

Ministério da Saúde



COORDENAÇÃO DE ENSINO

Residência Médica em Patologia

ADRIANNA AMARAL DE ARAGÃO MENDES

**Relatório Parcial da Pesquisa:
EXPRESSÃO DO CDX2 E DAS PROTEÍNAS DE REPARO DO DNA NOS
TUMORES DE CÓLON ESTÁDIO II E III OPERADOS NO INCA DE 2010 A 2013 E
SUA RELAÇÃO COM A SOBREVIDA GLOBAL.**

Rio de Janeiro

2018

ADRIANNA AMARAL DE ARAGÃO MENDES

**Relatório Parcial da Pesquisa:
EXPRESSÃO DO CDX2 E DAS PROTEÍNAS DE REPARO DO DNA NOS
TUMORES DE CÓLON ESTÁDIO II E III OPERADOS NO INCA DE 2010 A 2013 E
SUA RELAÇÃO COM A SOBREVIDA GLOBAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva como requisito parcial para a conclusão do programa de Residência Médica em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ivanir Martins de Oliveira

Rio de Janeiro

2018

ADRIANNA AMARAL DE ARAGÃO MENDES

**Relatório Parcial da Pesquisa:
EXPRESSÃO DO CDX2 E DAS PROTEÍNAS DE REPARO DO DNA NOS
TUMORES DE CÓLON ESTÁDIO II E III OPERADOS NO INCA DE 2010 A 2013 E
SUA RELAÇÃO COM A SOBREVIDA GLOBAL.**

Avaliado e Aprovado por:

Nome da orientadora (Dra. Ivanir Martins de Oliveira)

Ass. _____

Nome da avaliadora (Dra. Ana Lucia Amaral Eisenberg)

Ass. _____

Rio de Janeiro, ____/____/____.

Rio de Janeiro

2018

Dedico este trabalho aos pacientes do INCA, que apesar de terem vivenciado momentos muito difíceis por causa do Câncer de Cólon, foram tão solícitos e disponíveis ao contribuírem para este estudo. Entenderam que aprimorar o conhecimento sobre as doenças em todos os seus aspectos é fundamental para a melhora da sobrevida e da qualidade de vida dos que adoecem. Sem a colaboração dos pacientes não haveria razão, nem meio. Muito obrigada a todos os participantes pela ajuda e pelas palavras de estímulo.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar a minha mais profunda gratidão a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho e que foram fundamentais para o desenvolvimento do mesmo. Destaco aqui em especial a participação de algumas dessas pessoas:

- a) Dra. Ivanir Martins, minha orientadora, que não apenas viabilizou a realização deste trabalho, como também me inspirou a escolher este tema. Muito obrigada pela contribuição no aprendizado desta patologia e na orientação da elaboração desta pesquisa.
- b) Dra. Ana Lucia Eisenberg, que foi de fundamental importância na elaboração do projeto dentro das normas éticas de pesquisa e tem contribuído com valiosas sugestões durante toda a execução do trabalho.
- c) Dr. Luiz Henrique de Lima Araújo e Dr Rodrigo Otávio de Castro Araújo, que foram fundamentais para o início de tudo, o estabelecimento dos objetivos, assim como as estratégias para o desenvolvimento do projeto.
- d) Toda a equipe do arquivo da DIPAT, sempre tão solícitos em procurar lâminas e blocos em tempo hábil, em organizar um grande volume de material de forma tão eficiente.
- e) A equipe administrativa da DIPAT e da sala de Patologia do HC1 e a equipe de transporte, a ajuda de todos foi fundamental durante a revisão dos casos e obtenção dos termos.
- f) Meus colegas, pela motivação e companhia, vocês são os melhores colegas que eu poderia ter.
- g) Minha família, especialmente meu marido e a minha mãe, pela compreensão e ajuda.
- h) Por fim e mais importante, os pacientes. Sem eles este trabalho não existiria.

RESUMO

Mendes, AAA. Expressão do CDX2 e das proteínas de reparo do DNA nos tumores de cólon estágio II e III operados no INCA de 2010 a 2013 e sua relação com a sobrevida global. Rio de Janeiro, 2018.

O câncer colorretal representa 10% das neoplasias malignas diagnosticadas mundialmente. A sobrevida do câncer de cólon depende do estágio da doença e do acesso ao tratamento adequado. A cirurgia é o tratamento padrão para o câncer de cólon localizado. A quimioterapia adjuvante é universalmente recomendada no estágio III e IV. Entretanto, no estágio II, é ainda controversa. Apesar de o estadiamento patológico continuar como melhor determinante de prognóstico e definição de tratamento, observa-se variação estágio-independente considerável, o que pode refletir heterogeneidade da biologia molecular do tumor. Desta forma, definir subpopulações moleculares pode contribuir para estimar o prognóstico do paciente e condutas terapêuticas direcionadas. Este estudo revisou 208 casos de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico de carcinomas de cólon estágio II e III entre 2010 e 2013 no INCA. Os dados epidemiológicos e patológicos encontrados foram dentro do esperado na literatura. A grande maioria dos pacientes tinha mais de 50 anos (89,9%) e as mulheres representaram 55,29% dos casos. O cólon esquerdo foi a topografia mais comum, acometido em 51,44% dos casos. Adenocarcinoma foi o tipo histológico em 92,79% dos casos. Os tumores estágio II no momento da cirurgia representaram 57,69% dos casos e os tumores estágio III, 42,31%. Após a cirurgia, 18,75% apresentaram progressão de doença, detectadas por exame de imagem ou histopatológico e 27,88% foram a óbito. A maioria dos pacientes que evoluíram com doença metastática (61,59%) tinha doença em estágio III no momento da cirurgia. A pesquisa imuno-histoquímica para MSI e CDX2 está em andamento e o resultado será apresentado no relatório final deste estudo.

Palavras-chave: CÂNCER DE CÓLON; INSTABILIDADE DE MICROSSATÉLITES; REPARO DE ERRO DE PAREAMENTO DE DNA; PROTEÍNA CDX2; IMUNO-HISTOQUÍMICA.

ABSTRACT

Mendes, AAA. CDX2 and DNA repair proteins expression in stage II and III colon tumors resected at the National Cancer Institute (Brazil) from 2010 to 2013 and their relationship with overall survival. Rio de Janeiro, 2018.

Colorectal cancer represents 10% of the malignancies diagnosed worldwide. The overall survival of colon cancer depends on the stage of the disease at diagnosis and access to appropriate treatment. Surgery is the standard treatment for localized colon cancer. Adjuvant chemotherapy is universally recommended in stage III and IV. However, for stage II, it is still controversial. Even though pathological staging is still considered the best determinant of prognosis and therapeutic decisions, there is a considerable variation stage-independent, which may reflect the heterogeneity in the molecular biology of each tumor. Therefore, defining molecular subpopulations may contribute to prognosis assessment and therapeutic definition. This study reviewed 208 cases of patients who underwent surgical treatment of stage II and III colon carcinomas between 2010 and 2013 at the National Cancer Institute, Brazil. Epidemiological and pathological data were consistent with the data established within the literature. Most patients were older than 50 years (89.9%) and women accounted for 55.29% of cases. The left colon was the most common topography, being affected in 51.44% of the cases. Adenocarcinoma was the histological type in 92.79% of the cases. Tumors at stage II accounted for 57.69% of the cases at the time of surgery and stage III tumors, 42.31%. After surgery, 18.75% presented disease progression, detected by imaging or histopathological examination, and 27.88% died. Most patients who progressed with metastatic disease (61.59%) had stage III disease at the time of surgery. The immunohistochemical for MSI and CDX2 is ongoing and the result will be presented in the final report of this study.

Keywords: COLON CANCER; MICROSATELLITE INSTABILITY; DNA MISMATCH REPAIR; CDX2 PROTEIN, HUMAN; IMMUNOHISTOCHEMISTRY.

LISTA DE ABREVIATURAS

CDX2 – *caudal type homeobox 2*

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

DIPAT – Divisão de Patologia

DNA – ácido desoxirribonucleico

INCA – Instituto Nacional de Câncer

MLH-1 – mutL homolog 1

MMR – reparo de erro de pareamento (*mismatch repair*)

MSH-2 – MutS protein homolog 2

MSH-6 – MutS homolog 6

MSI – instabilidade de microssatélites (*microsatellite instability*)

PMS-2 – PMS1 homolog 2

SOE – Sem outras especificações

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

β –beta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 METODOLOGIA	5
3 RESULTADOS	7
4 DISCUSSÃO	9
REFERÊNCIAS.....	11

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma de cólon e reto é uma neoplasia epitelial maligna originada no intestino grosso e representa o tipo mais comum de câncer colorretal (HAMILTON et al, 2010). Este representa 10% das neoplasias malignas diagnosticadas mundialmente (STEWART & WILD, 2015), sendo a terceira causa de morte por câncer (IARC/WHO, 2018). É o terceiro câncer mais comum entre os homens e o segundo mais comum entre as mulheres, correspondendo respectivamente a cerca de 746.000 e 614.000 novos casos em 2012 no mundo (FERLAY et al, 2013). Mais da metade dos casos ocorrem em regiões bem desenvolvidas, apresentando padrões geográficos semelhantes entre homens e mulheres, com as maiores incidências na Austrália/Nova Zelândia e as menores na África ocidental (STEWART & WILD, 2015). No Brasil, estima-se 36.360 novos casos em 2018/2019, sendo 17.380 (47,8%) em homens e 18.980 (52,2%) em mulheres, correspondendo a 16,83 casos novos a cada 100 mil homens e 17,90/100.000 mulheres (INCA, 2018).

A sobrevida do câncer de cólon depende do estágio da doença e do acesso ao tratamento adequado (INCA, 2018). A sobrevida em 5 anos de pacientes diagnosticados com doença localizada é de 90%, entretanto apenas 40% dos pacientes são diagnosticados neste estágio nos Estados Unidos (ACS, 2017). A taxa de sobrevida diminui para 71% e 14% respectivamente para pacientes com doença localmente avançada e com disseminação à distância no momento do diagnóstico (ACS, 2018). A maioria dos óbitos por câncer colorretal ocorre nas regiões menos desenvolvidas, apesar da menor incidência nestas regiões (FERLAY et al, 2013; INCA, 2018), refletindo uma baixa sobrevida nas áreas de menor condição socioeconômica, possivelmente onde o acesso ao diagnóstico e tratamento adequado é mais difícil.

A cirurgia é o tratamento padrão para o câncer de cólon localizado ou localmente avançado. É realizada ressecção do segmento colônico e sua drenagem linfática, sendo considerada adequada quando pelo menos 12 linfonodos são dissecados (NELSON et al, 2001; LIBUTTI et al, 2011). O estudo histopatológico da peça resultante da ressecção cirúrgica é de fundamental importância para a caracterização da neoplasia, estadiamento e estabelecimento de outros fatores prognósticos e preditivos.

O estadiamento patológico é o principal fator preditor de prognóstico e é

determinado pela profundidade de invasão (T), número de linfonodos acometidos (N) e presença de metástase à distância (M). No cólon, a invasão da submucosa é necessária para o estágio T1. O tumor é classificado como T2 quando invade a camada muscular própria e como T3 quando invade a subserosa ou tecidos pericólicos não-peritonizados. Quando o tumor ultrapassa a serosa, ele é classificado como T4a e quando infiltra órgãos adjacentes, como T4b (AMIN et al, 2017). A determinação adequada da categoria N requer o exame de pelo menos 12 linfonodos, a fim de evitar que a categoria N0 seja erroneamente atribuída pela insuficiência de linfonodos examinados. O exame de um número menor de linfonodos deve ser considerado como fator de risco em termos de prognóstico e na decisão de terapia adjuvante (LIBUTTI et al, 2011). A categoria patológica M só pode ser determinada em caso de metástase com comprovação histológica.

A necessidade de terapia adjuvante assim como o esquema terapêutico a ser empregado será definido considerando características do paciente e da neoplasia. O principal determinante prognóstico, como já discutido, é o estadiamento patológico (TNM). Os pacientes com doença em estágio I são tratados apenas com cirurgia. A quimioterapia adjuvante é universalmente recomendada no estágio III. Entretanto, no estágio II, é ainda controversa, com vários estudos mostrando pouco ou nenhum benefício quando comparam adjuvância com observação (1999; MAMOUNAS et al, 1999; SCHRAG et al, 2002; BENSON et al, 2004; FIGUEREDO et al, 2004; GILL et al, 2004; GRAY et al, 2007).

Reconhecer os pacientes que possuem alto risco de recorrência é fundamental para selecionar os pacientes para o tratamento adjuvante. Apesar de o estadiamento patológico continuar como melhor determinante de prognóstico e definição de tratamento, observa-se variação estágio-independente considerável, o que pode refletir heterogeneidade da biologia molecular do tumor (DIESTMANN et al, 2015). Desta forma, definir subpopulações moleculares pode contribuir para estimar o prognóstico do paciente e condutas terapêuticas direcionadas.

O estudo de lesões precursoras (adenomas, lesões serrilhadas e displasia de criptas), possibilitou o desenvolvimento de um modelo de tumorigênese (sequência adenoma-carcinoma), no qual as alterações genéticas se acumulam em uma sequência típica e permitem que a lesão agregue características de malignidade a cada etapa do processo de transformação (KIM & LANCE, 1997; SHIVDASANI, 2011). O estado de hipermutabilidade, que resulta no acúmulo destes defeitos genéticos,

pode ser resultante de instabilidade cromossômica ou de instabilidade microssatélite.

A via de instabilidade cromossômica, responsável por cerca de 80% dos casos esporádicos, é caracterizada por aneuploidia, decorrente de defeitos de segregação que geram ganhos e perdas cromossômicas, favorecendo a amplificação de oncogenes e perda de genes supressores tumorais (SHIVDASANI, 2011).

A via de instabilidade microssatélite contribui para 15% dos tumores colônico esporádicos e é resultante da perda de função de uma das proteínas envolvidas no reparo de DNA. Microssatélites são sequências repetidas de nucleotídeos que são propensas a inserção e deleção de bases durante a replicação do DNA. As proteínas de reparo do DNA corrigem esses erros e mantêm os microssatélites na sua composição germinativa. Quando a função de reparo do DNA é perdida, estes erros se acumulam e as sequências de microssatélite apresentam variação de comprimento.

Os tumores MSI, esporádicos ou associados à síndrome de Lynch (HNPCC), são frequentemente no cólon direito, do subtipo mucinoso ou medular, associados a infiltrado linfocítico peri e intratumoral e reação Crohn-símile (HAMILTON et al, 2010). Comparados com os tumores com estabilidade de microssatélites (MSS), tendem a se apresentar em estágios menos avançados, com metástase linfonodais e à distância sendo menos comum (YUAN et al, 2015). Quanto ao prognóstico, parece haver uma diferença entre os tumores em estágio II/III e os em estágio IV. No primeiro caso, os tumores MSI tem um melhor prognóstico, porém nos tumores metastáticos, as evidências sugerem um efeito oposto. Os estudos que relacionam a instabilidade de microssatélites com resposta aos quimioterápicos têm achados conflitantes, que pode ser decorrente de populações mistas e diferentes métodos de pesquisa do status MSI (HAMILTON et al, 2010; RICHMAN, 2015).

Os estudos genéticos têm custos elevados e são pouco disponíveis para a população geral. Desta forma, a imuno-histoquímica, que tem seu uso mais acessível, vem se desenvolvendo para auxiliar na subclassificação molecular dos tumores e na pesquisa de fatores prognósticos e preditivos. A marcação imuno-histoquímica das proteínas de reparo do DNA é bem estabelecida como evidência indireta de MSI, tendo sensibilidade de 92%, equivalente à sensibilidade do teste genético pelo painel de Bethesda (SHIA, 2008). A pesquisa da marcação imuno-histoquímica destas proteínas pode identificar os 15% dos carcinomas colorretais esporádicos que apresentam instabilidade de microssatélites (MSI).

O estudo imuno-histoquímico da proteína CDX-2 ainda não é feito de rotina, entretanto alguns estudos sugerem seu papel na determinação de prognóstico e como fator preditor de resposta à quimioterapia. Dalerba et al. identificou que pacientes com tumores em estágio II e com perda de expressão do fator de transcrição CDX2 podem ter benefício com a quimioterapia adjuvante (2016). Estudos anteriores já haviam relacionado tumores CDX2-negativos com fatores relacionados a pior prognóstico como invasão vascular, mutação BRAF, estágio avançado e menor diferenciação (KAIMAKTCHIEV et al, 2004; LUGLI et al, 2008; BABA et al, 2009; ZLOBEC et al, 2011; BAE et al, 2015).

A proteína CDX-2 é um fator de transcrição que regula o desenvolvimento e oncogênese intestinal, sendo específica para este tipo de epitélio. A frequência da perda de expressão desta proteína é variável, com estudos que mostram de 4,1% a 29% de casos CDX2-negativos pela imuno-histoquímica. Associa-se com o sexo feminino, tumores de alto grau e doença metastática (BABA et al, 2009). Lugli et al encontrou um aumento de frequência na perda do CDX2 nos tumores MSI, o que não foi encontrado no estudo de Baba et al (2008; 2009). Dalerba et al concluíram que tumores de cólon CDX2-negativos tinham maior risco de recorrência e prognóstico pior que os tumores CDX2-positivos, independente do grau histológico. A quimioterapia adjuvante mostrou benefício nos pacientes com tumores CDX2-negativos com doença em estágio II e III (2016).

Revisando o exame histopatológico e utilizando estudo imuno-histoquímico para o CDX2 e marcadores de MSI em *tissue microarray* (TMA), este estudo pretende caracterizar os tumores de cólon estágio patológico II e III tratados cirurgicamente no INCA, quanto a epidemiologia, fatores patológicos e imuno-histoquímicos e correlacionar estes dados com a sobrevida global em 3 anos desta população. Entretanto, como relatório parcial desta pesquisa, serão apresentados neste momento dados epidemiológicos, clínico-radiológicos e histopatológicos dos tumores de cólon estágios II e III operados no INCA. O estudo imuno-histoquímico e a relação deste e dos fatores histopatológicos com a sobrevida serão apresentados no relatório final.

2 METODOLOGIA

A partir dos arquivos da Divisão de Patologia (DIPAT), foram selecionados pacientes com diagnóstico de carcinoma de cólon que foram submetidos a tratamento cirúrgico no INCA de 2010 a 2013. Foram incluídos nesta pesquisa os pacientes portadores de carcinoma de cólon em estágio II e III que possuíam amostra de tumor em parafina suficiente para ser coletado para a confecção do TMA sem prejuízo ao material.

Os pacientes com neoplasia em estágio I ou IV no momento da cirurgia, aqueles com outro tumor primário, aqueles que não possuíam material adequado no arquivo da DIPAT ou os que não assinaram o TCLE, mesmo após o contato, foram excluídos.

De 2010 a 2013, 471 pacientes com diagnóstico de carcinoma de cólon tratados cirurgicamente no INCA. Foram incluídos neste estudo 208 pacientes com carcinoma de cólon em estágio II e III no momento da cirurgia que possuíam material histopatológico no arquivo da DIPAT e que o TCLE foi assinado pelo paciente ou dispensado pelo CEP. (metodologia - não é resultado). Entre os pacientes excluídos, 23 tinham doença em estágio I, 93 tinham doença metastática antes da cirurgia, 99 pacientes tinham outro tumor primário e 46 pacientes não possuíam material no arquivo ou não assinaram o termo mesmo após serem contatados.

Informações demográficas (idade e sexo), dados clínicos e radiológicos [níveis séricos do antígeno carcinoembrionário (CEA) pré e pós-operatório, obstrução, perfuração, realização de quimioterapia, recidiva, metástase, data do óbito e data da última visita] foram obtidas no sistema de prontuário eletrônico da instituição. Em seguida, os casos que tinham material para análise histopatológica no arquivo da Divisão de Patologia do INCA (DIPAT) foram selecionados e revisados, a fim de serem coletadas informações quanto à data da cirurgia, topografia do tumor, tipo e grau histológico, tamanho, infiltração, número de linfonodos dissecados e acometidos, invasão vascular e infiltração perineural.

O material do exame histopatológico que fica arquivado na DIPAT corresponde a representação de peças decorrentes de ressecções cirúrgicas realizadas no INCA, que foram fixadas em solução de formalina tamponada, imediatamente após a cirurgia e subsequentemente examinadas macroscopicamente e clivadas para obtenção de fragmentos representativos da lesão. Os fragmentos foram embebidos em parafina e

incluídos em blocos, que foram cortados para confecção de lâminas. As lâminas são rotineiramente coradas com hematoxilina e eosina (HE) e examinadas microscopicamente. O laudo histopatológico é resultado destas duas etapas de exame, o macroscópico e o microscópico, além das informações clínicas e cirúrgicas apresentadas no pedido médico.

Os dados de prontuário e da revisão histopatológica foram inseridos em uma ficha de coleta de dados eletrônica elaborada pela pesquisa clínica através do programa Openclinica, de onde as informações apresentadas neste relatório foram extraídas.

Como etapa seguinte desta pesquisa, o estudo imuno-histoquímico para CDX2 e marcadores de instabilidade microssatélite será realizado em lâminas obtidas através de *tissue microarray* (TMA), obtidos a partir de áreas representativas dos tumores selecionadas durante a etapa de revisão microscópica dos casos. Os cortes dos blocos de TMA serão corados com o anticorpo monoclonal anti-CDX2, anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 e anti-PMS2 humano em solução previamente validada para diagnóstico. As lâminas produzidas serão avaliadas por um patologista de forma cega quanto à marcação dos anticorpos CDX2, MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2. Os tumores com marcação nuclear forte e difusa para o CDX2 em todas ou em 50% ou mais das células epiteliais malignas, serão interpretadas como CDX2-positivo. Os tumores em que as células epiteliais malignas não apresentarem marcação ou marcarem fracamente menos de 50% das células malignas, serão interpretados como CDX2-negativos. Quanto à avaliação de instabilidade de microssatélite, esta será positiva quando ocorrer a ausência completa de marcação nuclear por um dos anticorpos analisados. Estes dados complementarão as fichas no Openclinica e serão apresentados no relatório final desta pesquisa.

3 RESULTADOS

A grande maioria dos pacientes tinha mais de 50 anos (89,9%), sendo que a idade variou de 26 a 92 anos e 10 pacientes (4,81%) tinham 40 anos ou menos. As mulheres representaram 55,29% dos casos e os homens, 44,71%. O cólon esquerdo foi a topografia mais comum, acometido em 51,44% dos casos, enquanto 17,31% dos casos acometeram o ceco, 25,48% o cólon direito e 4,91% o cólon transversal. Em dois casos (0,96%), a topografia não foi especificada. Quanto ao tipo histológico, 92,79% eram adenocarcinomas SOE, 5,77% eram carcinomas mucinosos e 1,44% eram carcinomas de células em anel de sinete. Dos adenocarcinomas SOE, 1,04% eram bem diferenciados, 93,26% eram moderadamente diferenciados e 5,70% eram pouco diferenciados.

Os tumores estágio II no momento da cirurgia representaram 57,69% dos casos e os tumores estágio III, 42,31%. Linfonodos estavam acometidos em 40,87% dos casos e 1,44% apresentaram implantes tumorais na gordura. Apenas 2,4% dos casos não tinham o número mínimo de linfonodos recomendados para o estadiamento, tendo de 5 a 11 linfonodos dissecados. Destes, um caso tinha um linfonodo acometido, um caso tinha implante e três casos não tinham metástases linfonodais. Quanto à profundidade de invasão (pT), apenas um caso era limitado à parede do cólon, o restante infiltrava gordura pericólica e/ou serosa (87,5%) ou órgãos adjacentes (12,02%). As estruturas infiltradas nestes casos foram intestino delgado, parede abdominal, bexiga, útero, estômago, fígado, apêndice, pâncreas, baço, osso e outro segmento de cólon.

Invasão vascular foi identificada em 29,33% dos tumores, predominando a invasão de vasos capilares, presente em 28,85% dos casos. Apenas um caso apresentou invasão de vaso extramural. A infiltração perineural foi ainda menos frequente, detectada em 21,15% dos casos.

Dos onze tumores que apresentaram obstrução (5,29%), a maioria localizava-se no cólon direito (3 no ceco e 4 no cólon ascendente) e 4 no cólon esquerdo. Nestes casos, os tumores mediam entre 4,6 cm e 8,0 cm e em dois destes, identificava-se também perfuração com infiltração tumoral de estruturas adjacentes (estômago e parede abdominal). O CEA sérico foi dosado em 194 pacientes antes da cirurgia, sendo que destes, 40,21% apresentaram valor acima de 5 ng/ml. Após a cirurgia, 172

pacientes têm dosagens do CEA, sendo que 88,37% destes apresentaram valores iguais ou abaixo de 5 ng/ml.

Quanto à evolução dos pacientes depois da cirurgia, 18,75% apresentaram progressão de doença, detectadas por exame de imagem ou histopatológico e 27,88% foram a óbito. A quimioterapia adjuvante foi iniciada em 48,08% de todos os pacientes, correspondendo a 29,17% (35 casos) dos pacientes com tumores em estágio II e 73,86% (65 casos) dos pacientes em estágio III.

Os pacientes que evoluíram com doença metastática tinham entre 41 e 87 anos de idade (um paciente tinha menos de 50 anos) e 53,85% eram do sexo masculino. A maioria (61,59%) tinha doença em estágio III no momento da cirurgia. Invasão vascular e infiltração perineural foram identificadas em 33,33% e 25,64% destes casos, respectivamente. Os tumores primários localizavam-se no cólon esquerdo em 41,03% dos pacientes, no cólon ascendente em 33,33%, no ceco em 23,08% e no cólon transversal em 2,56%. Apesar do cólon esquerdo ter sido a localização mais comum, a proporção de casos que evoluíram com metástase foi maior entre os tumores de cólon ascendente e ceco, dos quais 25% dos casos de cada uma destas topografias progrediram. Dos 20 pacientes que apresentaram CEA pós-operatório elevado, 45% apresentaram progressão de doença.

Os pacientes que foram a óbito tinham entre 41 e 92 anos, dois pacientes tinham menos de 50 anos de idade, 51,72% eram homens e 48,28% eram mulheres. Dos casos em que os tumores primários eram localizados no ceco e no cólon ascendente, 38,89% e 30,19% foram a óbito, respectivamente. Já entre os pacientes que apresentavam tumor no cólon esquerdo, 22,43% foram a óbito. Metástase foram documentadas em 44,83% dos pacientes antes que foram a óbito.

Os pacientes com carcinoma em células de anel de sinete tinham entre 51 e 64 anos e apresentavam tumor localizado no ceco com linfonodos comprometidos. No momento da cirurgia tinham doença em estágio III e durante o seguimento, dois pacientes evoluíram com carcinomatose peritoneal e um com metástase hepática. Todos os pacientes com tumor deste subtipo histológico foram a óbito.

4 DISCUSSÃO

O câncer colorretal é uma doença que apresenta maior incidência após os 50 anos de idade. Os homens têm um maior risco de desenvolver esta neoplasia, entretanto, como a expectativa de vida das mulheres é maior, existem mais casos em mulheres que em homens, o que está de acordo com o achado deste estudo em que 55,29% dos casos ocorreram em pacientes do sexo feminino. A proporção de casos em pacientes com menos de 50 anos de idade foi de 10,10%, também dentro do previsto na literatura (ACS, 2017).

O Colégio Americano de Patologistas (CAP) publicou um consenso dividindo fatores prognósticos em categorias (COMPTON et al, 2000). A categoria I corresponde a fatores que comprovadamente são importantes para o prognóstico do paciente e devem constar no laudo histopatológico, como: estadiamento (TNM), invasão vascular, tumor residual após cirurgia curativa. Apesar de não ser uma informação histopatológica, o CEA sérico elevado (acima de 5 ng/ml) no pré-operatório faz também parte da categoria I. O tipo e grau histológico são outros itens obrigatórios do laudo histopatológico (KAKAR et al, 2017) e são considerados, respectivamente, categoria IIB e IIA de evidência como fatores prognósticos. Estas categorias representam fatores que mostraram valor prognóstico ou fatores promissores que ainda precisam ser validados por estudos estatisticamente mais robustos.

A grande maioria dos carcinomas colorretais são adenocarcinomas, que correspondem ao tipo usual e representam cerca de 90% dos casos (HAMILTON et al, 2010). O carcinoma mucinoso, o segundo tipo mais comum, correspondendo a 8-10% dos casos, exibe componente de mucina extracelular que representa mais de 50% do tumor. Geralmente se apresenta em estágios mais avançados e é mais comumente relacionado a defeito do reparo de DNA, neste caso, tendem a apresentar um melhor prognóstico. O tumor é classificado como carcinoma em células de anel de sinete quando mais de 50% das células tem morfologia em anel de sinete. Este e o carcinoma de pequenas células foram os tipos histológicos que mostraram ter pior prognóstico independente do estágio. Os demais tipos histológicos (carcinoma medular, carcinoma adenoescamoso, carcinoma serrilhado, etc.) são muito mais raros (REDSTON, 2009; WHO, 2010; LANDAU, 2018).

O adenocarcinoma é graduado em bem, moderadamente ou pouco

diferenciado quando apresenta formação glandular em mais de 95% do tumor, em 50-95% do tumor ou em menos de 50% do tumor (KAKAR et al, 2017). Esta graduação não é consensual para os outros tipos histológicos de carcinoma colorretal, que podem apresentar diferentes valores prognósticos independentemente do grau.

Neste estudo, o adenocarcinoma SOE correspondeu a 92,7% dos casos, 93,26% destes eram moderadamente diferenciados. Carcinoma mucinoso e carcinoma em células em anel de sinete foram encontrados em 5,8% e 1,4%, respectivamente e outros tipos histológicos não foram identificados. Os tumores foram localizados no cólon esquerdo em 51,4% dos casos, o que também corresponde a informações encontradas na literatura.

O carcinoma de células em anel de sinete tende a se apresentar em estágios mais avançados quando comparado ao adenocarcinoma SOE. Lee et al identificaram que o carcinoma de células em anel de sinete tem prognóstico pior, mesmo quando comparados com tumores de mesmo estágio (2015). No presente estudo, os três pacientes com este tipo histológico tinham doença em estágio III, já no momento da cirurgia, com 23, 17 e 2 linfonodos acometidos, em cada um dos casos. Todos os pacientes foram submetidos a quimioterapia adjuvante, evoluíram com progressão de doença e foram a óbito entre 12 a 44 meses depois da cirurgia.

O CEA é o principal marcador sérico do câncer colorretal, entretanto apenas 30% dos tumores não metastáticos terão elevação do CEA (PENG et al, 2013). Há evidência de que o nível sérico pré-operatório maior que 5 ng/dl é um fator de pior prognóstico (COMPTON et al, 2000), o que pode estar relacionado com maior profundidade de invasão e maior número de linfonodos acometidos (WUXIAO et al, 2015).

A pesquisa da expressão imuno-histoquímica da proteína CDX2 e das proteínas de reparo do DNA nos casos deste estudo estão em andamento. O resultado desta pesquisa e sua relação com aspectos morfológicos e prognóstico será apresentado no relatório final do estudo.

REFERÊNCIAS

[Sem autor listado]. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigadors. J Clin Oncol, Alexandria, EUA, v. 17, n. 5, p. 1356-1363, 1999.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Colorectal Cancer Facts & Figures: 2017-2019. American Cancer Society. Atlanta, USA; 2017.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Key Statistics for Colorectal Cancer. American Cancer Society. Atlanta, USA, 2018.

AMIN, M. B. et al [eds]. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.

BABA, Y. et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer. Clin Cancer Res, Philadelphia, EUA, v. 15, p. 4665-73, 2009.

BAE, J. M. et al. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. World J Gastroenterol, Pleasanton, EUA, v. 21, p. 1457-67, 2015.

BENSON, A. B. et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. J Clin Oncol, Alexandria, EUA, v. 22, p. 3408-19, 2004.

COMPTON, C. C. et al. Prognostic Factors in Colorectal Cancer: College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med, Northfield, EUA, v. 124, n. 7, 2000.

DALERBA, P. et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. N Engl J Med, Waltham, EUA, v. 374, p. 211-22, 2016.

DIESTMANN, R.; SALAZAR, R.; TABERNERO, J. Personalizing Colon Cancer Adjuvant Therapy: Selecting Optimal Treatments for Individual Patients. J Clin Oncol, Alexandria, EUA, v. 33, p.1787-96, 2015.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, 2013. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr>, [Acesso em 08 de abril de 2018].

FIGUEREDO, A. et al. Adjuvante therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. J Clin Oncol, Alexandria, EUA, v. 22, n. 16, p. 3395-2407, 2004.

FLEMING, M. et al. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. J Gastrointest Oncol, Hong Kong, v. 3, n. 3, p. 153-173, 2012.

GILL, S. et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? *J Clin Oncol*, Alexandria, EUA, v. 22, n. 10, p. 1797-1806, 2004.

GRAY, R. et al (Quasar Collaborative Group). Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet*, Inglaterra, v. 370, n. 9604, p. 2020-2029, 2007.

HAMILTON S. et al. Carcinoma of the colon and the rectum. In: Bosman F. T., et al. [eds]. *WHO Classification of Tumors of the Digestive System*. 4th ed. Lyon: IARC, p. 134–146, 2010.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2018.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, WHO. *Cancer Fact Sheet*. Lyon, 2018. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> [Acesso em: 08 de abril de 2018].

KAIMAKTCHIEV, V. et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol*; Evans, EUA, v. 17, 1392-9, 2004.

KAKAR, S. et al. *Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Primary Carcinoma of the Colon and Rectum*. College of American Pathologists, Northfield, 2017.

KIM, E. C., LANCE, P. Colorectal polyps and their relationship to cancer. *Gastroenterol Clin North Am*, Maryland Heights, v. 26, p. 1-17, 1997.

LANDAU, M. A. et al. Site-specific differences in colonic adenocarcinoma: KRAS mutations and high tumor budding are more frequent in cecal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, Charlottesville, EUA, v. 42, n. 3, 2018.

LEE, H. S. et al. Clinical features and prognosis of resectable primary colorectal signet-ring cell carcinoma. *Intestinal Research*, Seoul, Coreia, v. 13, n. 4, p. 332-338, 2015.

LIBUTTI, S. K., SLATZ, L. B., WILLET, C. G. Cancer of the Colon. In: *Cancer: Principles & Practice of Oncology* / [edited by] Vicent T. DeVita Jr, Theodore S. Lawrence, Steven A. Rosenberg. – 9th ed. LWW, p. 1084-1126, 2011.

LUGLI, A. et al. Differential diagnostic and functional role of the multi-marker phenotype CDX2/CK20/CK7 in colorectal cancer stratified by mismatch repair status. *Mod Pathol*, Evans, EUA, v. 21, p. 1403-12, 2008.

MAMOUNAS, E. et al. Comparative efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes' B versus Dukes' C colon cancer: results from four National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies (C-01, C-02, C-03, and C-04). *J Clin Oncol*, Alexandria, v. 17, n. 5, p. 1349-1355, 1999.

NELSON, H. et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. J Natl Cancer Inst, Oxford, v. 93, p. 583-96, 2001.

PENG, Y. et al. Elevated preoperative carcinoembryonic antigen (CEA) and Ki67 in predictor of decreased survival in IIA stage colon cancer. World J Surg, Londres, UK, v. 37, p. 208-13, 2013.

REDSTON, M. Epithelial neoplasms of the large intestine. In: ODZE, R. D., GOLDBLUM, J. R. Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas. 2nd edition. Saunders Elsevier. Philadelphia, 2009.

RICHMAN, S. Deficient mismatch repair: Read all about it (Review). International Journal of Oncology, Atenas, Grécia, v. 47, p. 1189-1202, 2015.

SCHRAG, D. et al. Adjuvant chemotherapy se for Medicare beneficiaries with stage II colon cancer. J Clin Oncol, Alexandria, v. 20, n. 19, p. 3999-4005, 2002.

SHIA, J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Journal of Molecular Diagnostics, Rockville, EUA, v. 10, n. 4, p. 293-300, 2008.

SHIVDASANI, R. A. Molecular Biology of Colorectal Cancer. In: Cancer: Principles & Practice of Oncology / [edited by] Vicent T. DeVita Jr, Theodore S. Lawrence, Steven A. Rosenberg. – 9th ed. LWW, p. 1074-1083, 2011.

STEWART, B.; WILD, C.P. (eds.), International Agency for Research on Cancer, WHO. (2014) World Cancer Report 2014. Geneva, 2015. Disponível em: <http://www.thehealthwell.info/node/725845> [Acesso em: 20 de outubro de 2016].

WUXIAO, Z. J. et al. A prognostic model to predict survival in stage III colon cancer patients based on histological grade, preoperative carcinoembryonic antigen level and the neutrophil lymphocyte ratio. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Tehran, Iran, v. 16, n. 2, p. 747-751, 2015.

YUAN, L. et al. Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of colorectal carcinoma based on mismatch repair competency. Int J Clin Exp Med, Madison, EUA, v. 8, n. 11, p. 20988-21000, 2015.

ZLOBEC, I. et al. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. Int J Cancer, Geneva, Suiça, v. 127, p. 367-80, 2010.