

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARSSONI DECONTO ROSSONI

**FATORES PROGNÓSTICOS E RECIDIVA NEOPLÁSICA EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIO I E II (TNM), SUBMETIDOS A
TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA: O PAPEL DO
FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL AVALIADO POR DOIS MÉTODOS
HISTOLÓGICOS DIFERENTES**

CURITIBA

2012

MARSSONI DECONTO ROSSONI

**FATORES PROGNÓSTICOS E RECIDIVA NEOPLÁSICA EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIO I E II (TNM), SUBMETIDOS A
TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA: O PAPEL DO
FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL AVALIADO POR DOIS MÉTODOS
HISTOLÓGICOS DIFERENTES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Clínica Cirúrgica.

Orientador:

Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias

Coorientador:

Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles

CURITIBA

2012

Rossoni, Marssoni Deconto

Fatores prognósticos e recidiva neoplásica em pacientes com adenocarcinoma colorretal estágio I e II (TNM), submetidos a tratamento cirúrgico com intenção curativa: o papel do fenômeno brotamento tumoral avaliado por dois métodos histológicos diferentes / Marssoni Deconto Rossoni. Curitiba, 2012.

77 f.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

1. Invasividade neoplásica. 2. Adenocarcinoma 3. Prognóstico. 4. Neoplasias colorretais.

NLM : WI 520

*À minha querida esposa, Andrea.
Aos maiores presentes que Deus
me confiou, Yasmin, Ísis e Nicolás.
E aos meus amados pais,
Marlene e Argenor.
Com amor, Marssoni.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, Prof. Adjunto do Departamento de Cirurgia do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Vice-Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR e Orientador desta tese, pela disponibilidade imediata e acolhida inicial para o desenvolvimento deste estudo. Minha grande consideração e respeito.

Ao Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles, Prof. Adjunto do Departamento de Patologia Médica do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, Coidealizador e Coorientador deste estudo, pela amizade e paciência, a quem devo a grande oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Prof. Dr. Renato Araújo Bonardi, Chefe do Departamento de Cirurgia do Setor de Ciências da Saúde do Hospital de Clínicas da UFPR, pela acolhida e oportunidade de aprendizado.

Ao Prof. Dr. José Hyppólito da Silva (*in memoriam*), Ex-Professor. Titular da Disciplina de Coloproctologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Ex-Chefe do Serviço de Coloproctologia do Hospital Heliópolis-SP, pela humildade, serenidade, e exemplo de mestre na minha formação em Coloproctologia. Meu respeito e gratidão.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR, pelo estímulo e apoio à formação em nível de pós-graduação nesta Universidade.

Aos técnicos e secretárias do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UFPR, pelo apoio na execução da parte prática desta pesquisa.

À Prof.^a Dr.^a Mônica Nunes Lima, pela elaboração da análise estatística desta tese.

À Sr.^a Antônia Schwinden, pela revisão do texto, e à Sr.^a Léia Rachel Castellar, pela editoração.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu especial agradecimento a todas as pessoas que colaboraram como sujeitos da pesquisa.

Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor... Lembre-se. Se escolher o mundo ficará sem o amor, mas se escolher o amor com ele você conquistará o mundo.

Albert Einstein

RESUMO

Alguns pacientes portadores de adenocarcinoma colorretal, estadio clínico I e II (TNM), apresentam um prognóstico desfavorável, mesmo após a realização da terapia recomendada. Novos fatores estão sendo descritos na literatura como preditores de mau prognóstico, como a presença do fenômeno brotamento tumoral (FBT). O objetivo deste estudo foi estabelecer o desempenho do FBT como fator prognóstico em pacientes portadores de adenocarcinoma colorretal estadio clínico I e II (TNM). Foram avaliados 65 pacientes portadores de adenocarcinoma colorretal, estadio I e II (TNM), submetidos à cirurgia com intenção curativa, no período de 1995 a 2004, e acompanhados por um período de cinco anos. Dados referentes aos parâmetros do estudo anatomopatológico e ao tratamento empregado foram correlacionados com o período de recidiva da doença e com o fenômeno brotamento tumoral (FBT) detectado pelos métodos da hematoxilina-eosina (HE) e imunohistoquímica (IMH). Dos dados avaliados os que apresentaram associação estatisticamente significativa com a recidiva da doença foram a infiltração vascular linfática (seis vezes maior, após dois anos de tratamento; $p=0,01$) e venosa (3,9 vezes e 9,5 vezes maior, após cinco e dois anos, respectivamente; $p<0,001$). Em relação ao FBT, o que se mostrou estatisticamente significativo foi uma maior positividade do FBT (pela técnica HE) nas neoplasias do cólon do que as retais ($p=0,03$) e uma associação com infiltração vascular venosa e linfática (pelo método IMH) com um risco significativo 7,2 vezes e 2,9 vezes maiores, respectivamente ($p=0,02$ e $p=0,01$). O FBT apresentou uma sensibilidade de 35,7% e 71,4%; especificidade de 58,8% e 56,9%; acurácia de 53,8% e 60%; razão de probabilidades positiva de 0,87 e 1,7 e razão de probabilidades negativa de 1,1 e 0,5, pelas técnicas HE e IMH, respectivamente, para o diagnóstico de recidiva de doença. Considerando no modelo de análise discriminante como variável dependente a recidiva, observou-se que a variável selecionada com maior poder de discriminação foi a presença de infiltração vascular venosa com 81,5% de acerto de classificação ($p<0,001$). Apesar do FBT ser um fator preditor de agressividade tumoral, já que sua positividade está fortemente relacionada à infiltração vascular linfática e venosa por células tumorais, neste estudo, ao avaliar o FBT isoladamente, ele não foi capaz de prever o risco de recidiva. São necessários outros estudos, com amostras maiores de pacientes, para melhor determinar o significado prognóstico deste parâmetro anatomopatológico.

Palavras-chave: Invasividade neoplásica. Adenocarcinoma. Prognóstico. Neoplasias colorretais.

ABSTRACT

Some patients at stage I and II (TNM) of colorectal adenocarcinoma feature an unfavorable prognosis, even after the recommended therapy. Certain new factors are being reported in the literature as predictors of poor prognosis, as the presence of tumor budding phenomenon (TBP). The objective of this study was to establish the performance of TBP as prognostic factor in patients at I and II (TNM) clinical stage of colorectal adenocarcinoma. We evaluated 65 patients with colorectal adenocarcinoma, stage I and II (TNM), submitted to colorectal resection with curative intention to treat between 1995 and 2004, and with a follow-up period of five years. Pathological parameters and treatment data, were correlated to the recurrence disease status and tumor budding phenomenon (TBP) detected by hematoxylin-eosin (HE) or immuno-histochemistry (IMH) methods. Pathological parameters with statistically significant association with recurrence of the disease were lymphatic infiltration (six times larger, after two years of treatment; $p=0.01$) and venous infiltration (3.9 times and 9.5 times higher after five and two years of treatment, respectively; $p<0.001$). There was a greater presence of TBP (by the technique HE) in colon neoplasms than rectal ($p=0.03$) and an association with venous and lymphatic vascular infiltration (by IMH method) with a significant risk 7.2 times and 2.9 times greater, respectively ($p=0.02$ and $p=0.01$). Concerning the ability to predict recurrence TBP presented sensitivity 35.7% and 71.4%; specificity 58.8% and 56.9%; accuracy of 53.8% and 60%; positive likelihood 0.87 and 1.1 and negative likelihood 1.7 and 0.5, using the techniques HE and IMH, respectively. When recurrence was considered as dependent variable in a discriminant analysis model, the parameter with greater power of discrimination was the presence of venous vascular infiltration with 81.5% hit rating ($p<0.001$). Despite TBP is considered predictor of tumor aggressiveness, since your positivity is strongly related to venous and lymphatic vascular infiltration by tumor cells, in this study, TBP alone was unable to predict the risk of recurrence. Others studies with larger samples of patients are necessary to better define the prognostic value of this pathologic parameter.

Keyword: Neoplastic invasiveness. Adenocarcinoma. Prognosis. Colorectal neoplasms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - FBT AVALIADO PELOS MÉTODOS HE E IMH.....	36
GRÁFICO 1 - INFILTRAÇÃO VENOSA x FBT.....	47
GRÁFICO 2 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA x FBT.....	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TRATAMENTO ADJUVANTE/NEOADJUVANTE X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	37
TABELA 2 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO DO TUMOR X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	37
TABELA 3 - INFILTRAÇÃO LINFÁTICA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	38
TABELA 4 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	39
TABELA 5 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	39
TABELA 6 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA	40
TABELA 7 - FBT (HE) X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA.....	40
TABELA 8 - FBT (IMH) X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA.....	41
TABELA 9 - LOCALIZAÇÃO DO TUMOR X FBT (HE).....	41
TABELA 10 - LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA X FBT (HE)	42
TABELA 11 - TIPO HISTOLÓGICO X FBT (HE).....	42
TABELA 12 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO X FBT (HE)	43
TABELA 13 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X FBT (HE)	43
TABELA 14 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA X FBT (HE).....	43
TABELA 15 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X FBT (HE)	44
TABELA 16 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X FBT (HE).....	44
TABELA 17 - LOCALIZAÇÃO DO TUMOR X FBT (IMH).....	45
TABELA 18 - LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA X FBT (IMH).....	45
TABELA 19 - TIPO HISTOLÓGICO X FBT (IMH)	45
TABELA 20 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO DO TUMOR X FBT (IMH)	46
TABELA 21 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X FBT (IMH).....	46
TABELA 22 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA X FBT (IMH)	47
TABELA 23 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X FBT (IMH).....	48
TABELA 24 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X FBT (IMH)	49
TABELA 25 - FBT (HE) X RECIDIVA DA DOENÇA.....	49

TABELA 26 - FBT (IMH) X RECIDIVA DA DOENÇA	50
TABELA 27 - CONCORDÂNCIA ENTRE FBT (HE) E FBT (IMH).....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5 FU	- 5 Fluorouracil
APC	- Adenomatous Polyposis Coli
AR	- Alto Risco
BR	- Baixo Risco
CCR	- Câncer Colorretal
CEA	- Antígeno Carcinoembrionário
CK	- Citoqueratina
DCC	- Deleted in Colorectal Cancer
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
FBT	- Fenômeno Brotamento Tumoral
HC	- Hospital de Clínicas
HE	- Hematoxilina-eosina
HNPCC	- Câncer Colorretal Não Polipoide Hereditário
IMH	- Imuno-histoquímica
INCA	- Instituto Nacional de Combate ao Câncer
LV	- Leucovorina
NOS	- Sem Outra Especificação da OMS
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PAF	- Polipose Adenomatosa Familiar
QT	- Quimioterapia
RP	- Razão de probabilidades
RT	- Radioterapia
RX	- Raio X
TNM	- T: Tumor; N: Linfonodos regionais; M: Metástase à distância
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
UICC	- União Internacional de Combate ao Câncer
VPN	- Valor Preditivo Negativo
VPP	- Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	ALTERAÇÕES MOLECULARES NA SEQUÊNCIA ADENOMA-CÂNCER	22
2.2	USO DA DETERMINAÇÃO DO FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER COLORRETAL.....	23
3	CASUÍSTICA E MÉTODO	27
3.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NA CASUÍSTICA.....	27
3.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO NA CASUÍSTICA.....	27
3.3	FATORES ESTUDADOS.....	28
3.4	METODOLOGIAS NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA.....	30
3.5	ANÁLISE DO FENÔMENO DE BROTAMENTO TUMORAL (FBT) PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE)	31
3.6	ANÁLISE DO FBT PELA TÉCNICA DA IMH COM O ANTICORPO MONOCLONAL AE1/AE3.....	31
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
4	RESULTADOS	33
4.1	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA ESTUDADA	33
4.1.1	Idade e gênero.....	33
4.1.2	Localização do tumor primário.....	33
4.1.3	Tratamento cirúrgico empregado.....	33
4.1.4	Incidência e localização da recidiva tumoral.....	34
4.1.5	Tratamento adjuvante/neoadjuvante empregado	34
4.1.6	Período de recidiva da doença	34
4.1.7	Tipo histológico tumoral.....	34
4.1.8	Grau de diferenciação histológica do tumor.....	35
4.1.9	Infiltração vascular linfática e venosa	35
4.1.10	Profundidade da invasão tumoral	35
4.1.11	Estadiamento TNM da doença	35
4.1.12	Fenômeno brotamento tumoral pelos método da HE e IMH.....	35

4.2	INFLUÊNCIA DOS FATORES ESTUDADOS SOBRE A RECIDIVA DA DOENÇA	36
4.2.1	Tratamento adjuvante/neoadjuvante	36
4.2.2	Grau de diferenciação histológica do tumor.....	37
4.2.3	Infiltração vascular linfática.....	38
4.2.4	Infiltração vascular venosa	38
4.2.5	Profundidade da invasão tumoral	39
4.2.6	Estadiamento da doença	39
4.2.7	Fenômeno brotamento tumoral avaliado pelo método da HE.....	40
4.2.8	Fenômeno brotamento tumoral avaliado pelo método da IMH	41
4.3	PRESENÇA DO FBT PESQUISADO POR HE SOBRE OS FATORES ESTUDADOS.....	41
4.3.1	Localização do tumor primário.....	41
4.3.2	Localização da recidiva tumoral.....	42
4.3.3	Tipo histológico tumoral	42
4.3.4	Grau de diferenciação histológica do tumor.....	42
4.3.5	Infiltração vascular venosa	43
4.3.6	Infiltração vascular linfática.....	43
4.3.7	Profundidade da invasão tumoral	44
4.3.8	Estadiamento da doença	44
4.4	PRESENÇA DO FBT PESQUISADO POR IMH SOBRE OS FATORES ESTUDADOS.....	44
4.4.1	Localização do tumor primário.....	44
4.4.2	Localização da recidiva tumoral.....	45
4.4.3	Tipo histológico tumoral	45
4.4.4	Grau de diferenciação histológica do tumor.....	46
4.4.5	Infiltração vascular venosa	46
4.4.6	Infiltração vascular linfática.....	47
4.4.7	Profundidade da invasão tumoral	48
4.4.8	Estadiamento da doença	48
4.5	COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO ENTRE A PESQUISA DO FBT POR HE E IMH PARA PRESENÇA DE RECIDIVA	49
4.6	CONCORDÂNCIA ENTRE O FBT, DETECTADO PELO MÉTODO HE E IMH	50

4.7 ESTIMATIVA DE VARIÁVEIS PREDITORAS PARA RECIDIVA DA DOENÇA.....	50
5 DISCUSSÃO.....	51
6 CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICE 1 - PROTOCOLO DE PESQUISA	65
APÊNDICE 2 - PLANILHA DE DADOS.....	67
ANEXO 1 - SISTEMA DE ESTADIAMENTO TNM (7.ª EDIÇÃO DA UICC) PARA TUMORES COLORRETAIS	70
ANEXO 2 - DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR.....	71
ANEXO 3 - CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DO TUMOR PELA OMS	77

1 INTRODUÇÃO

Nas populações ocidentais o câncer colorretal é atualmente a quarta forma de câncer mais comum, ficando atrás apenas dos cânceres de pele, pulmão e mama, e a segunda causa de morte, superado apenas pelo câncer de pulmão (COLORECTAL CANCER, 2011). O risco de uma pessoa ter câncer colorretal aumenta com a idade, sendo que ter 50 anos ou mais é um fator de risco em si. Outros fatores que aumentam as probabilidades de uma pessoa ter a doença incluem: história familiar de câncer colorretal (STRATE; SYNGAL, 2005), presença de pólipos no intestino grosso, histórico de câncer de ovário, mama ou útero, dieta rica em carne vermelha e gorduras, e baixa em frutas frescas ou vegetais (CHAO *et al.*, 2005), o sedentarismo e a doença inflamatória intestinal. Embora a etiologia do câncer colorretal não esteja completamente entendida, acredita-se que fatores genéticos e dietéticos são responsáveis por muitos casos desta doença (WINAWER; SHIKE, 1992; CHAO *et al.*, 2005; STRATE; SYNGAL, 2005).

Nos últimos sessenta anos, a sobrevida média, em cinco anos, dos pacientes tratados por câncer colorretal permanece em torno de 50%, e entre os fatores que certamente colabora para essa expectativa prognóstica estão os tumores de comportamento biologicamente agressivo, que produzem metástases precoces ou recidivas intratáveis, mesmo quando diagnosticados ainda pequenos (GABBERT, 1985; GABBERT *et al.*, 1985; GREENLEE *et al.*, 2001; KANAZAWA *et al.*, 2008).

Embora vários esforços tenham sido feitos para identificar os fatores prognósticos do câncer colorretal, estes ainda são motivos de críticas, visto que alguns pacientes com mesmo estadiamento têm prognósticos evolutivos diferentes quando comparados entre si. Esta ambiguidade pode ser ao menos em parte explicada pelo fato que sistemas padronizados de estadiamento patológicos – como é o caso da classificação original de Duke's e mais recentemente o sistema de Classificação de Tumores Malignos - TNM (T-Tumor primário, N- Linfonodos regionais, M- Metástase à distância) (Anexo 1), proposta pela União Internacional de Combate ao Câncer (UICC), para o estadiamento do câncer colorretal – consideram como parâmetros a profundidade de invasão tumoral, o envolvimento tumoral dos linfonodos e metástases à distância como ferramentas básicas para predizer a sobrevida do paciente após uma cirurgia potencialmente curativa (OKUYAMA; OYA;

YAMAGUCHI, 2002). Porém estes parâmetros podem não refletir o real comportamento biológico individual do tecido cancerígeno, o qual pode estar correlacionado com a agressividade tumoral e o aumento do risco de recidiva da doença (CHOI *et al.*, 2007).

Está bem estabelecido que o comprometimento linfonodal, e a presença de invasão vascular linfática e venosa pelo tumor são fatores prognósticos importantes (ZLOBEC; LUGLI, 2008), porém há outros fatores referidos na literatura. Como uma das potenciais variáveis biológicas prognósticas, alguns estudos têm apontado que a presença de um grupo de células indiferenciadas além da região periférica limítrofe de invasão tumoral, fenômeno denominado brotamento tumoral, poderia se valorizado como fator prognóstico relevante (GABBERT, 1985; HASE *et al.*, 1993; OKUYAMA; OYA; ISHIKAWA, 2003; CHOI *et al.*, 2007). Trata-se de característica microscópica que representa o primeiro sinal de invasão tumoral (GABBERT, 1985; GABBERT *et al.*, 1985). Sua significância clínica está depositada na simplicidade de detecção por meio de técnicas laboratoriais reprodutíveis e com baixo custo, como a Hematoxilina-eosina (UENO *et al.*, 2002; OKUYAMA, OYA; ISHIKAWA, 2003) ou método Imuno-histoquímico convencional. A presença do fenômeno de brotamento tumoral, pela sua potencial associação à agressividade do câncer colorretal, poderia contribuir para o incremento de qualidade do sistema de estadiamento patológico desta neoplasia (TATEISHI *et al.*, 2010).

1.1 OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivos geral e específicos:

1.1.1 Objetivo geral:

- Estabelecer, em uma série de casos de câncer colorretal com estágio clínico I e II, uma análise comparativa entre os fatores clinicopatológicos selecionados e a ocorrência de recidiva pós-tratamento cirúrgico com intenção curativa.

1.1.2 Objetivos específicos:

- Avaliar o desempenho do Fenômeno Brotamento Tumoral como fator patológico na caracterização prognóstica da neoplasia;
- Comparar o desempenho do Fenômeno de Brotamento Tumoral como um marcador patológico efetivo válido, quando pesquisado por duas técnicas diferentes de anatomia patológica: coloração de Hematoxilina-Eosina e Imuno-Histoquímica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O câncer colorretal (CCR) ocupa o segundo lugar em mortalidade nos EUA e no Brasil, perdendo apenas para o câncer de pulmão. Números do Instituto Nacional de Saúde dos EUA mostraram, no ano de 2011, 141.210 novos casos e 49.380 óbitos da doença (COLORECTAL CANCER, 2011). Para o Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), esperam-se 30.140 novos casos de câncer do cólon e reto no ano de 2012, com uma incidência ligeiramente maior nas mulheres, com um risco estimado de 15 casos novos a cada 100 mil homens e 16 a cada 100 mil mulheres (CÂNCER COLORRETAL, 2011). A sobrevida média global em cinco anos se encontra em torno de 55% nos países desenvolvidos e 40% nos países em desenvolvimento; porém, quando o CCR é diagnosticado nos estádios clínicos iniciais, tal sobrevida pode ser superior a 90% (CÂNCER COLORRETAL, 2011).

Sintomas clínicos, quando presentes, sugerem doença em estadios avançados, muitas vezes indicando impossibilidade de tratamento com carácter curativo. Aproximadamente 95% dos tumores colorretais são adenocarcinomas, e que têm como lesão precursora o pólipó adenomatoso (COLORECTAL CANCER, 2011). É neste contexto que a colonoscopia se insere como a verdadeira profilaxia do câncer colorretal (WINAWER *et al.*, 1993).

As últimas quatro décadas revolucionaram o conhecimento da biologia tumoral do câncer colorretal com importantes descobertas dentro do campo da biologia molecular. Os eventos genéticos e bioquímicos que determinam o processo de transformação celular do epitélio colônico normal em pólipó adenomatoso e, subsequentemente, em câncer invasor estão, pouco a pouco, sendo descobertos e caracterizados. Ocorrem alterações genéticas sobre o epitélio normal ou adenomatoso, que não são detectadas pelos mecanismos da defesa celular, que, por sua vez, também podem ser produto de anomalias genéticas (MORSON, 1978; WINAWER *et al.*, 1993; AHNEN, 1999).

Está bem estabelecida a existência de alterações nos proto-oncogenes, sendo que oncogene é a denominação dada aos genes relacionados com o surgimento de tumores, sejam malignos ou benígnos. As versões de função normal de oncogenes, os proto-oncogenes, são genes responsáveis pelo controle da divisão e diferenciação celular, e da tradução proteica. Após sofrer uma mutação genética somática, por

exemplo, uma translocação, ampliação ou mutação pontual um proto-oncogene torna-se eventualmente um oncogene. Essas alterações também podem ocorrer nos genes supressores de tumor, como o p53, e nos reparadores de DNA (ácido desoxirribonucleico), além de outras alterações (ROBLES; HARRIS, 2010). Essas mesmas modificações também acabam influenciando nos mecanismos de controle de proliferação e morte celular. Tal conjunto de fenômenos celulares é responsável pela perda da capacidade de crescimento e diferenciação normais, o que leva à transformação neoplásica. Os mecanismos que levam à transformação genética geram, por sua vez, proteínas, que podem atuar como marcadores biológicos da atividade celular (MEYSKENS, 1998). Tal fato pode ser observado com o uso do Ki-67, que é um indicador de replicação celular e está associado a um prognóstico ruim quando detectado em valores elevados no tecido tumoral (ALLEGRA *et al.*, 2003). Também é o caso do antígeno carcinoembrionário, o Ca 19-9 e o p53 (GALIZIA *et al.*, 2004).

Mesmo com os avanços no conhecimento da gênese dos tumores colorretais, ainda é alta a incidência de mortes que esse tipo de câncer causa, gerando grande impacto nos programas de saúde pública (CÂNCER COLORRETAL, 2011).

Há muitos fatores ambientais, dietéticos e genéticos associados ao maior risco de câncer. Eles compõem uma “epidemiologia molecular” e, muito provavelmente, são a causa de uma ou mais mutações ocorridas no início do processo (CHAO *et al.*, 2005; STRATE; SYNGAL, 2005). Tais eventos irão influenciar as características histológicas, biológicas e bioquímicas da progressão maligna. Conseqüentemente, também irão interferir no comportamento e na forma de apresentação clínica de cada tumor, incluindo-se a qualidade da resposta às terapias conhecidas e a expectativa prognóstica. Isso denota a importância da compreensão adequada das alterações genéticas que, certamente, definem o comportamento esperado da doença de modo mais adequado do que o estadiamento histopatológico convencional (VOGELSTEIN *et al.*, 1988; STRATE; SYNGAL, 2005).

Cada tumor tem especificidades genéticas que, em parte, determinam as alterações moleculares e o seu fenótipo maligno, bem como diferenças de evolução clínica observadas entre pacientes no mesmo estadiamento clínico da doença (VOGELSTEIN *et al.*, 1988; FEARON; VOGELSTEIN, 1990). Tais características criam possibilidades específicas de intervenções terapêuticas embasadas na via de transformação maligna dos colonócitos, vigentes ou operantes, o que pode diminuir o impacto negativo da apresentação da doença (HAWK; LIPPMAN, 2000). Essa diminuição pode se dar pela

quimioprevenção, pela quimioterapia, pela terapia gênica ou pela imuno-modulação. A intervenção terapêutica pode se dar também pela cirurgia ou associada à radioterapia e quimioterapia adjuvante.

Dentre as formas de tratamento, a cirurgia com linfadenectomia é a principal forma de tratamento, sendo exclusiva no estadiamento clínico I e II (TNM), salvo em pacientes que, presumivelmente, têm doença remanescente, pequena ou suficiente para ser detectada e, portanto, com alto risco de recidiva local ou risco para apresentar micrometástases linfonodais, como é o caso dos tumores perfurados ou obstruídos, com células em anel de sinete, aneuploides, pobremente diferenciados, com invasão linfovascular, venovascular ou perineural, casos em que se deve considerar a possibilidade de quimioterapia (QT) adjuvante. A quimioterapia adjuvante é utilizada para eliminar qualquer célula cancerosa residual, neste caso, o paciente recebe a quimioterapia logo após o tumor primário ser retirado pela cirurgia, por um período de seis meses, o que é utilizada para aumentar as taxas de cura, diminuindo as probabilidades de recidiva local ou de metástases (COUTINHO; LIMA; BUZAID, 2011).

O Fluorouracil (5-FU) tem sido a principal medicação usada na quimioterapia para o câncer de intestino. Esta medicação pode ser administrada na veia, tanto em bolus (injeção rápida) como em infusão prolongada. Quimioterapia com 5-FU é usada em combinação com uma medicação chamada Leucovorin (também conhecida como leucovorin cálcico ou ácido folínico), que aumenta a atividade do 5-FU nas células cancerosas. Essa combinação tem sido usada como quimioterapia adjuvante para o câncer de intestino e como tratamento para doença avançada ou metastática. Um regime adjuvante comumente usado atualmente envolve a combinação das três seguintes drogas: de 5-Fluorouracil (5-FU), Leucovorina (LV, ácido folínico) e Oxaliplatina. Essa combinação pode ser usada como tratamento inicial do câncer de intestino metastático ou usada para doença que progrediu após a terapia com 5-FU mais Leucovorin (GILL *et al.*, 2004; PORSCHE *et al.*, 2007; COUTINHO; LIMA; BUZAID, 2011).

A radioterapia (RT) é uma opção de tratamento frequentemente mais utilizada no câncer do reto do que no cólon. No câncer do reto, a irradiação na pelve pode ser usada antes da cirurgia para diminuir o tamanho do tumor; após a cirurgia, para prevenir a recidiva local ou, ainda, no tratamento da recidiva pélvica. Diferentemente da quimioterapia sistêmica, a radioterapia não consegue controlar as recidivas do câncer em locais fora da área irradiada. A radioterapia não é utilizada frequentemente

no tratamento do câncer do cólon, porque pode causar enterite radioativa, pela dificuldade em focar seus raios em partes específicas do cólon por causa da perístalse intestinal. A radioterapia é mais utilizada no câncer do reto médio e inferior. A radioterapia pode ser associada à quimioterapia, quando se tratar de tumores do reto médio e inferior, com o objetivo de aumentar a eficiência da radiação, por meio do aumento da sensibilidade à radioterapia nas células do tumor, se presentes. O esquema neoadjuvante é baseado na radioterapia antes da cirurgia, indicado em pacientes com tumores que se estendem além do reto ou que invadiram nódulos linfáticos regionais, para diminuir o risco de recorrência após a cirurgia ou para permitir uma cirurgia de carácter menos invasivo (CAPIRCI *et al.*, 2006; ADES, 2009; COUTINHO; LIMA; BUZAID, 2011).

As alterações individuais podem também informar quais são os grupos de pacientes aptos a determinadas respostas terapêuticas, baseando-se no fenótipo tumoral, estratificando em subgrupos de pacientes respondedores ou não respondedores para determinado grupo de drogas antineoplásicas (HOOPS; TRABER, 1997; TRABER, 1997; CHUN; WAINBERG, 2009).

Fearon e Vogelstein (1990) e Vogelstein *et al.* (1988), ao descreverem o modelo de alterações genéticas em etapas para o câncer colorretal, abriram um vasto campo de pesquisa relacionado à gênese tumoral.

O ciclo de vida, constituído por formação celular, diferenciação, cumprimento das funções epiteliais específicas, morte e descamação é determinado pelo DNA. É ele que define a produção de uma série de proteínas específicas, responsáveis pelo metabolismo celular e sua inter-relação com outras células e estruturas, garantindo o ciclo proliferativo ou suspendendo-o, caso sejam detectadas anormalidades. Sendo assim, as várias alterações genéticas podem comprometer a produção e integridade das proteínas envolvidas, interrompendo o ciclo celular e produzindo alterações proliferativas que resultariam no aparecimento do câncer colorretal (POLYAK *et al.*, 1996).

Classicamente, a neoplasia tem sido considerada como sendo o produto de um distúrbio na regulação da proliferação celular, no entanto, sabe-se que a morte celular programada, ou apoptose, também pode estar desregulada (KIKUCHI; DINJENS; BOSMAN, 1997). A carcinogênese do cólon segue vários estágios, iniciando com mutações no epitélio normal que envolvem diferentes passos evolutivos, culminando numa lesão clinicamente reconhecida como neoplásica. A constatação de que existe evolução biológica de uma célula alterada para a lesão pré-maligna e um câncer

estabelecido levou a uma série de esforços dos pesquisadores, no sentido de esclarecer os fenômenos celulares e moleculares e estabelecer marcadores biológicos que possam auxiliar na determinação do diagnóstico precoce, do prognóstico e da melhor escolha terapêutica (VOGELSTEIN *et al.*, 1988; FEARON; VOGELSTEIN, 1990; HOOPS; TRABER, 1997).

2.1 ALTERAÇÕES MOLECULARES NA SEQUÊNCIA ADENOMA-CÂNCER

O câncer, em geral, pode ser considerado uma doença genética adquirida, já que surge a partir da aquisição de alterações genéticas que modificam o fenótipo celular (VOGELSTEIN *et al.*, 1988; FEARON; VOGELSTEIN, 1990; HOOPS; TRABER, 1997; TRABER, 1997). A afirmação continua sendo válida, mesmo que uma percentagem significativa de pacientes seja portadora de alterações genéticas herdadas, como é o caso da polipose adenomatosa familiar (PAF) e do câncer colorretal hereditário não polipoide (HNPCC). Uma observação importante no estudo dos genes envolvidos nas alterações hereditárias é que os mesmos genes estão envolvidos nos tumores esporádicos. Muitos deles, que participam da patogênese molecular do câncer colorretal, foram descobertos graças à análise de tumores colônicos, usando-se genes encontrados em outros tumores ou síndromes familiares (HOOPS; TRABER, 1997).

A pesquisa dos genes que sofrem mutações no câncer colorretal deu-se por três abordagens principais. Inicialmente, foram estudados indivíduos aparentados para se definir os genes responsáveis por PAF e HNPCC. A seguir, foram feitos estudos citogenéticos de pólipos e cânceres, demonstrando-se que existiam deleções cromossômicas específicas encontradas em muitos tumores, cujos genes estariam envolvidos no processo neoplásico. Por último, foram descobertos genes envolvidos na origem molecular do câncer colorretal, usando-se material genético de outros tumores ou síndromes familiares conhecidos (STRATE; SYNGAL, 2005).

Há várias categorias às quais pertencem os genes implicados no aparecimento das neoplasias colorretais: os proto-oncogenes, os genes supressores de tumor, os reparadores do DNA (*DNA mismatch repair genes*) e uma categoria que pode ser chamada de “genes modificadores” (VOGELSTEIN *et al.*, 1988; NAGAI *et al.*, 1992). Dentre os inúmeros envolvidos no ciclo de proliferação epitelial e que podem estar

relacionadas à carcinogênese intestinal, há pelo menos quatro genes, com suas proteínas específicas, que têm sido extensivamente estudados: APC (*Adenomatous polyposis coli*), DCC (*Deleted in Colorectal Cancer*), p53 e K-ras, todos, aparentemente, com potencial clínico importante. O APC, p53 e DCC são supressores do tumor, sendo que os dois primeiros têm ação sobre a regulação ou o bloqueio celular, já o DCC é responsável pela adesão celular e o K-ras é um controlador da proliferação celular. Os reparadores do DNA ou gens de reparo têm ação de reparar os erros de replicação do DNA, sendo que a perda de função leva à instabilidade de microssatélites (STRATE; SYNGAL, 2005; ZLOBEC *et al.*, 2008).

Como exemplos de aplicabilidade na identificação destes, podemos citar os pacientes com mutação do K-ras, que habitualmente não respondem a certas drogas quimioterápicas, mais especificamente àquelas que inibem o receptor de fator de crescimento epidermal nas células cancerosas; porém, mesmo que o gene K-ras seja normal, não há nenhuma garantia que tais drogas irão beneficiar o paciente (CHUN; WAINBERG, 2009).

2.2 USO DA DETERMINAÇÃO DO FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER COLORRETAL

Em se tratando de câncer colorretal, as decisões tomadas a favor ou contra as ressecções limitadas ou extensas, e a terapia adjuvante, são amplamente baseadas nos achados histopatológicos (PRALL, 2007; PRALL; OSTWALD; LINNEBACHER, 2009). Carcinomas colorretais com invasão limitada podem ser achados em adenomas colorretais que são removidos por polipectomia ou mucosectomia. Em ambas, a dificuldade ainda persiste no não reconhecimento da metástase linfonodal *in situ*. Alternativamente, se a ressecção cirúrgica colorretal com linfadenectomia é indicada, ainda persiste a dúvida da indicação da quimioterapia adjuvante ou da quimiorradioterapia. A cirurgia ainda é a melhor opção de tratamento curativo dos tumores colorretais restritos à parede do cólon, porém, alguns desses pacientes, que receberam tratamento cirúrgico com intenção curativa, acabam evoluindo com recorrência local ou a distância da doença (PARK *et al.*, 2005).

Independente da margem de ressecção livre de neoplasia pós-polipectomia ou mucosetomia endoscópica, até 10% dos pacientes com adenocarcinoma colorretal precoce invasivo, ou seja, que acomete a submucosa (T1), podem apresentar metástases para linfonodos regionais (GRECO; MAGRO, 2007; YASUDA *et al.*, 2007; ISHIKAWA *et al.*, 2008; TATEISHI *et al.*, 2010). Tem sido demonstrado por estudos histopatológicos, com o objetivo de minimizar o risco do não reconhecimento de metástases linfonodais, que pacientes com carcinoma invadindo profundamente a submucosa, ou carcinoma pouco diferenciado, devem ser encaminhados para uma cirurgia completa com linfadenectomia (PRALL, 2007).

Atualmente o estadiamento da neoplasia colorretal é baseado no estadiamento clinicopatológico proposto pela União Internacional Contra o Câncer (sistema TNM), ou seja, pela profundidade de invasão do tumor na parede do cólon e pela ausência ou presença de linfonodos comprometidos e metástases à distância. Entretanto, pacientes com o mesmo estadio podem ter evoluções clínicas diferentes, revelando que o estadiamento atualmente usado pode não refletir a real agressividade individual de cada tumor (OKUYAMA; NAKAMURA; YAMAGUCHI, 2003; OKUYAMA; OYA; ISHIKAWA, 2003).

A denominação brotamento tumoral ou “Tumor Budding” tem sua origem no termo brotamento, também chamado de gemiparidade ou gemulação. É um dos processos de reprodução assexuada dos seres unicelulares (leveduras), pluricelulares (esponja, hidra) e de algumas plantas superiores. Nesse tipo de reprodução um broto ou gema se desenvolve no indivíduo, e quando as condições de vida estão desfavoráveis, os brotos desprendem-se do progenitor dando origem a novos indivíduos, passando a ter uma vida independente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Portanto, analogicamente, o Fenômeno Brotamento Tumoral (FBT) é uma característica histológica que se refere à presença de células isoladas ou aglomerados de cinco ou menos células cancerígenas indiferenciadas fora do tumor, atingindo a frente invasora, as quais representam os primeiros sinais de invasão tumoral, e são interpretadas neste caso pelo médico patologista como FBT infiltrativo ou tumor com brotamentos positivos ou presentes. Chamamos de FBT com borda expansiva ou tumor com brotamento negativo ou ausente, quando não são encontradas estas células fora do tumor (GRECO; MAGRO, 2007; PRALL, 2007; KANAZAWA *et al.*, 2008; TATEISHI *et al.*, 2010). Os mecanismos moleculares na formação do tumor “budding” ainda não estão bem esclarecidos; todavia, uma das características histológicas é a

perda da diferenciação e da adesão celular entre as células cancerígenas, que ocorre pela hiperexpressão da laminina 5 e do colágeno IV (SHINTO *et al.*, 2005). A diminuição do contato intercelular com reorganização do citoesqueleto com protusões citoplasmáticas leva a uma contração do corpo celular e ao avanço das células (PRALL, 2007). A E-cadherina e B-catenina são proteínas que se localizam na membrana celular para garantir a união dos complexos juncionais celulares tumorais ou contato intercelular. Através de substâncias proteolíticas como as uroquinases e integrinas, ocorre a degradação da matriz extracelular com posterior síntese de uma nova matriz extracelular, com diferente composição, principalmente constituída de laminina, substância que influencia positivamente a migração celular e o posterior avanço das células tumorais (PRALL, 2007; ZLOBEC *et al.*, 2007).

O FBT pode ser visto ou suspeitado mediante estudo histopatológico, com lâmina corada pela técnica da Hematoxilina-eosina (HE), mas é mais bem observado e quantificado com auxílio da imuno-histoquímica, pelo emprego do anticorpo monoclonal anticitoqueratina (AE1/AE3) (Dakocytomation[®]) (PARK *et al.*, 2005). Estas citoqueratinas são uma família de proteínas solúveis em água, e com peso molecular entre 40-70 KD e que formam o citoesqueleto destas células tumorais indiferenciadas isoladas. Especificamente AE1/AE3 é um conjunto de dois anticorpos monoclonais que são obtidos pela imunização do rato com células humanas contendo queratina. Citoqueratina AE1/AE3 tem sido utilizada para identificar a maioria das citoqueratinas humanas, e assim pode ser usada como um marcador imuno-histoquímico de identificação epitelial de origem celular simples ou estratificada, principalmente aquelas com pouca diferenciação histológica.

O termo Brotamento Tumoral foi primeiramente usado por Morodomi *et al.* (MORODOMI, 1988; MORODOMI *et al.*, 1989). Subsequentemente, Hase *et al.* (1993) claramente demonstraram que o FBT é um bom fator preditor de recorrência e sobrevida nos pacientes com câncer colorretal. Recentes estudos têm associado o fenômeno brotamento tumoral com o risco aumentado de indiferenciação celular, invasão vascular, metástases, recorrências locais e piora na sobrevida dos pacientes, tendo um valor prognóstico comparativo à presença de linfonodos comprometidos pela doença (TANAKA *et al.*, 2003; KANAZAWA *et al.*, 2008; TATEISHI *et al.*, 2010).

A presença do brotamento tumoral no câncer colorretal tem demonstrado ser um fator prognóstico independente da TNM, pois alguns pacientes com linfonodos negativos têm um curso evolutivo ruim da doença. Pacientes considerados como de

estadiamento I e II do sistema TNM, isto é, tumores restritos a parede do cólon e sem linfonodos comprometidos, habitualmente não têm indicação de tratamento adjuvante, contudo, no caso dos tumores com brotamentos presentes, mesmo nos estadios I e II poderiam se beneficiar com o emprego da adjuvância. (MERKEL *et al.*, 2001; CHOI *et al.*, 2007; NAKAMURA *et al.*, 2008).

3 CASUÍSTICA E MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR (Anexo 2).

Foi realizado um estudo tipo coorte histórico, de casuística formada por 65 pacientes portadores de adenocarcinoma colorretal, submetidos a tratamento cirúrgico nos Serviços de Cirurgia Geral e do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no período de janeiro de 1995 a agosto de 2004, e que foram acompanhados por um período de cinco anos após a cirurgia. Estes pacientes foram selecionados a partir do levantamento de 550 casos de câncer colorretal. Destes, 72 preenchiam os critérios de inclusão para este estudo, porém, sete foram excluídos porque os blocos de parafina contendo as amostras tumorais estavam danificados ou não foram localizados para permitir a confecção das lâminas de HE e IMH.

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes portadores de adenocarcinoma colorretal;
- Estadiamento clínico I e II (Classificação TNM);
- Cirurgia com caráter curativo.

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Diagnóstico de polipose adenomatosa familiar ou doença inflamatória intestinal;
- Blocos de parafina danificados;
- Óbito no pós-operatório imediato;
- Pacientes de quem se desconhecia a evolução pós-operatória, no período mínimo de acompanhamento de cinco anos.

Dados referentes a certos parâmetros do estudo anatomopatológico, período de recidiva da doença e tratamento adjuvante ou neoadjuvante empregado, foram correlacionados ao fenômeno biológico de brotamento tumoral. Para tanto, foram revisados os prontuários, revistas as lâminas dos exames anatomopatológicos e realizadas reações imuno-histoquímicas com o anticorpo monoclonal humano anticitoqueratina (CK), clone AE1/AE3 (Dakocytomation[®]), para avaliação do fenômeno brotamento tumoral.

Estas fontes de informação permitiram o preenchimento do protocolo de pesquisa (Apêndice 1), contendo as seguintes variáveis:

3.3 FATORES ESTUDADOS

- Idade e gênero.
- Localização do tumor primário: foi baseada na distribuição dos ramos arteriais mesentéricos e ilíacos internos que irrigam os cólons e o reto.
 - Reto (superior, médio e inferior) e retossigmóide;
 - Segmento esquerdo do cólon (cólon transverso distal, ângulo esplênico do cólon, cólon descendente e sigmoide);
 - Segmento direito do cólon (ceco, cólon ascendente, ângulo hepático do cólon e cólon transverso proximal);
- Modalidade de tratamento empregado:
 - Retossigmoidectomia ou sigmoidectomia isolada;
 - Amputação abdominoperineal do reto e ânus (Cirurgia de Miles) isolada;
 - Colectomia esquerda ou colectomia direita isolada;
 - Um dos tratamentos cirúrgicos acima, associado à quimioterapia (QT) e (ou) radioterapia (RT) (adjuvante ou neoadjuvante): o esquema utilizado foi com o 5-Fluorouracil (5-Fu) combinado ao Leucovorin, associado ou não à radioterapia. O esquema adjuvante foi realizado semanalmente, por seis semanas, a cada oito semanas, por três ciclos (seis meses). O esquema neoadjuvante consistiu do uso do 5-Fu e do Leucovorin associado à RT, e foi seguido da operação após seis a oito semanas.

- Período de recidiva da doença nos períodos de até cinco anos (recidiva geral), recidiva em até dois anos e recidiva após dois anos (três a cinco anos):
 - Ausente;
 - Presente.
- Local da recidiva: pélvica, na linha de anastomose intestinal, pulmonar, hepática e cerebral.
- Tipo histológico do tumor pela OMS: (Anexo 3).
- Grau de diferenciação do adenocarcinoma pela OMS:
 - GI (bem diferenciado);
 - GII (moderadamente diferenciado);
 - GIII (pouco diferenciado).
- Infiltração vascular linfática ou venosa:
 - Ausente;
 - Presente;
- Profundidade de invasão tumoral (T1, T2, T3).
- Estadiamento do tumor (TNM da UICC) (Anexo 1):
 - cTNM (estadiamento pré-cirúrgico)¹;
 - pTNM (estadiamento patológico)²;
- Presença do Fenômeno Brotamento Tumoral:
 - Negativo;
 - Positivo.
- Seguimento dos pacientes: após a cirurgia, os pacientes foram acompanhados no ambulatório de cirurgia do HC-UFPR por um período de até cinco anos, por meio dos seguintes parâmetros: anamnese, exame físico, dosagem sanguínea do antígeno carcinoembrionário (CEA), Raio x (RX) do tórax, ecografia abdominal, tomografia abdominal, tomografia torácica e colonoscopia. No primeiro ano após a cirurgia, os pacientes foram acompanhados trimestralmente mediante consultas e com colonoscopia semestral; do segundo ano em diante, realizaram consultas semestrais e

¹ cTNM : é baseado na evolução clínica do paciente, nos exames realizados no pré-operatório (Raio x de tórax, ultrassonografia abdominal, tomografia abdominal e ou torácica e colonoscopia), e nos achados intraoperatórios durante o inventário da cavidade abdominal.

² pTMN: baseia-se no estudo histopatológico da peça cirúrgica ressecada.

colonoscopia anual. Dosagem sanguínea do CEA, RX do tórax e ecografia abdominal foram realizados trimestralmente no primeiro ano, e semestralmente a partir do segundo ano. A tomografia abdominal e torácica foi realizada semestralmente no primeiro ano, e anualmente, do segundo ano em diante.

3.4 METODOLOGIAS NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA

Foram realizados um levantamento e a revisão das requisições e dos laudos anatopatológicos, e foram levantados e revistos pelo pesquisador e coorientador todos os preparados histológicos originais, dos casos, sob a guarda do arquivo do Serviço de Anatomia Patológica – HC da UFPR. Todas as lâminas foram revisadas simultaneamente pelo pesquisador e coorientador, com o objetivo de:

- Padronizar o tipo histológico, o grau de diferenciação, a presença de invasão angio-linfática e angio-venosa, a profundidade de invasão do tumor na parede colorretal e a presença ou ausência do fenômeno brotamento tumoral na coloração de HE.
- Selecionar o melhor bloco para avaliar o fenômeno brotamento tumoral.
 - Os blocos de parafina contendo amostras tumorais, selecionados para avaliação do brotamento tumoral na presente pesquisa, foram reprocessados histologicamente a partir da etapa da microtomia, e posteriormente submetidos à coloração HE, segundo a técnica histológica consagrada na literatura, descrita em Junqueira e Carneiro (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011).
 - O mesmo bloco de parafina escolhido para avaliar o fenômeno brotamento tumoral pela técnica de HE foi processado para a técnica imuno-histoquímica para o anticorpo monoclonal AE1/AE3, segundo a técnica imuno-histoquímica descrita em *Laboratory Methods in Histotechnology* (PROPHET *et al.*, 1994). O controle positivo interno foi representado pelas criptas colônicas normais adjacentes ao tumor.

3.5 ANÁLISE DO FENÔMENO DE BROTAMENTO TUMORAL (FBT) PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE)

- FBT positivo: FBT foi considerado positivo quando ocorreu a presença de células neoplásicas isoladas, ou em aglomerados de cinco ou menos células, separadas do tumor principal e situadas na região da borda invasora, as quais representam sinal de progressão tumoral (PRALL; NIZZE; BARTEN, 2005; PRALL, 2007; WANG *et al.*, 2009).
- FBT negativo: Foi diagnosticado quando estavam ausentes os pequenos blocos de cinco ou menos células neoplásicas isoladas, na frente de invasão, separadas do tumor.

As observações microscópicas foram realizadas com o microscópio American Optical modelo 1086, para dois observadores, utilizando-se ocular com 20mm de diâmetro e magnitude final de 400 aumentos; nessas condições, foi observada toda a extensão da borda profunda de expansão tumoral, correspondendo a um mínimo de 10 campos histológicos de 400 ampliações, sendo registrada a presença ou ausência das células tumorais isoladas ou blocos de até cinco células neoplásicas.

3.6 ANÁLISE DO FBT PELA TÉCNICA DA IMH COM O ANTICORPO MONOCLONAL AE1/AE3

Para aumentar a certeza na identificação da natureza epitelial neoplásica destas células isoladas na frente de invasão, separadas do tumor, foi utilizada a complementação da análise por meio da técnica da IMH (KAZAMA *et al.*, 2006) com o anticorpo monoclonal AE1/AE3. O fenômeno de brotamento tumoral avaliado pela imuno-histoquímica seguiu os mesmos critérios que foram aplicados na técnica de HE, sendo que, neste caso, a identificação das células neoplásicas foi feita a partir da imunorreatividade positiva, revelada pela coloração amarronzada da diaminobenzedina.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As medidas de tendência central consideradas foram média, desvio padrão e intervalo de confiança de 95% para variáveis contínuas e frequências absolutas e percentuais para as variáveis categóricas.

A estimativa da diferença entre variáveis contínuas foi realizada pelo teste t de Student e para variáveis categóricas pelo teste qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

A estimativa de risco foi realizada pelo cálculo do risco relativo, que para as variáveis com três níveis de classificação foi calculado considerando sempre a comparação do segundo nível com o primeiro, depois do terceiro nível com o primeiro e finalmente ambos com o primeiro.

Modelos de regressão logística multivariada e de análise discriminante foram aplicados para estimar o poder preditivo e de discriminação do fenômeno de brotamento tumoral.

Os índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, índices de falso positivo e negativo, acurácia e a razão de probabilidades positiva e negativa do fenômeno de brotamento tumoral, foram calculados para verificar o desempenho do exame para estimar o risco de recidiva da doença.

O grau de concordância entre as duas técnicas histopatológicas para a detecção do FBT foi calculada através do coeficiente *Kappa*.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA ESTUDADA

4.1.1 Idade e gênero

A média de idade dos pacientes foi de 58,5 + 12,6 anos (IC 95% = 55,4 a 61,1), com mediana de 59,0 anos (variando 24 a 79 anos), sem diferença estatística quanto ao sexo ($p=0,51$). Trinta e cinco pacientes eram do sexo masculino (53,8%).

4.1.2 Localização do tumor primário

A localização do tumor ocorreu igualmente no reto e no segmento esquerdo do cólon com 26 casos cada (40,0%), e em 13 casos (20,0%), no segmento direito do cólon.

4.1.3 Tratamento cirúrgico empregado

O tratamento cirúrgico mais realizado foi a retossigmoidectomia e sigmoidectomia em 29 casos (44,7%), seguido por amputação abdominoperineal do reto e ânus em 17 casos (26,1%), colectomia direita em 15 (23,1%) e colectomia esquerda em quatro casos (6,1%).

4.1.4 Incidência e localização da recidiva tumoral

Cinquenta e um pacientes (78,5%) não apresentaram recidivas. Estas ocorreram no fígado e região pélvica em igual número de seis casos (9,2%). Ainda houve dois outros locais de recidiva com igual incidência entre si de um caso cada (1,5%): linha de anastomose e pulmão.

4.1.5 Tratamento adjuvante/neoadjuvante empregado

Trinta e seis pacientes (55,4%) foram submetidos à cirurgia exclusiva, e vinte e nove pacientes (44,6%) receberam tratamento adjuvante/neoadjuvante (quimioterapia - QT e (ou) radioterapia - RT) associado à cirurgia.

4.1.6 Período de recidiva da doença

Do total de quatorze casos com recidiva (21,5%), sete casos (10,8%) ocorreram no período de até dois anos após o tratamento, e outros sete casos (10,8%) ocorreram após dois anos de tratamento.

4.1.7 Tipo histológico tumoral (Anexo 3)

O tipo histológico mais encontrado foi o adenocarcinoma NOS (sem outra especificação da OMS) com 55 casos (84,6%), seguido do mucinoso com 10 casos (15,4%).

4.1.8 Grau de diferenciação histológica do tumor

Em relação ao grau de diferenciação histológica do tumor, o mais frequente foi o Grau I em 45 casos (69,3%), seguido do Grau III (16,9%) e do Grau II (13,8%).

4.1.9 Infiltração vascular linfática e venosa

Em relação à infiltração vascular por células neoplásicas, a linfática estava presente em 19 casos (29,2%) e a infiltração venosa ocorreu em oito casos (12,3%). Em seis casos (9,2%) ambas infiltrações estavam presentes.

4.1.10 Profundidade da invasão tumoral

Quanto à profundidade da invasão tumoral, 42 casos (64,6%) foram classificados como T3, 22 casos (33,9%) como T2, e um caso (1,5%) como T1.

4.1.11 Estadiamento TNM da doença

Quanto ao estadiamento pelo sistema TNM (Anexo 1), 42 (64,6%) dos casos foram dos Estadio II e 23 (35,4%), do Estadio I.

4.1.12 Fenômeno brotamento tumoral pelos métodos HE e IMH

O fenômeno brotamento tumoral (FBT), quando pesquisado pelo método HE, foi positivo em 26 casos (40,0%). Quando o método de pesquisa do FBT foi a IMH, a positividade ocorreu em 32 casos (49,2%) (Figura 1).

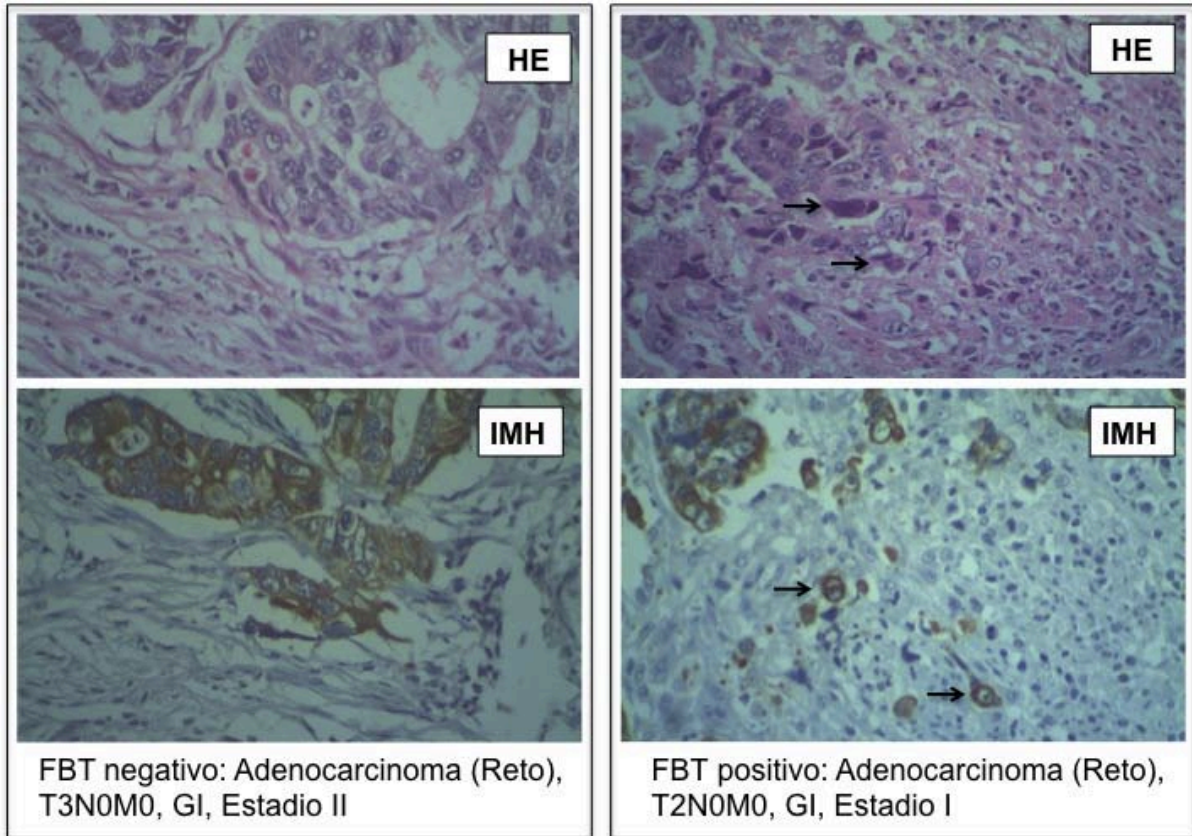


FIGURA 1 – FBT AVALIADO PELOS MÉTODOS HE E IMH
 FONTE: O autor (2012)

4.2 INFLUÊNCIA DOS FATORES ESTUDADOS SOBRE A RECIDIVA DA DOENÇA

4.2.1 Tratamento adjuvante/neoadjuvante

Não se observou diferença estatisticamente significativa entre o tratamento adjuvante/neoadjuvante quimioterapia (QT) e (ou) radioterapia (RT) e o período de recidiva da doença, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 1).

TABELA 1 - TRATAMENTO ADJUVANTE/NEOAJUVANTE X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

TRATAMENTO ADJUVANTE	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Presente	09	31,0	20	69,0	29	0,13	2,2 (0,8 – 5,9)
Ausente	05	13,9	31	86,1	36		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
Presente	04	13,8	25	86,2	29	0,69	1,6 (0,4 – 6,8)
Ausente	03	8,3	33	91,7	36		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Presente	05	17,2	24	82,8	29	0,22	3,1 (0,6 – 14,8)
Ausente	02	5,6	34	94,4	36		
Total	07	10,8	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.2 Grau de diferenciação histológica do tumor

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre o grau de diferenciação do tumor e o período de recidiva, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 2).

TABELA 2 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO DO TUMOR X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

GRAU DE DIFERENCIAÇÃO	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Grau III	03	27,3	08	72,7	11	0,69	1,3 (0,1 – 4,0)
Grau I/II	11	20,4	43	79,6	54		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
Grau III	03	27,3	08	72,3	11	0,08	3,6 (0,9 – 14,2)
Grau I/II	04	7,4	50	92,6	45		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Grau III	0	0,0	11	100,0	11	0,59	0,6 (0,1 – 4,7)
Grau I/II	0	13,0	47	87,0	54		
Total	0	1,08	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.3 Infiltração vascular linfática

Constatou-se associação estatisticamente significativa entre a infiltração linfática e o período de recidiva de uma das classes. A recidiva geral e até dois anos não teve relação estatisticamente significativa com a infiltração linfática ($p=1$). A recidiva após dois anos foi seis vezes maior na presença de infiltração linfática, e com diferença estatisticamente significava ($p=0,01$) (Tabela 3).

TABELA 3 - INFILTRAÇÃO LINFÁTICA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

INFILTRAÇÃO LINFÁTICA	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Presente	07	36,8	12	63,2	19	0,09	2,4 (1,0 – 6,0)
Ausente	07	15,2	39	84,8	46		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
Presente	02	10,5	17	89,5	19	1,00	1,0 (0,2 – 4,5)
Ausente	05	10,9	41	89,1	46		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Presente	05	26,3	14	73,7	19	0,01	6,0 (1,3 – 28,5)
Ausente	02	4,3	44	95,6	46		
Total	07	10,85	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.4 Infiltração vascular venosa

Observou-se associação estatisticamente significativa entre a infiltração vascular venosa e o período de recidiva. O risco de recidiva geral foi 3,9 vezes maior na presença de infiltração venosa, e com diferença estatisticamente significava ($p<0,001$). O período de recidiva até dois anos não teve relação estatisticamente significativa com a infiltração vascular venosa ($p=1$). O risco de recidiva após dois anos foi 9,5 vezes maior na presença de infiltração venosa, e com diferença estatisticamente significava ($p<0,001$) (Tabela 4).

TABELA 4 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

INFILTRAÇÃO VENOSA	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Presente	05	62,5	03	37,5	08	< 0,001	3,9 (1,8 – 8,8)
Ausente	09	15,8	48	84,2	57		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
Presente	01	12,5	07	87,5	08	1,00	1,2 (0,2 – 8,6)
Ausente	06	10,5	51	89,5	57		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Presente	04	50,0	04	50,0	08	< 0,001	9,5 (2,6 – 34,9)
Ausente	03	5,3	54	94,7	57		
Total	07	10,08	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.5 Profundidade da invasão tumoral

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre a profundidade de invasão tumoral e o período de recidiva, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 5).

TABELA 5 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

PROFUNDIDADE DA INVASÃO	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
T2, T3	14	21,8	50	78,2	64	1,00	0,4 (0,1 – 1,8)
T1	00	0,0	01	100,0	01		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
T2, T3	07	10,9	57	89,1	64	1,00	0,2 (0,01 – 0,09)
T1	00	0,0	01	100,0	01		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
T2, T3	07	10,9	57	89,1	64	1,00	0,2 (0,01 – 0,09)
T1	00	0,0	01	100,0	01		
Total	07	10,8	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.6 Estadiamento da doença

Não se observou associação estatisticamente significativa entre o estadiamento e o período de recidiva da doença, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 6).

TABELA 6 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

ESTADIAMENTO	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
II	12	28,6	30	71,4	42	0,11	3,3 (0,8 – 13,4)
I	02	8,7	21	91,3	23		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
II	05	11,9	37	88,1	42	1,00	1,4 (0,3 – 6,5)
I	02	8,7	21	91,3	23		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
II	07	16,7	35	83,3	42	0,05	3,5 (0,4 – 27,1)
I	00	0,0	23	100,0	23		
Total	07	10,8	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.7 Fenômeno brotamento tumoral avaliado pelo método da HE

Não se constatou associação estatisticamente significativa entre a presença do fenômeno brotamento tumoral, avaliado pelo método da HE, e o período de recidiva da doença, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 7).

TABELA 7 - FBT (HE) X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

FBT (HE)	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Presente	05	19,2	21	80,8	26	0,76	0,8 (0,3 – 2,2)
Ausente	09	23,1	30	76,9	39		
Total	14	21,5	51	76,9	65		
Recidiva até 2 anos							
Presente	02	7,7	24	92,3	26	0,69	0,6 (0,1 – 2,9)
Ausente	05	12,8	34	87,2	39		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Presente	03	11,5	23	88,5	26	1,00	1,1 (0,3 – 4,6)
Ausente	04	10,3	35	89,7	39		
Total	07	10,8	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.2.8 Fenômeno brotamento tumoral avaliado pelo método da IMH

Não se observou associação entre o fenômeno de brotamento tumoral, avaliado pelo método IMH, e o período de recidiva, mesmo quando este foi analisado de forma geral, até dois anos, e após dois anos (Tabela 8).

TABELA 8 - FBT (IMH) X PERÍODO DE RECIDIVA DA DOENÇA

FBT (IMH)	PRESENTE		AUSENTE		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Recidiva geral (até 5 anos)							
Presente	10	31,2	22	68,8	32	0,07	2,6 (0,9 – 7,4)
Ausente	04	12,1	29	87,9	33		
Total	14	21,5	51	78,5	65		
Recidiva até 2 anos							
Presente	04	12,5	28	87,5	32	0,70	1,4 (0,3 – 5,7)
Ausente	03	9,1	30	90,0	33		
Total	07	10,8	58	89,2	65		
Recidiva após 2 anos (3 a 5 anos)							
Presente	06	18,7	26	81,2	32	0,05	6,2 (0,8 – 48,6)
Ausente	01	3,0	32	97,0	33		
Total	07	10,8	58	89,2	65		

FONTE: O autor (2012)

4.3 PRESENÇA DO FBT PESQUISADO POR HE SOBRE OS FATORES ESTUDADOS

4.3.1 Localização do tumor primário

As neoplasias do cólon mostraram uma positividade de FBT, de acordo com a técnica HE, estatisticamente significativa maior do que as neoplasias retais ($p=0,03$) (Tabela 9).

TABELA 9 - LOCALIZAÇÃO DO TUMOR X FBT (HE)

FBT (HE)	LOCALIZAÇÃO DO TUMOR					TOTAL	p	RR
	Cólon (segmento E+D)		Reto					
	N.	%	N.	%				
Presente	20	76,9	06	23,1	26	0,03	1,6 (1,1 – 2,3)	
Ausente	19	48,7	20	51,3	39			
TOTAL	39	60,0	26	40,0	65			

FONTE: O autor (2012)

4.3.2 Localização da recidiva tumoral

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre a presença do FBT, por meio de HE, e a localização da recidiva (Tabela 10).

TABELA 10 - LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA X FBT (HE)

LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA	FBT (HE)					
	Ausente		Presente		Total	
	N.	%	N.	%	N.	%
Pélvica	03	50,0	03	50,0	06	42,9
Linha anastomose	01	100,0	00	0,0	01	7,1
Pulmonar	01	100,0	00	0,0	01	7,1
Hepática	04	66,7	02	33,3	06	42,9
TOTAL	09	64,3	05	35,7	14	100,0

FONTE: O autor (2012)

NOTA: Teste Qui-quadrado de Pearson: $p=0,76$.

4.3.3 Tipo histológico tumoral

Não se constatou associação estatisticamente significativa entre a presença do FBT, avaliado pelo método HE, e o tipo histológico (Tabela 11).

TABELA 11 - TIPO HISTOLÓGICO X FBT (HE)

FBT (HE)	TIPO HISTOLÓGICO						
	Mucinoso		Adenocarcinoma NOS		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Presente	02	7,7	24	92,3	26	0,07	0,4 (0,08 – 1,6)
Ausente	08	20,5	31	79,5	39		
TOTAL	10	15,4	55	84,6	65		

FONTE: O autor (2012)

4.3.4 Grau de diferenciação histológica do tumor

Não se registrou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de HE, e o grau de diferenciação histológica do tumor (Tabela 12).

TABELA 12 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO X FBT (HE)

FBT (HE)	GRAU DE DIFERENCIAÇÃO						p	RR
	Grau III		Grau I/II		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	03	11,5	23	88,5	26	0,50	0,6 (0,2 – 1,9)	
Ausente	08	20,5	31	79,5	39			
TOTAL	20	30,8	45	69,2	65			

FONTE: O autor (2012)

4.3.5 Infiltração vascular venosa

Não se observou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de HE, e a infiltração vascular venosa por células neoplásicas (Tabela 13).

TABELA 13 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X FBT (HE)

FBT (HE)	INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA					TOTAL	p	RR
	Presente		Ausente					
	N.	%	N.	%				
Presente	04	15,4	22	84,6	26	0,70	1,5 (0,4 – 5,5)	
Ausente	04	10,3	35	89,7	39			
TOTAL	08	12,3	57	87,7	65			

FONTE: O autor (2012)

4.3.6 Infiltração vascular linfática

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre o FBT, de acordo com a técnica HE, e a infiltração vascular linfática por células neoplásicas (Tabela 14).

TABELA 14 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA X FBT (HE)

FBT (HE)	INFILTRAÇÃO LINFÁTICA					TOTAL	p	RR
	Presente		Ausente					
	N.	%	N.	%				
Presente	11	42,3	15	57,7	26	0,09	2,1 (1,0 – 4,4)	
Ausente	08	20,5	31	79,5	39			
TOTAL	19	29,2	46	70,8	65			

FONTE: O autor (2012)

4.3.7 Profundidade da invasão tumoral

Não se observou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de HE, e a profundidade da invasão tumoral (Tabela 15).

TABELA 15 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X FBT (HE)

FBT (HE)	PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL						
	T2/T3		T1		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Presente	25	96,1	01	3,9	26	0,40	1,0 (0,9 – 1,1)
Ausente	39	100,0	00	0,0	39		
TOTAL	64	8,5	01	0,5	65		

FONTE: O autor (2012)

4.3.8 Estadiamento da doença

Não se registrou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de HE, e o estadiamento da doença (Tabela 16).

TABELA 16 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X FBT (HE)

FBT (HE)	ESTADIAMENTO DA DOENÇA						
	Estadio II		Estadio I		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Presente	18	69,2	08	30,8	26	0,60	1,1 (0,8 – 1,6)
Ausente	24	61,5	15	38,5	39		
TOTAL	42	64,6	23	35,4	65		

FONTE: O autor (2012)

4.4 PRESENÇA DO FBT PESQUISADO POR IMH SOBRE OS FATORES ESTUDADOS

4.4.1 Localização do tumor primário

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de IMH, e a localização do tumor (Tabela 17).

TABELA 17 - LOCALIZAÇÃO DO TUMOR X FBT (IMH)

FBT (IMH)	LOCALIZAÇÃO DO TUMOR						
	Cólon (segmento D+E)		Reto		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Presente	21	65,6	11	34,4	32	0,45	1,2 (0,8 – 1,8)
Ausente	18	54,5	15	45,5	33		
TOTAL	39	60,0	26	40,0	65		

FONTE: O autor (2012)

4.4.2 Localização da recidiva tumoral

Não se observou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de IMH, e a localização da recidiva (Tabela 18).

TABELA 18 - LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA X FBT (IMH)

LOCALIZAÇÃO DA RECIDIVA	FBT (IMH)					
	Ausente		Presente		Total	
	N.	%	N.	%	N.	%
Pélvica	01	16,7	05	83,3	06	9,2
Linha anastomose	01	100,0	00	0,0	01	1,5
Pulmonar	00	0,0	01	100,0	01	1,5
Hepática	02	33,3	04	66,7	06	9,2
TOTAL	04	28,6	10	71,4	65	100,0

FONTE: O autor (2012)

NOTA: Teste Qui-quadrado de Pearson: $p=0,33$.

4.4.3 Tipo histológico tumoral

Não se constatou associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de IMH, e o tipo histológico (Tabela 19).

TABELA 19 - TIPO HISTOLÓGICO X FBT (IMH)

FBT (IMH)	TIPO HISTOLÓGICO						
	Mucinoso		Adenocarcinoma (NOS)		TOTAL	p	RR
	N.	%	N.	%			
Presente	04	12,5	28	87,5	32	0,73	0,7 (0,2 – 2,2)
Ausente	06	18,2	27	81,8	33		
TOTAL	10	15,4	55	84,6	65		

FONTE: O autor (2012)

4.4.4 Grau de diferenciação histológica do tumor

Não se observou associação estatisticamente significativa entre FBT, por meio de IMH, e o grau de diferenciação do tumor (Tabela 20).

TABELA 20 - GRAU DE DIFERENCIAÇÃO DO TUMOR X FBT (IMH)

FBT (IMH)	GRAU DE DIFERENCIAÇÃO						p	RR
	III		I/II		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	04	12,5	28	87,5	32	0,51	0,6 (0,2 – 1,8)	
Ausente	07	21,2	26	78,8	33			
TOTAL	20	30,7	45	69,3	65			

FONTE: O autor (2012)

4.4.5 Infiltração vascular venosa

Verificou-se associação estatisticamente significativa entre infiltração vascular venosa e a presença do FBT, detectado pelo método IMH. Na presença do FBT, por meio de IMH, há risco significativo 7,2 vezes maior de ocorrer infiltração vascular venosa ($p=0,02$) (Tabela 21, Gráfico 1).

TABELA 21 - INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA X FBT (IMH)

FBT (IMH)	INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA						p	RR
	Presente		Ausente		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	07	21,9	25	78,1	32	0,02	7,2 (0,9 – 55,4)	
Ausente	01	3,0	32	97,0	33			
TOTAL	08	12,3	57	87,7	65			

FONTE: O autor (2012)

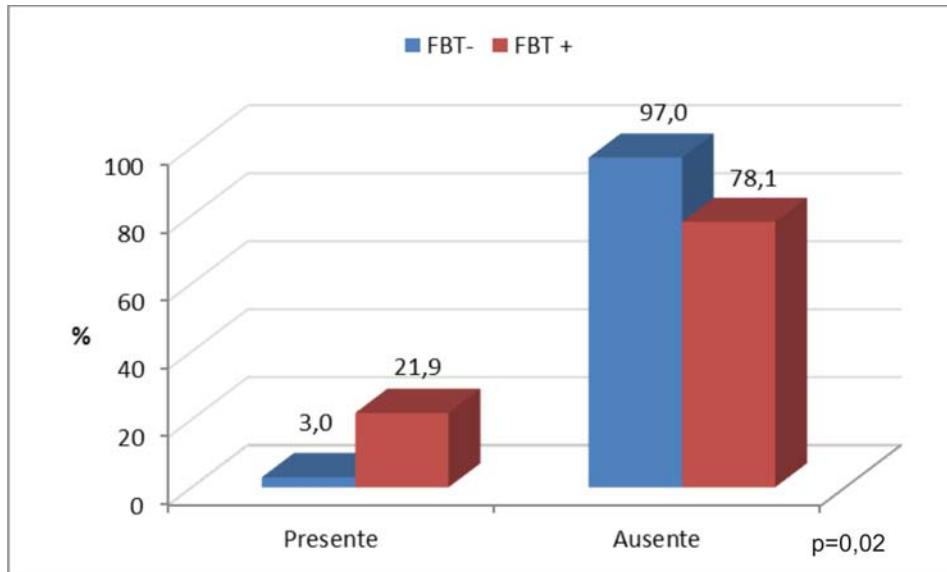


GRÁFICO 1 - INFILTRAÇÃO VENOSA x FBT
 FONTE: O autor (2012)

4.4.6 Infiltração vascular linfática

Constatou-se associação estatisticamente significativa entre infiltração vascular linfática e a presença do FBT, detectado pelo método IMH. Na presença do FBT, por meio de IMH, há risco significativo 2,9 vezes maior de haver infiltração vascular linfática ($p=0,01$) (Tabela 22, Gráfico 2).

TABELA 22 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA X FBT (IMH)

FBT (IMH)	INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA						p	RR
	Presente		Ausente		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	14	43,7	18	56,3	32	0,01	2,9 (1,2 – 7,1)	
Ausente	05	15,1	28	84,9	33			
TOTAL	19	29,2	46	70,8	65			

FONTE: O autor (2012)

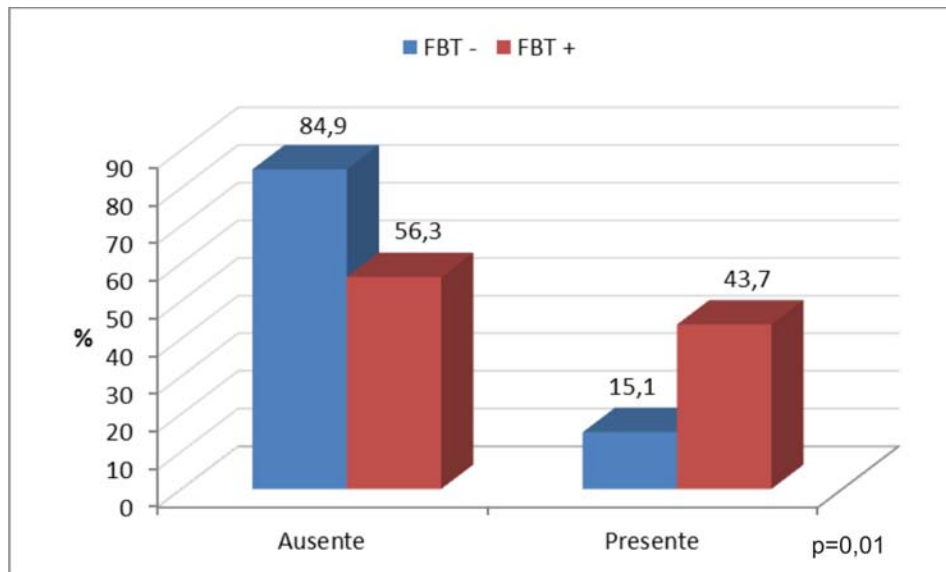


GRÁFICO 2 - INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA x FBT
 FONTE: O autor (2012)

4.4.7 Profundidade da invasão tumoral

Não se observou associação estatisticamente significativa entre FBT, por meio de IMH, e a profundidade da invasão tumoral (Tabela 23).

TABELA 23 - PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL X FBT (IMH)

FBT (IMH)	PROFUNDIDADE DA INVASÃO TUMORAL						p	RR
	T2/T3		T1		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	31	96,9	1	3,1	32	0,49	0,9 – 1,1	
Ausente	33	100,0	0	0,0	33			
TOTAL	64	98,5	01	0,5	65			

FONTE: O autor (2012)

4.4.8 Estadiamento da doença

Não houve associação estatisticamente significativa entre o FBT, por meio de IMH, e o estadiamento da doença (Tabela 24).

TABELA 24 - ESTADIAMENTO DA DOENÇA X FBT (IMH)

FBT (IMH)	ESTADIAMENTO DA DOENÇA						p	RR
	Estadio II		Estadio I		TOTAL			
	N.	%	N.	%				
Presente	22	68,7	10	31,2	32			
Ausente	20	60,6	13	39,4	33	0,60	1,1 (0,8 – 1,6)	
TOTAL	42	64,6	23	35,4	65			

FONTE: O autor (2012)

4.5 COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO ENTRE A PESQUISA DO FBT POR HE E IMH PARA PRESENÇA DE RECIDIVA

O FBT, avaliado pela técnica da hematoxilina-eosina, apresentou sensibilidade de 35,7% (IC 95%, 24 – 47,7); especificidade de 58,8% (IC 95%, 46,8 – 70,8); VPP de 19,2% (IC 95%, 9,0 – 29,4); VPN de 76,9% (IC 95%, 66,6 – 87,2); índice de falso positivo de 80,8% (IC 95%, 71,2 – 90,4); índice de falso negativo de 23,1% (IC 95%, 12,8 – 33,4); acurácia de 53,8% (IC 95%, 41,7 – 65,9); razão de probabilidades (RP) positiva de 0,9 (IC 95%, -1,4 – 3,2) e RP negativa de 1,1 (IC 95%, -1,4 – 3,6), para o diagnóstico de recidiva da doença (Tabela 25).

TABELA 25 - FBT (HE) X RECIDIVA GERAL DA DOENÇA

FBT (HE)	RECIDIVA GERAL					
	Sim		Não		Total	
	N.	%	N.	%	N.	%
Presente	05	7,7	21	32,3	26	40,0
Ausente	09	13,8	30	46,1	39	60,0
TOTAL	14	21,5	51	78,5	65	100,0

FONTE: O autor (2012)

O FBT, avaliado pela técnica da imuno-histoquímica, apresentou sensibilidade de 71,4% (IC 95%, 60,4 – 82,4); especificidade de 56,9% (IC 95%, 44,9 – 68,9); VPP de 31,2% (IC 95%, 19,9 – 42,5); VPN de 87,9% (IC 95%, 80 – 95,4); índice de falso positivo de 68,7% (IC 95%, 57,4 – 80,0); índice de falso negativo de 12,1% (IC 95%, 4,2 – 20,0); acurácia de 60,0% (IC 95%, 48,1 – 71,9); RP positiva de 1,7 (IC 95%, -1,4 – 4,8) e RP negativa de 0,5 (IC 95%, -1,2 – 2,2), para o diagnóstico de recidiva da doença (Tabela 26).

TABELA 26 - FBT (IMH) X RECIDIVA GERAL DA DOENÇA

FBT (IMH)	RECIDIVA GERAL					
	Sim		Não		Total	
	N.	%	N.	%	N.	%
Presente	10	15,4	22	33,8	32	49,2
Ausente	04	6,1	29	44,6	33	50,8
TOTAL	14	21,5	51	78,5	65	100,0

FONTE: O autor (2012)

A presença do FBT, avaliado em conjunto pelas técnicas da hematoxilina-eosina e (ou) imuno-histoquímica, apresentou valores iguais aos da técnica imuno-histoquímica isoladamente, pois todos os casos positivos pela hematoxilina-eosina eram positivos pela imuno-histoquímica.

4.6 CONCORDÂNCIA ENTRE O FBT, DETECTADO PELO MÉTODO HE E IMH

Observou-se um ótimo grau de concordância entre os dois métodos de detecção do FBT (Tabela 27).

TABELA 27 - CONCORDÂNCIA ENTRE FBT (HE) E FBT (IMH)

FBT (IMH)	FBT (HE)					
	Presente		Ausente		Total	
	N.	%	N.	%	N.	%
Presente	26	81,2	06	19,8	32	49,2
Ausente	00	0,0	33	100,0	33	50,8
TOTAL	18	27,7	47	72,3	65	100,0

FONTE: O autor (2012)

NOTA: Coeficiente de concordância de kappa = 0,81.

4.7 ESTIMATIVA DE VARIÁVEIS PREDITORAS PARA RECIDIVA DA DOENÇA

Considerando no modelo de análise discriminante como variável dependente a recidiva, observou-se que a variável selecionada com maior poder de discriminação foi a presença de infiltração vascular venosa com 81,5% de acerto de classificação ($p < 0,001$).

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, a idade média dos pacientes de 58,5 anos; a localização do tumor mais frequente no segmento esquerdo do cólon e no reto; o tipo histológico adenocarcinoma (NOS) e o grau de diferenciação histológica GI foram semelhantes aos observados na literatura (CHAO *et al.*, 2005; COLORECTAL CANCER, 2011). Em relação ao gênero, a distribuição foi similar, porém nas casuísticas brasileiras há um discreto aumento nas mulheres (CÂNCER COLORRETAL, 2011).

Em 78,% dos pacientes não ocorreram recidivas, o que se justifica por se tratarem de casos com estadiamento clínicos iniciais (estadio I e II), e quando estas ocorreram foram mais frequentes no fígado e na região pélvica; fatos estes descritos em conformidade com a literatura (DI GREGORIO *et al.*, 2005; LOSI *et al.*, 2006).

Ao se analisar o grau de diferenciação, profundidade de invasão e o estadiamento tumoral, não foi evidenciada relação com a recidiva da doença, ao contrário do que é descrito na literatura (KAJIWARA *et al.*, 2010; TATEISHI *et al.*, 2010).

Quando avaliado o tratamento adjuvante ou neoadjuvante realizado, não foi associado como fator prognóstico. O que evidenciou que, nestes pacientes com estadio clínico I e II (TNM), a realização de tratamento adjuvante ou neoadjuvante não mudou o curso de evolução da doença. O diagnóstico e o tratamento do adenocarcinoma colorretal têm evoluído consideravelmente nos últimos anos, especificamente as decisões tomadas em relação às ressecções limitadas ou completas, e quanto ao tipo e à indicação da terapia adjuvante empregada. Em ambas as situações, as decisões são baseadas principalmente nos achados histopatológicos da peça cirúrgica ressecada (NORTHOVER, 1997; PORSCHEN *et al.*, 2007; CHUN; WAINBERG, 2009). Ainda permanece controversa na literatura a indicação da adjuvância nos pacientes estadios clínico I e II (sistema TNM), pois, além da possibilidade de não aumentar a sobrevida destes indivíduos, apresenta um custo elevado e pode expô-los aos efeitos adversos da QT e RT (GILL *et al.*, 2004; CHUN; WAINBERG, 2009).

A quimioterapia adjuvante é indicada nos pacientes com adenocarcinoma colorretal e linfonodos positivos para malignidade, entretanto, uma pequena proporção de pacientes com adenocarcinoma colorretal e linfonodos negativos para malignidade tem uma evolução clínica desfavorável, e, dessa forma, o tratamento adjuvante poderia

ser benéfico nestes pacientes, apesar do custo e dos efeitos adversos (CHUN; WAINBERG, 2009; ZLOBEC *et al.*, 2010). Portanto, é fundamental identificar os casos de tumores com maior risco de recidivas locais e metástases linfonodais e à distância, apesar de o estadiamento anatomopatológico do sistema TNM informar o contrário.

Com frequência os adenocarcinomas colorretais com invasão limitada são encontrados nos adenomas removidos por polipectomia ou mucosectomia. Para os carcinomas do reto, a profundidade de invasão pode ser avaliada pré-operatoriamente com certa precisão pela endoscopia associada às técnicas de imagem, tais como a ultrassonografia transretal ou por meio da ressonância magnética. Nos carcinomas com invasão limitada (T1), a decisão para ressecção local é sempre sugerida. Nos casos de polipectomia e excisão local do câncer colorretal precoce, a discussão reside no fato do não reconhecimento de metástases linfonodais deixadas no local (CHOI *et al.*, 2009).

A ressecção das margens do adenocarcinoma colorretal após a polipectomia endoscópica ou mucosectomia endoscópica pode providenciar uma operação completa; entretanto, independente das margens de ressecção livres, até 10% dos pacientes com carcinoma colorretal precoce podem apresentar metástases sincrônicas para linfonodos regionais (YASUDA *et al.*, 2007; ISHIKAWA *et al.*, 2008; LAMBERT *et al.*, 2009; TATEISHI *et al.*, 2010).

Neste estudo 29% dos pacientes apresentaram presença de infiltração vascular linfática e 12%, de venosa. Na literatura, a presença de infiltração vascular linfática e venosa pelas células tumorais é descrita como fator prognóstico indicativo de maior agressividade da neoplasia (GABBERT, 1985; GABBERT *et al.*, 1985; MERKEL *et al.*, 2001; LOSI *et al.*, 2006; ZLOBEC; LUGLI, 2008), o que foi confirmado no presente estudo, em que a análise da influência da infiltração vascular sobre a recidiva da doença após dois anos, foi seis vezes maior na presença de infiltração vascular linfática ($p=0,01$). E a recidiva no período de até cinco anos foi 3,9 vezes maior na presença de infiltração vascular venosa, sendo mais frequente após os dois primeiros anos (9,5 vezes maior) ($p<0,001$).

Dessa forma, reafirma-se a importância da identificação do Fenômeno Brotamento Tumoral (FBT), o qual poderia refletir a real extensão da disseminação local no câncer colorretal, e ser considerado como um índice biológico de agressividade tumoral, ajudando a definir uma melhor conduta terapêutica para os pacientes (CHOI *et al.*, 2007; HOMMA *et al.*, 2010; MÄRKEL *et al.*, 2010; ZLOBEC *et al.*, 2010).

Homma *et al.* (2010) concluíram que em pacientes submetidos à ressecção radical do reto, a linfadenectomia lateral pode baixar a taxa de recorrência local dos tumores que invadem a submucosa e a camada muscular própria do reto. Os mesmos autores constataram que na presença do FBT, este estava associado como um fator de risco para metástases em linfonodos laterais do reto ($p=0,002$), e se neste caso a ressecção lateral do reto não fosse realizada, estes pacientes deveriam ser submetidos à quimioterapia adjuvante (HOMMA *et al.*, 2010).

Em 2004, Ueno *et al.* (2004b) foram dos primeiros a propor que o FBT estivesse relacionado com o aumento da recidiva local do tumor e com o aumento da probabilidade de linfonodos comprometidos pela neoplasia. Nesta casuística, a presença ou não do FBT, independentemente da técnica analisada, não foi associada com a recidiva da doença. Verificou-se apenas uma associação com nível de significância limítrofe, entre FBT, observado pela técnica IMH, e a recidiva da doença, sendo que para recidiva de uma forma geral (até cinco anos), o risco relativo foi 2,6 vezes maior na presença de FBT (IMH) ($p=0,07$), e para recidiva após dois anos (três a cinco anos) o risco foi 6,2 vezes maior ($p=0,05$). O erro estatístico tipo II pode ter ocorrido nestas associações estimadas como não significativas em virtude do tamanho da amostra.

Em relação à localização primária do tumor, os tumores localizados nos cólons, apresentaram uma maior positividade do FBT ($p=0,03$), pela técnica HE, em relação aos de localização no reto. Talvez esta diferença tenha decorrido do emprego do tratamento neoadjuvante nos tumores retais. Este achado ainda não foi descrito na literatura.

Segundo Greco e Magro, o FBT é um fator adicional que pode ser incluído dentro dos fatores de risco, juntamente com o estadiamento do sistema TNM, para aumento da probabilidade de metástases linfonodais (GRECO; MAGRO, 2007). Porém este estudo não conseguiu evidenciar a correlação do FBT, independente da técnica utilizada, com o estadiamento da doença ou ainda o local de recidiva e grau de diferenciação tumoral. Já o tipo histológico adenocarcinoma NOS teve uma associação com nível de significância estatística limítrofe ($p=0,07$) com o FBT (HE). O erro estatístico tipo II também pode ter ocorrido nesta associação estimada como não significativas em virtude do tamanho da amostra.

A análise da influência do FBT (IMH) sobre a infiltração vascular evidenciou que quando o FBT estava presente ocorreu um risco 7,2 vezes maior de o paciente

apresentar infiltração vascular venosa ($p=0,02$) e 2,9 vezes maior, infiltração linfática ($p=0,01$), levando ao questionamento se, na ausência de infiltração vascular, a presença de FBT (IMH) possa sugerir doença com risco aumentado de agressividade, com maior frequência de recidivas e metástases. Já com a técnica HE não se conseguiu mostrar associação entre FBT e infiltração vascular.

Segundo alguns autores (KAZAMA *et al.*, 2006), o diagnóstico da presença do FBT pela técnica IMH é um método mais sensível que à HE, o que talvez justifique estes achados anteriores e reforce a importância da realização da pesquisa de FBT pelo método IMH, similar como ocorrido neste estudo (sensibilidade HE 35,7% x IMH 71,4%). Apesar disso, neste estudo observou-se um ótimo grau de concordância entre as duas técnicas ($Kappa = 0.81\%$), o que poderia justificar a verificação da presença do FBT por qualquer um dos dois métodos.

A acurácia de ambos os testes não se mostrou muito elevada, 53,8% e 60%, pelas técnicas HE nem IMH, respectivamente, como as razões de probabilidades, tanto positivas como negativas de ambos os testes, com resultados próximos de um, indicam que estes testes praticamente não se prestam a prever recidiva da doença. Estes dados não foram encontrados calculados nos demais estudos relacionados.

Existem várias publicações mostrando que os pacientes com adenocarcinoma colorretal invasivo, em que o FBT estava presente, também se correlacionava com linfonodos comprometidos após a análise histopatológica do tumor ressecado (HASE *et al.*, 1993; UENO *et al.*, 2004a; KAZAMA *et al.*, 2006). Na maioria destes estudos o FBT foi avaliado por meio de uma análise multivariada, e classificado como um fator independente para risco aumentado de pior prognóstico da doença. Neste estudo ao se analisar as variáveis preditores de recidiva, pela análise multivariada, o único fator associado como preditor de risco foi a infiltração vascular venosa ($p<0,001$).

O FBT tem-se mostrando promissor nos estudos histopatológicos como um fator prognóstico no câncer colorretal e independente do sistema de estadiamento TNM (PRALL; NIZZE; BARTEN, 2005; PRALL, 2007; NAKAMURA *et al.*, 2008); entretanto faz-se prioritária a realização de novos estudos, com amostras maiores de pacientes, e assim confirmar o real significado desta possível variável independente, surgindo mais um critério para identificar tumores com comportamentos biológicos mais agressivos e, dessa forma, orientar o médico assistente na escolha do tratamento mais adequado para seu paciente.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi possível concluir que:

1. Dentre os fatores clinicopatológicos analisados, os únicos associados com risco de recidiva foram a presença de infiltração vascular linfática e venosa por células tumorais;
2. O fenômeno de brotamento tumoral é um fator preditor de agressividade tumoral, já que sua positividade esteve relacionada à infiltração vascular linfática e venosa por células tumorais;
3. O fenômeno brotamento tumoral, quando detectado pela técnica IMH, correlaciona-se com a presença de infiltração vascular venosa e linfática.

REFERÊNCIAS

ADES, S. Adjuvant chemotherapy for colon cancer in the elderly: moving from evidence to practice. **Oncology (Williston Park)**, v.23, n.2, p.162-167, Feb 2009.

AHNEN, D. J. Tissue markers of colon cancer risk. **Gastrointest Endosc**, v.49, n.3 Pt 2, p.S50-59, Mar 1999.

ALLEGRA, C. J.; PAIK, S.; COLANGELO, L. H.; PARR, A. L.; KIRSCH, I.; KIM, G.; KLEIN, P.; JOHNSTON, P. G.; WOLMARK, N.; WIEAND, H. S. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. **J Clin Oncol**, v.21, n.2, p.241-250, Jan 2003.

CÂNCER COLORRETAL. 2011. Disponível em: <www.inca.gov.br>. Acesso em: 14 dez. 2011.

CAPIRCI, C.; RUBELLO, D.; CHIERICHETTI, F.; CREPALDI, G.; FANTI, S.; MANDOLITI, G.; SALVIATO, S.; BONI, G.; RAMPIN, L.; POLICO, C.; MARIANI, G. Long-term prognostic value of 18F-FDG PET in patients with locally advanced rectal cancer previously treated with neoadjuvant radiochemotherapy. **AJR Am J Roentgenol**, v.187, n.2, p.W202-208, Aug 2006.

CHAO, A.; THUN, M. J.; CONNELL, C. J.; MCCULLOUGH, M. L.; JACOBS, E. J.; FLANDERS, W. D.; RODRIGUEZ, C.; SINHA, R.; CALLE, E. E. Meat consumption and risk of colorectal cancer. **JAMA**, v.293, n.2, p.172-182, Jan 2005.

CHOI, D. H.; SOHN, D. K.; CHANG, H. J.; LIM, S. B.; CHOI, H. S.; JEONG, S. Y. Indications for subsequent surgery after endoscopic resection of submucosally invasive colorectal carcinomas: a prospective cohort study. **Dis Colon Rectum**, v.52, n.3, p.438-445, Mar 2009.

CHOI, H. J.; PARK, K. J.; SHIN, J. S.; ROH, M. S.; KWON, H. C.; LEE, H. S. Tumor budding as a prognostic marker in stage-III rectal carcinoma. **Int J Colorectal Dis**, v.22, n.8, p.863-868, Aug 2007.

CHUN, P.; WAINBERG, Z. A. Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer: The Role of Molecular Markers in Choosing Therapy. **Gastrointest Cancer Res**, v.3, n.5, p.191-196, Sep 2009.

COLORECTAL CANCER. 2011. Disponível em: <www.cancer.org>. Acesso em: 14 dez. 2011.

COUTINHO, A. K.; LIMA, C. R.; BUZAID, A. C. Reto e cólon. In: BUZAID, A. C.; MALUF, F. C.; LIMA, C. M. R. (Ed.). **Manual de oncologia clínica do Brasil**. 9.ed. São Paulo: Dendrix, 2011. p.135-166.

DI GREGORIO, C.; BENATTI, P.; LOSI, L.; RONCUCCI, L.; ROSSI, G.; PONTI, G.; MARINO, M.; PEDRONI, M.; SCARSELLI, A.; RONCARI, B.; PONZ DE LEON, M. Incidence and survival of patients with Dukes' A (stages T1 and T2) colorectal carcinoma: a 15-year population-based study. **Int J Colorectal Dis**, v.20, n.2, p.147-154, Mar 2005.

FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, v.61, n.5, p.759-767, Jun 1990.

GABBERT, H. Mechanisms of tumor invasion: evidence from in vivo observations. **Cancer Metastasis Rev**, v.4, n.4, p.293-309, 1985.

GABBERT, H.; WAGNER, R.; MOLL, R.; GERHARZ, C. D. Tumor dedifferentiation: an important step in tumor invasion. **Clin Exp Metastasis**, v.3, n.4, p.257-279, Oct-Dec 1985.

GALIZIA, G.; FERRARACCIO, F.; LIETO, E.; ORDITURA, M.; CASTELLANO, P.; IMPERATORE, V.; ROMANO, C.; VOLLARO, M.; AGOSTINI, B.; PIGNATELLI, C.; DE VITA, F. Prognostic value of p27, p53, and vascular endothelial growth factor in Dukes A and B colon cancer patients undergoing potentially curative surgery. **Dis Colon Rectum**, v.47, n.11, p.1904-1914, Nov 2004.

GILL, S.; LOPRINZI, C. L.; SARGENT, D. J.; THOMÉ, S. D.; ALBERTS, S. R.; HALLER, D. G.; BENEDETTI, J.; FRANCINI, G.; SHEPHERD, L. E.; FRANCOIS SEITZ, J.; LABIANCA, R.; CHEN, W.; CHA, S. S.; HELDEBRANT, M. P.; GOLDBERG, R. M. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? **J Clin Oncol**, v.22, n.10, p.1797-1806, May 2004.

GRECO, P.; MAGRO, G. Comments on the reporting of lymph nodes and tumour budding in the checklist of colorectal carcinoma. **Virchows Arch**, v.450, n.3, p.359-360, Mar 2007.

GREENLEE, R. T.; HILL-HARMON, M. B.; MURRAY, T.; THUN, M. Cancer statistics, 2001. **CA Cancer J Clin**, v.51, n.1, p.15-36, Jan-Feb 2001.

HASE, K.; SHATNEY, C.; JOHNSON, D.; TROLLOPE, M.; VIERRA, M. Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer. **Dis Colon Rectum**, v.36, n.7, p.627-635, Jul 1993.

HAWK, E. T.; LIPPMAN, S. M. Primary cancer prevention trials. **Hematol Oncol Clin North Am**, v.14, n.4, p.809-830, Aug 2000.

HOMMA, Y.; HAMANO, T.; OTSUKI, Y.; SHIMIZU, S.; KOBAYASHI, H.; KOBAYASHI, Y. Severe tumor budding is a risk factor for lateral lymph node metastasis in early rectal cancers. **J Surg Oncol**, v.102, n.3, p.230-234, Sep 2010.

HOOPS, T. C.; TRABER, P. G. Molecular pathogenesis of colorectal cancer. **Hematol Oncol Clin North Am**, v.11, n.4, p.609-633, Aug 1997.

ISHIKAWA, Y.; AKISHIMA-FUKASAWA, Y.; ITO, K.; AKASAKA, Y.; YOKOO, T.; ISHII, T.; TOHO STUDY GROUP FOR CANCER BIOLOGICAL BEHAVIOR. Histopathologic determinants of regional lymph node metastasis in early colorectal cancer. **Cancer**, v.112, n.4, p.924-933, Feb 2008.

JUNQUEIRA, C. L.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

KAJIWARA, Y.; UENO, H.; HASHIGUCHI, Y.; MOCHIZUKI, H.; HASE, K. Risk factors of nodal involvement in T2 colorectal cancer. **Dis Colon Rectum**, v.53, n.10, p.1393-1399, Oct 2010.

KANAZAWA, H.; MITOMI, H.; NISHIYAMA, Y.; KISHIMOTO, I.; FUKUI, N.; NAKAMURA, T.; WATANABE, M. Tumour budding at invasive margins and outcome in colorectal cancer. **Colorectal Dis**, v.10, n.1, p.41-47, Jan 2008.

KAZAMA, S.; WATANABE, T.; AJIOKA, Y.; KANAZAWA, T.; NAGAWA, H. Tumour budding at the deepest invasive margin correlates with lymph node metastasis in submucosal colorectal cancer detected by anticytokeratin antibody CAM5.2. **Br J Cancer**, v.94, n.2, p.293-298, Jan 2006.

KIKUCHI, Y.; DINJENS, W. N.; BOSMAN, F. T. Proliferation and apoptosis in proliferative lesions of the colon and rectum. **Virchows Arch**, v.431, n.2, p.111-117, Aug 1997.

LAMBERT, R.; KUDO, S. E.; VIETH, M.; ALLEN, J. I.; FUJII, H.; FUJII, T.; KASHIDA, H.; MATSUDA, T.; MORI, M.; SAITO, H.; SHIMODA, T.; TANAKA, S.; WATANABE, H.; SUNG, J. J.; FELD, A. D.; INADOMI, J. M.; O'BRIEN, M. J.; LIEBERMAN, D. A.; RANSOHOFF, D. F.; SOETIKNO, R. M.; ZAUBER, A.; TEIXEIRA, C. R.; REY, J. F.; JARAMILLO, E.; RUBIO, C. A.; VAN GOSSUM, A.; JUNG, M.; JASS, J. R.; TRIADAFILOPOULOS, G. Pragmatic classification of superficial neoplastic colorectal lesions. **Gastrointest Endosc**, v.70, n.6, p.1182-1199, Dec 2009.

LOSI, L.; PONTI, G.; GREGORIO, C. D.; MARINO, M.; ROSSI, G.; PEDRONI, M.; BENATTI, P.; RONCUCCI, L.; DE LEON, M. P. Prognostic significance of histological features and biological parameters in stage I (pT1 and pT2) colorectal adenocarcinoma. **Pathol Res Pract**, v.202, n.9, p.663-670, 2006.

MÄRKL, B.; RENK, I.; ORUZIO, D. V.; JÄHNIG, H.; SCHENKIRSCH, G.; SCHÖLER, C.; EHRET, W.; ARNHOLDT, H. M.; ANTHUBER, M.; SPATZ, H. Tumour budding, uPA and PAI-1 are associated with aggressive behaviour in colon cancer. **J Surg Oncol**, v.102, n.3, p.235-241, Sep 2010.

MERKEL, S.; WEIN, A.; GÜNTHER, K.; PAPADOPOULOS, T.; HOHENBERGER, W.; HERMANEK, P. High-risk groups of patients with Stage II colon carcinoma. **Cancer**, v.92, n.6, p.1435-1443, Sep 2001.

MEYSKENS, F. L. Principles of human chemoprevention. **Hematol Oncol Clin North Am**, v.12, n.5, p.935-941, v, Oct 1998.

MORODOMI, T. [Clinicopathological studies of advanced rectal cancers--prediction of the degree of lymph node metastasis from histopathological finding of pre-operative biopsy specimens]. **Nihon Geka Gakkai Zasshi**, v.89, n.3, p.352-364, Mar 1988.

MORODOMI, T.; ISOMOTO, H.; SHIROUZU, K.; KAKEGAWA, K.; IRIE, K.; MORIMATSU, M. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. **Cancer**, v.63, n.3, p.539-543, Feb 1989.

MORSON, B. C. The pathogenesis of colorectal cancer. Introduction. **Major Probl Pathol**, v.10, p.1-13, 1978.

NAGAI, M. A.; HABR-GAMA, A.; OSHIMA, C. T.; BRENTANI, M. M. Association of genetic alterations of c-myc, c-fos, and c-Ha-ras proto-oncogenes in colorectal tumors. Frequency and clinical significance. **Dis Colon Rectum**, v.35, n.5, p.444-451, May 1992.

NAKAMURA, T.; MITOMI, H.; KANAZAWA, H.; OHKURA, Y.; WATANABE, M. Tumor budding as an index to identify high-risk patients with stage II colon cancer. **Dis Colon Rectum**, v.51, n.5, p.568-572, May 2008.

NORTHOVER, J. M. Staging and management of colorectal cancer. **World J Surg**, v.21, n.7, p.672-677, Sep 1997.

OKUYAMA, T.; NAKAMURA, T.; YAMAGUCHI, M. Budding is useful to select high-risk patients in stage II well-differentiated or moderately differentiated colon adenocarcinoma. **Dis Colon Rectum**, v.46, n.10, p.1400-1406, Oct 2003.

OKUYAMA, T.; OYA, M.; ISHIKAWA, H. Budding as a useful prognostic marker in pT3 well- or moderately-differentiated rectal adenocarcinoma. **J Surg Oncol**, v.83, n.1, p.42-47, May 2003.

OKUYAMA, T.; OYA, M.; YAMAGUCHI, M. Budding (sprouting) as a useful prognostic marker in colorectal mucinous carcinoma. **Jpn J Clin Oncol**, v.32, n.10, p.412-416, Oct 2002.

PARK, S. Y.; CHOE, G.; LEE, H. S.; JUNG, S. Y.; PARK, J. G.; KIM, W. H. Tumor budding as an indicator of isolated tumor cells in lymph nodes from patients with node-negative colorectal cancer. **Dis Colon Rectum**, v.48, n.2, p.292-302, Feb 2005.

POLYAK, K.; HAMILTON, S. R.; VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. Early alteration of cell-cycle-regulated gene expression in colorectal neoplasia. **Am J Pathol**, v.149, n.2, p.381-387, Aug 1996.

PORSCHEN, R.; ARKENAU, H. T.; KUBICKA, S.; GREIL, R.; SEUFFERLEIN, T.; FREIER, W.; KRETZSCHMAR, A.; GRAEVEN, U.; GROTHEY, A.; HINKE, A.; SCHMIEGEL, W.; SCHMOLL, H. J.; AIO COLORECTAL STUDY GROUP. Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and leucovorin plus oxaliplatin in metastatic colorectal cancer: a final report of the AIO Colorectal Study Group. **J Clin Oncol**, v.25, n.27, p.4217-4223, Sep 2007.

PRALL, F. Tumour budding in colorectal carcinoma. **Histopathology**, v.50, n.1, p.151-162, Jan 2007.

PRALL, F.; NIZZE, H.; BARTEN, M. Tumour budding as prognostic factor in stage I/II colorectal carcinoma. **Histopathology**, v.47, n.1, p.17-24, Jul 2005.

PRALL, F.; OSTWALD, C.; LINNEBACHER, M. Tubular invasion and the morphogenesis of tumor budding in colorectal carcinoma. **Hum Pathol**, v.40, n.10, p.1510-1512, Oct 2009.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington, D.C.: American Registry of Pathology, 1994.

ROBLES, A. I.; HARRIS, C. C. Clinical outcomes and correlates of TP53 mutations and cancer. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v.2, n.3, p.a001016, Mar 2010.

SHINTO, E.; TSUDA, H.; UENO, H.; HASHIGUCHI, Y.; HASE, K.; TAMAI, S.; MOCHIZUKI, H.; INAZAWA, J.; MATSUBARA, O. Prognostic implication of laminin-5 gamma 2 chain expression in the invasive front of colorectal cancers, disclosed by area-specific four-point tissue microarrays. **Lab Invest**, v.85, n.2, p.257-266, Feb 2005.

STRATE, L. L.; SYNGAL, S. Hereditary colorectal cancer syndromes. **Cancer Causes Control**, v.16, n.3, p.201-213, Apr 2005.

TANAKA, M.; HASHIGUCHI, Y.; UENO, H.; HASE, K.; MOCHIZUKI, H. Tumor budding at the invasive margin can predict patients at high risk of recurrence after curative surgery for stage II, T3 colon cancer. **Dis Colon Rectum**, v.46, n.8, p.1054-1059, Aug 2003.

TATEISHI, Y.; NAKANISHI, Y.; TANIGUCHI, H.; SHIMODA, T.; UMEMURA, S. Pathological prognostic factors predicting lymph node metastasis in submucosal invasive (T1) colorectal carcinoma. **Mod Pathol**, v.23, n.8, p.1068-1072, Aug 2010.

TRABER, P. G. Epithelial cell growth and differentiation. V. Transcriptional regulation, development, and neoplasia of the intestinal epithelium. **Am J Physiol**, v.273, n.5, Pt 1, p.G979-981, Nov 1997.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

UENO, H.; MOCHIZUKI, H.; HASHIGUCHI, Y.; SHIMAZAKI, H.; AINDA, S.; HASE, K.; MATSUKUMA, S.; KANAI, T.; KURIHARA, H.; OZAWA, K.; YOSHIMURA, K.; BEKKU, S. Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. **Gastroenterology**, v.127, n.2, p.385-394, Aug 2004a.

UENO, H.; MURPHY, J.; JASS, J. R.; MOCHIZUKI, H.; TALBOT, I. C. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. **Histopathology**, v.40, n.2, p.127-132, Feb 2002.

UENO, H.; PRICE, A. B.; WILKINSON, K. H.; JASS, J. R.; MOCHIZUKI, H.; TALBOT, I. C. A new prognostic staging system for rectal cancer. **Ann Surg**, v.240, n.5, p.832-839, Nov 2004b.

VOGELSTEIN, B.; FEARON, E. R.; HAMILTON, S. R.; KERN, S. E.; PREISINGER, A. C.; LEPPERT, M.; NAKAMURA, Y.; WHITE, R.; SMITS, A. M.; BOS, J. L. Genetic alterations during colorectal-tumor development. **N Engl J Med**, v.319, n.9, p.525-532, Sep 1988.

WANG, L. M.; KEVANS, D.; MULCAHY, H.; O'SULLIVAN, J.; FENNELLY, D.; HYLAND, J.; O'DONOGHUE, D.; SHEAHAN, K. Tumor budding is a strong and reproducible prognostic marker in T3N0 colorectal cancer. **Am J Surg Pathol**, v.33, n.1, p.134-141, Jan 2009.

WINAWER, S. J.; SHIKE, M. Dietary factors in colorectal cancer and their possible effects on earlier stages of hyperproliferation and adenoma formation. **J Natl Cancer Inst**, v.84, n.2, p.74-75, Jan 1992.

WINAWER, S. J.; ZAUBER, A. G.; HO, M. N.; O'BRIEN, M. J.; GOTTLIEB, L. S.; STERNBERG, S. S.; WAYE, J. D.; SCHAPIRO, M.; BOND, J. H.; PANISH, J. F. et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. **N Engl J Med**, v.329, n.27, p.1977-1981, Dec 1993.

YASUDA, K.; INOMATA, M.; SHIROMIZU, A.; SHIRAISHI, N.; HIGASHI, H.; KITANO, S. Risk factors for occult lymph node metastasis of colorectal cancer invading the submucosa and indications for endoscopic mucosal resection. **Dis Colon Rectum**, v.50, n.9, p.1370-1376, Sep 2007.

ZLOBEC, I.; LUGLI, A. Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. **Postgrad Med J**, v.84, n.994, p.403-411, Aug 2008.

ZLOBEC, I.; LUGLI, A.; BAKER, K.; ROTH, S.; MINOO, P.; HAYASHI, S.; TERRACCIANO, L.; JASS, J. R. Role of APAF-1, E-cadherin and peritumoral lymphocytic infiltration in tumour budding in colorectal cancer. **J Pathol**, v.212, n.3, p.260-268, Jul 2007.

ZLOBEC, I.; MOLINARI, F.; MARTIN, V.; MAZZUCHELLI, L.; SALETTI, P.; TREZZI, R.; DE DOSSO, S.; VLAJNIC, T.; FRATTINI, M.; LUGLI, A. Tumor budding predicts response to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer patients. **World J Gastroenterol**, v.16, n.38, p.4823-4831, Oct 2010.

ZLOBEC, I.; TERRACCIANO, L.; TORNILLO, L.; GÜNTHERT, U.; VUONG, T.; JASS, J. R.; LUGLI, A. Role of RHAMM within the hierarchy of well-established prognostic factors in colorectal cancer. **Gut**, v.57, n.10, p.1413-1419, Oct 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE 1
PROTOCOLO DE PESQUISA

PROTOCOLO DE PESQUISA

CASO N.º _____

FATORES PROGNÓSTICOS E RECIDIVA NEOPLÁSICA EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTÁDIOS I E II (TNM), SUBMETIDOS A
TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA: O PAPEL DO FENÔMENO
BROTAMENTO TUMORAL AVALIADO POR DOIS MÉTODOS HISTOLÓGICOS
DIFERENTES.

NOME: _____

PRONTUÁRIO: _____ NÚMERO DA LÂMINA: _____

ENDEREÇO: _____ TEL: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____

1. IDADE: _____
2. GÊNERO: (1) Masculino (2) Feminino _____ ()
3. TRATAMENTO CIRÚRGICO REALIZADO _____ ()

(1) Retossigmoidectomia/Sigmoidectomia	(3) Colectomia esquerda
(2) Amputação abdôminoperineal do reto e ânus	(4) Colectomia direita
4. DATA DA CIRURGIA: ____/____/____
5. TRATAMENTO ADJUVANTE OU NEO-ADJUVANTE _____ ()

(1) Ausente	(2) Presente
-------------	--------------
6. PERÍODO DE RECIDIVA TUMORAL EM ATÉ 2 ANOS: _____ ()

(1) Ausente	(2) Presente
-------------	--------------
7. PERÍODO DE RECIDIVA TUMORAL APÓS 2 ANOS (3 A 5 ANOS): _____ ()

(1) Ausente	(2) Presente
-------------	--------------
8. LOCAL DE RECIDIVA DA DOENÇA: _____ ()

(1) Pélvica	(4) Hepática	(7) Sem recidiva
(2) Linha anastomose	(5) Cerebral	
(3) Pulmonar	(6) Carcinomatose peritoneal	

9. LOCALIZAÇÃO DO TUMOR: _____ ()
(1) Reto/Retossigmoide
(2) Segmento esquerdo cólon
(3) Segmento direito cólon
10. TIPO HISTOLÓGICO: _____ ()
(1) Adenocarcinoma (3) Anel de Sinete (5) Indiferenciado
(2) Mucinoso (4) Medular
11. GRAU DE DIFERENCIAÇÃO HISTOLÓGICA: _____ ()
(1) G I (2) G II (3) G III
12. INFILTRAÇÃO VASCULAR VENOSA: _____ ()
(1) Ausente (2) Presente
13. INFILTRAÇÃO VASCULAR LINFÁTICA: _____ ()
(1) Ausente (2) Presente
14. PROFUNDIDADE DE INVASÃO: _____ ()
(1) Tis (2) T1 (3) T2 (4) T3
15. ESTADIAMENTO (TNM): _____ ()
(1) 0 (2) I (3) II
16. FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL (HE): _____ ()
(1) Negativo (2) Positivo
17. FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL (IMH): _____ ()
(1) Negativo (2) Positivo

APÊNDICE 2
PLANILHA DE DADOS

CASO	pront	nº lâmina	idade	sexo	tto_cir	data_cir	tto_adj	recid_2	recid_5	recidiva	loc_recid	loc_tumor	tipo_hist	grau_dif	inf_ven	inf_linf	prof_inv	estadiam	FBT_HE	FBT_IMH	
1	14527346	957364	36	1	1	15/09/95		1	1	1	1	7	1	1	3	1	1	3	2	1	1
2	14880992	965619	54	1	4	18/07/96		1	1	1	1	7	3	2	1	1	1	3	2	2	2
3	15040939	964610	37	2	2	17/06/96		2	1	1	1	7	1	1	2	1	1	3	2	2	2
4	9513159	951461	69	2	2	25/02/95		1	1	1	1	7	1	2	3	1	1	3	2	1	1
5	15213728	967237	61	1	4	10/08/96		2	1	1	1	7	3	1	1	1	1	4	3	1	1
6	1574515	950512	40	2	4	20/01/95		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	3	2	1	1
7	6991270	962191	36	2	1	21/03/96		2	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	2	2
8	16062235	981379	46	1	1	19/02/98		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	1	1
9	9189343	973063	42	2	2	18/04/97		1	1	1	1	7	1	1	2	1	1	2	2	2	2
10	16085758	9801895	67	1	1	13/03/98		1	1	1	1	7	2	1	2	1	1	4	3	2	2
11	15510358	971474	67	1	2	24/02/97		2	1	2	2	1	1	1	2	2	2	4	3	1	2
12	15477377	973333	68	2	1	25/04/97		1	1	1	1	7	2	1	2	1	1	3	2	2	2
14	3435520	992566	55	2	1	26/03/99		2	1	1	1	7	2	1	1	1	2	3	2	1	1
15	1098551	9710554	61	2	4	15/12/97		2	1	1	1	7	2	1	1	1	1	3	2	1	1
16	17403583	20000552	73	2	1	21/01/00		2	1	2	2	4	2	1	1	1	1	4	3	1	1
17	17285033	999126	65	2	1	22/10/99		2	2	1	2	4	2	1	3	1	2	4	3	2	2
18	17281585	9910473	67	1	2	03/12/99		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
19	17044621	995995	66	2	2	12/07/99		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
20	16464716	986408	45	1	2	18/08/98		2	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
21	16425346	986207	52	1	4	11/08/98		2	2	1	2	2	2	1	1	1	2	4	3	1	1
22	16309877	984240	62	1	1	01/06/98		1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	4	3	1	1
23	4673867	982655	60	1	1	08/04/98		2	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
24	15481536	970880	71	1	1	03/02/97		1	1	1	1	7	1	2	3	1	1	4	3	1	1
26	178442450	8884	59	2	2	02/11/00		2	1	2	2	1	1	1	2	2	2	4	3	2	2
27	15275979	968080	51	1	1	08/10/96		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	1	1
28	14151648	952164	77	2	2	24/03/95		1	1	1	1	7	1	2	3	1	1	4	3	1	1
29	14993428	964559	52	2	4	14/06/96		1	1	1	1	7	3	1	1	1	1	3	2	1	1
30	14293078	954053	74	1	1	30/05/95		1	1	1	1	7	1	1	2	1	1	3	2	1	1
31	17703650	20005954	53	1	4	04/08/00		2	1	1	1	7	3	1	1	1	2	4	3	2	2
32	17643940	20005421	54	1	4	07/07/00		2	1	1	1	7	3	2	3	1	1	4	3	1	1
33	17552830	20003288	67	2	2	19/04/00		1	2	1	2	4	1	2	3	1	1	3	2	1	2
34	17532200	20002419	66	1	1	24/03/00		1	2	1	2	4	1	1	1	1	1	3	2	1	2
36	10086140	969426	70	2	1	20/11/96		2	1	1	1	7	2	1	1	1	2	4	3	2	2
37	13179344	956539	54	2	1	17/08/95		1	1	2	2	1	1	2	1	2	1	4	3	1	2
38	17637851	20004568	52	1	4	02/06/00		2	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	1	1
39	14558020	958636	24	1	2	24/10/95		2	2	1	2	1	1	2	3	2	1	4	3	2	2
40	13410330	22176	70	2	4	18/03/02		1	1	1	1	7	3	1	1	1	1	3	2	2	2
41	15763868	18791	57	2	3	08/11/01		2	1	1	1	7	2	1	2	2	2	4	3	2	2
42	17805622	11822	39	1	4	09/03/01		1	1	1	1	7	3	1	3	2	2	3	2	2	2
43	18541831	23395	42	2	1	25/04/02		2	1	1	1	7	2	1	1	1	2	4	3	1	1
44	12969198	6483	49	2	1	06/08/01		2	1	2	2	3	1	1	2	2	2	4	3	1	2
45	18360829	20019804	75	1	2	14/01/01		2	1	1	1	7	1	1	1	1	1	4	3	2	2
46	18650274	20027256	78	1	2	13/08/02		1	1	1	1	7	1	2	3	1	1	4	3	1	1
47	18742616	20028592	76	1	3	18/09/02		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	2	2
48	9223665	28714	66	1	1	01/05/02		2	1	1	1	7	2	1	1	2	2	4	3	1	1
50	18215586	20016337	71	1	1	06/08/01		1	1	1	1	7	2	1	2	1	1	4	3	1	1
51	18128608	14716	36	1	3	07/06/01		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	1	1
55	10946239	30285	74	1	1	13/01/03		2	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	2	2
56	15288063	33136	57	2	1	04/04/03		2	1	1	1	7	1	1	1	1	1	4	3	1	1
57	18983958	33345	58	1	2	16/04/03		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	4	3	1	1
58	6800831	34781	66	1	4	07/07/03		2	2	1	2	4	3	1	1	1	1	4	3	1	1
59	19032060	35206	69	2	1	01/01/03		1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	3	2	2	2
60	19124088	36361	53	1	4	22/07/03		1	1	1	1	7	3	1	1	1	2	4	3	2	2
61	309966	37933	71	2	4	05/09/03		1	1	1	1	7	3	2	3	1	2	4	3	1	1
62	19329291	311089	58	1	4	08/12/03		1	1	1	1	7	3	1	1	1	1	4	3	1	1
63	16581780	311250	64	2	1	12/12/03		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
64	19301397	311422	50	2	4	18/12/03		2	1	1	1	7	3	1	1	1	2	4	3	2	2
65	3010929	41832	65	2	1	27/02/04		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	2	2
66	16876984	42626	56	1	2	22/03/04		1	1	1	1	7	1	1	1	1	1	3	2	1	1
67	19464059	43613	44	2	1	22/04/04		2	1	1	1	7	2	1	1	1	1	4	3	2	2
68	19535398	44466	45	2	4	15/05/04		1	1	1	1	7	3	1	1	1	1	4	3	2	2
69	10162270	44491	48	2	3	18/05/04		2	1	2	2	1	2	1	1	1	2	4	3	2	2
70	19595692	45673	77	1	1	01/06/04		1	1	1	1	7	2	1	1	1	2	4	3	2	2
71	5015618	47301	58	1	1	06/08/04		2	1	1	1	7	2	1	1	1	2	4	3	1	2
72	4527780	3300540	79	1	1	20/01/03		1	1	2	2	4	2	1	1	1	2	4	3	2	2

ANEXOS

ANEXO 1
SISTEMA DE ESTADIAMENTO TNM
(7.^a EDIÇÃO DA UICC) PARA TUMORES COLORRETAIS

Tis- carcinoma in situ: intra-epitelial ou invasão da lâmina própria.

T1- tumor invade a submucosa.

T2- tumor invade muscular própria.

T3- tumor invade além da muscular própria, a subserosa ou tecidos pericolônicos ou perirretais não peritonizados.

T4- tumor perfura o peritônio visceral e/ou invade diretamente outros órgãos e estruturas.

T4a- tumor perfura o peritônio visceral.

T4b- tumor invade diretamente outros órgãos ou estruturas.

N0- ausência de metástase em linfonodo regional.

N1- metástases em 1 a 3 linfonodos pericólicos ou perirretais.

N1a – metástase em 1 linfonodo.

N1b – metástases em 2 a 3 linfonodos.

N1c – metástases em linfonodos satélites na subserosa, sem acometer linfonodos regionais.

N2- metástases em quatro ou mais linfonodos pericólicos ou perirretais.

N2a – metástases em 4 ou mais linfonodos regionais.

N2b – metástases em 7 ou mais linfonodos regionais.

N3- metástase em qualquer linfonodo ao longo de um dos troncos vasculares principais.

M0- ausência de metástase à distância.

M1- Metástase à distância.

M1a – Metástase em 1 órgão.

M1b – Metástases em mais de 1 órgão ou peritônio.

Estadio 0 – TisN0M0.

Estadio I - T1N0M0, T2N0M0.

Estadio II - T3N0M0, T4N0M0.

Estadio IIa – T3N0M0

Estadio IIb – T4aN0M0

Estadio IIc – T4bN0M0

Estadio III - qualquer T, N1, N2, N3 e M0.

Estadio IV - qualquer T, qualquer N, M1.

Estadio IVa – qualquer T, qualquer N, M1a.

Estadio IVb – qualquer T, qualquer N, M1b.

ANEXO 2
DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE
PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES
HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR



Curitiba, 29 de janeiro de 2.003.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dr. Marssoni Deconto Rossoni
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "VALOR PROGNÓSTICO DA DETERMINAÇÃO DO p53 E DA CROMOGRANINA NO CÂNCER DE RETO EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM INTENÇÃO CURATIVA", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 28 de janeiro de 2.003, o referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96 , 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.
Protocolo CEP-HC Nº 582.001/2003-01

Atenciosamente,



Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho
Coordenador em Exercício do Comitê de Ética em
Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/ UFPR



Curitiba, 15 de janeiro de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)
Marssoni Deconto Rossoni
Nesta

Prezado Pesquisador

Comunicamos que a **Solicitação de Re-aprovação do Estudo para o Ano de 2009; Relatório Parcial do Estudo** datado de 09 de janeiro de 2009, referente ao Projeto de Pesquisa intitulado: "VALOR PROGNOSTICO DA DETERMINAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO p53 E DA BORDA TUMORAL EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIO I E II (TNM), SUBMETIDOS A TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA", foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos. O referido documento atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

Registro CEP-HC 582.001/2003-01

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Renato Tambara Filho', written over a horizontal line.

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em
Seres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR



Curitiba, 15 de janeiro de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)
Marssoni Deconto Rossoni
Nesta

Prezado Pesquisador

Comunicamos que **Alteração do Título**, do Projeto de Pesquisa de "VALOR PROGNOSTICO DA DETERMINAÇÃO DO p53 E DO KI-67 NO CANCER COLORRETAL EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM INTENÇÃO CURATIVA " para "VALOR PROGNOSTICO DA DETERMINAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO p53 E DA BORDA TUMORAL EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIO I E II (TNM), SUBMETIDOS A TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA", foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.

Registro CEP-HC 582.001/2003-01

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Renato Tambara Filho'.

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em
Serres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR



Curitiba, 12 de abril de 2012.

Ilmo (a) Sr. (a)
Marssoni Deconto Rossoni
Hospital de Clínicas da UFPR
Curitiba - PR

Prezado Pesquisador

Comunicamos que a **Solicitação para Alteração do Título**, do Projeto de Pesquisa **de:**

"VALOR PROGNOSTICO DA DETERMINAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO p53 E DA BORDA TUMORAL EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIOS I E II (TNM), SUBMETIDOS A TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA "

Para:

"VALOR PROGNOSTICO DA DETERMINAÇÃO DO FENÔMENO BROTAMENTO TUMORAL EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESTADIOS I E II (TNM), SUBMETIDOS A TRATAMENTO CIRÚRGICO COM INTENÇÃO CURATIVA", foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.

Registro CEP-HC 582.001/2003-01

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Tambara Filho".

Renato Tambara Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR

ANEXO 3
CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DO TUMOR PELA OMS

- Adenocarcinoma NOS;
- Adenocarcinoma mucinoso;
- Carcinoma de células em anel de sinete;
- Carcinoma de pequenas células;
- Carcinoma escamocelular;
- Carcinoma adeno-escamoso;
- Carcinoma medular;
- Carcinoma indiferenciado.