cea asociată polipilor gastrici (6,7%).

- Asocierea infecției cu *Helicobacter pylori* a fost semnificativă pentru cazurile de cancer gastric cu localizare non-cardială (65,8%) spre deosebire de cele cu localizare cardinală (18,8%).

- Manifestările clinice cel mai frecvente au fost fenomenele dipeptice, în special inapetența și anorexia (82,1%) și durerile epigastrice (52,4%).

- Cancerul gastric precoce limitat la mucoasă sau submucoasă a fost diagnosticat în studiul nostru în 15,5% din cazuri cu predominanța tipurilor 0I protruziv și 0IIa proeminent superficial. Formele endoscopice cele mai frecvente de cancer gastric avansat (84,5%) sunt tipul I Bormann forma polipoidă (29,5%) și tipul II Bormann forma ulcerativă (29,2%).

- Histopatologic, au predominat carcinoamele gastrice de tip intestinal (Lauren) cu un procent net superior de 81% din cazuri, cu cea mai mare incidență în decada a VII-a de viață (47,6%) și au afectat predominant sexul masculin (65,7%)

- Raportat la gradul de diferențiere, între carcinoamele gastrice de tip intestinal au predominat tumorile slab-diferențiate (49,2%), urmate de cele moderat-diferențiate (în proporție de 39,4%) și bine-diferențiate (11,4% din cazuri)

- Carcinoamele gastrice de tip difuz (Lauren) au constituit 19% din cazuri, cu o ușoară predominanță la sexul masculin (59,1%) și cu cea mai mare incidență în decada a VI-a de viață (42%); spre deosebire de carcinomul de tip intestinal, la acest tip de tumoră s-a observat o creștere a incidenței la sexul feminin (raport masculin /feminin 1.91/1 pentru tipul intestinal vs. 1.44/1 pentru tipul difuz)

- Dintre parametrii morfologici evaluați în carcinomul gastric în studiul nostru, invazia vasculară a fost prezentă în 23,2% dintre carcinoamele de tip intestinal, predominând în formele slab-diferențiate, invazia limfatică a fost mai frecventă în tumorile de tip difuz (55,9% vs. 39%), în timp ce invazia perineurală a predominat în carcinoamele de tip intestinal (37,7%).

- Tumora reziduală a fost identificată mai frecvent în carcinoamele de tip difuz (50% din cazuri), comparativ cu carcinoamele de tip intestinal (27,9%) în care s-a asociat predominant tumorilor slab-diferențiate, implicând predominant limita de rezecție proximală în ambele tipuri de tumori.

- Stadiile clinicopatologice (pTNM) au fost: stadiul I (A și B) care a inclus 7,8% dintre carcinoamele de tip intestinal și 17% dintre cele de tip difuz; stadiul II reprezentat de 33,5% dintre tumorile de tip intestinal și o proporție mai redusă a carcinoamelor de tip difuz (22,6%); stadiul III (A, B și C) care a inclus cea mai mare parte a carcinoamelor de tip intestinal (50,4%) și un număr semnificativ dintre tumorile cu celule inel-cu-pecete (47,2%); stadiul IV reprezentat de 13,2% dintre tumorile de tip difuz și 8,3% dintre tumorile de tip intestinal.

- Prezența unei imunoreactivități pentru TGF-β1 în celulele parietale ale glandelor gastrice normale sugerează implicarea acestui factor în procesele de reglare autocrine și paracrine a funcțiilor mucoasei gastrice normale;

- Reactivitatea leziunilor displazice și metaplazice la TGF-β1 și TGFBR1 sugerează intervenția acestor factori în progresia adenocarcinoamelor gastrice de tip intestinal; imunoreactivitatea celor doi markeri crescând progresiv de la normal la leziunile displazice și metaplazice pentru a atinge maximum de reactivitate în leziunile carcinomatoase;

- În studiul nostru circa 60% din leziunile carcinomatoase au fost pozitive pentru TGF- β 1 și aproximativ 80% pentru TGFBR1, în varianta intestinală patternul imunoreactivității la TGF- β 1 fiind unul heterogen și care a prezentat variații cu gradul de diferențiere și profunzimea invaziei tumorale;
- Expresia tumorală a lui TGF- β 1 a fost semnificativ mai mare în tumorile cu grad scăzut de diferențiere, dar în ceea ce privește imunoreactivitatea pentru TGFBR1 nu am găsit diferențe semnificative în raport cu gradul de diferențiere și profunzimea invaziei tumorale;
- În plus atât pentru TGF- β 1, cât și pentru TGFBR1 nu am găsit corelații semnificative cu statusul invaziei limfoganglionare și nici cu stadiul tumoral. Doar în cazul imunoreactivității pentru Ki67 am putut stabili o corelație cu stadiul tumoral, valorile cele mai mari ai indexului de proliferare obținându-se în stadiile avansate ale carcinoamelor gastrice
- Imunoreactivitatea pentru TGF- β 1 la nivelul fibroblaștilor stromali din formele slab diferențiate de adenocarcinom intestinal și din cazurile de carcinom difuz sugerează implicarea acestora în progresia tumorală;
- Toate aceste rezultate dovedesc rolul prognostic al imunoreactivității la TGF- β 1 în adenocarcinoamele gastrice de tip intestinal;
- În 88% din adenocarcinoamele gastrice intestinale investigate am consemnat reactivitate pentru EGF, 52% prezentând o reacție intensă pentru acest marker.
- Singura corelație semnificativă evidențiată în studiul nostru se referă la dependența reactivității EGF de gradul de diferențiere tumorală;
- Rata expresiei tumorale a lui HER2 pe cazuistica investigată a fost de 32%, marea majoritate a cazurilor fiind încadrate la scorul 2 de imunoreactivitate;
- Procentajul cazurilor cu pozitivitate la markerul EGFR1 pe cazuistica investigată a fost de 46,4%, patternul imunoreacției fiind unul dual, atât citoplasmatic cât și membranar; imunoreactivitatea pentru receptorul EGFR1 nu s-a corelat semnificativ cu nici unul din parametrii morfoclinici investigați;
- Carcinoamele gastrice de tip intestinal investigate s-au asociat cu o supraexpresie a factorului EGF, iar în aproape 50% din cazuri și de supraexpresia receptorilor săi HER2 și EGFR1. Un astfel de imunoprofil sugerează intervenția unor bucle de reglaj autocrin și paracrin factor de creștere EGF- receptorii săi HER2 și EGFR1 în carcinogeneza unor astfel de neoplazii gastrice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

1. Begnami MD, Fukuda E, Fregnani JH, Nonogaki S, Montagnini AL, da Costa WL Jr, Soares FA. Prognostic implications of altered human epidermal growth factor receptors (HERs) in gastric carcinomas: HER2 and HER3 are predictors of poor outcome. *J Clin Oncol.* 2011 Aug 1;29(22):3030-6
2. Berthold B, Guido S, Hartmut S. Endoscopy of the upper GI tract. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2004
3. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2009 Aug;71(2):127-64
4. Czyzewska J, Guzinska-Ustymowicz K, Kemona A. Correlation of c-erbB-2, EGF and EGFR expression with postoperative survival of patients with advanced carcinoma of the stomach. *Folia Histochem Cytobiol.* 2009;47(4):653-61
5. Docea AO, Mitruț P, Cernea D, Georgescu C, Olimid D, Margaritescu C. Immunohistochemical expression of EGF, c-erbB-2 and EGFR in intestinal variant of gastric adenocarcinomas. *Rom J Morphol Embryol.* 2013;54(3):545-54

6. Docea AO, Mitruț P, Grigore D, Pirici D, Călina DC, Gofiță E. Immunohistochemical expression of TGF beta (TGF-β), TGF beta receptor 1 (TGFBFR1), and Ki67 in intestinal variant of gastric adenocarcinomas. *Rom J Morphol Embryol*. 2012;53(3 Suppl):683-92
7. Gonzalez CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Berglund G, Simán H, Nyrén O, Agren A, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Tormo MJ, Quiros JR, Allen N, Bingham S, Day N, Miller A, Nagel G, Boeing H, Overvad K, Tjonneland A, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Peeters P, Numans M, Clavel-Chapelon F, Helen I, Agapitos E, Lund E, Fahey M, Saracci R, Kaaks R, Riboli E. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2003 Nov;107(4):629-34
8. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: A new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008 Sep;19(9):1523-9
9. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Rüschoff J, Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008 Jun;52(7):797–805
10. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 2003 Jan;56(1):1-9
11. Kim MA, Lee HS, Lee HE, Jeon YK, Yang HK, Kim WH. EGFR in gastric carcinomas: prognostic significance of protein overexpression and high gene copy number. *Histopathology*. 2008 May;52(6):738-46
12. Kimura M, Tsuda H, Morita D, Ichikura T, Ogata S, Aida S, Yoshizumi Y, Maehara T, Mochizuki H, Matsubara O. A proposal for diagnostically meaningful criteria to classify increased epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 gene copy numbers in gastric carcinoma, based on correlation of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemical measurements. *Virchows Arch*. 2004 Sep;445(3):255-62
13. Mandong BM, Manasseh AN, Tanko MN, Echejoh GO, Madaki AJ. Epidemiology of gastric cancer in Jos University Teaching Hospital Jos a 20 year review of cases. *Niger J Med*. 2010 Oct-Dec;19(4):451-4
14. Miyahara R, Niwa Y, Matsuura T, Maeda O, Ando T, Ohmiya N, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Prevalence and prognosis of gastric cancer detected by screening in a large Japanese population: data from a single institute over 30 years. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Sep;22(9):1435-42
15. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J Gastrointest Oncol*. 2012 Jul; 4(7): 156–69
16. Park JM, Ryu WS, Kim JH, Park SS, Kim SJ, Kim CS, Mok YJ. Prognostic factors for advanced gastric cancer: stage-stratified analysis of patients who underwent curative resection. *Cancer Res Treat*. 2006 Feb;38(1):13-8
17. Srivastava A, Lauwers GY. Gastric epithelial dysplasia: the Western perspective, *Dig Liver Dis* 2008 Aug; 40(8):641–9
18. Sweed MR, Edmonson D, Cohen SJ. Tumors of the esophagus, gastroesophageal junction, and stomach. *Semin Oncol Nurs*. 2009 Feb;25(1):61-75
19. Yk W, Cf G, T Y, Z C, Xw Z, Xx L, Nl M, Wz Z. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Mol Cytogenet*. 2011 Jun;4(1):14