

NARA ROSANA ANDRADE SANTOS

**IMUNOEXPRESSÃO DE KI67 E P53 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE RETO TRATADOS
COM TERAPIA NEOADJUVANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo - Escola Paulista de Medicina para
obtenção do título de Mestre em Ciências

São Paulo
2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

NARA ROSANA ANDRADE SANTOS

**IMUNOEXPRESSÃO DE KI67 E P53 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE RETO TRATADOS
COM TERAPIA NEOADJUVANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo - Escola Paulista de Medicina para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientadora: Prof^a Dr^a Nora Manoukian Forones

Co-orientadora: Dr^a Celina Tizuko Fujiyama Oshima

São Paulo
2007

DEDICATÓRIA

A Deus

pelo dom da vida, pela oportunidade de viver, conviver,
aprender e doar

Ao meu filho

que nasceu junto com este projeto de Tese

Á minha mãe e amiga,

Eduvirgens Pereira de Andrade, pela paciência, carinho, amor e
compreensão

Ao meu marido,

Armando Pereira Filho pela força, paciência, impaciência e
firmeza

A minha irmã,,

Débora, exemplo de vida, pelo incentivo, apoio e torcida em
toda minha jornada de vida

AGRADECIMENTOS

À profa. Dra Nora Manoukian Forones, do setor de Oncologia da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina, orientadora, pelo apoio na orientação desta Tese, pela confiança e dedicação.

À Dra Celina Tizuko Fujiyama Oshima, pela revisão cuidadosa de todas as lâminas coradas pela reação de imuno-histoquímica , incentivo e compreensão durante o desenvolvimento desta Tese

Ao Dr Ricardo Artegiani, patologista do Departamento de Anatomia Patológica da UNIFESP/EPM, pela revisão cuidadosa de todas as lâminas coradas pela hematoxilina-eosina e pela quantificação das reações de imuno-histoquímica

À profa. Dra Maria Lúcia médica e coordenadora do programa de pós graduação da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Universidade Federal de São Paulo- UNIFESP pelo auxílio durante o curso de pós-graduação

Aos Dr Saad e Dr cirurgiões....

Ao Dr Segretto chefe da Disciplina de Radioterapia da Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP pela colaboração e conhecimento para realização deste projeto

Aos colegas Dr Jaime e Dra Luciana Zaia pela colaboração durante todo o processo de elaboração desta Tese

Aos pós-graduandos Marta Medeiros, Jacqueline Miranda de Lima e Lessiléia Gomes Souza, pelo companheirismo e atenção durante a elaboração desta Tese

Aos demais professores, médicos e demais pós-graduandos da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina, pelos convívio ao longo deste Trabalho

Aos secretários Magali Angélica Romano, Valdir Melegni Sophia da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP, pelo auxílio e atenção durante a elaboração desta Tese

Aos funcionários Rosa, Renato, Evanir, Denise e Goreti da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP, pelo auxílio, apoio e amizade

Aos meu pai, pela dedicação com a família, contribuição para minha formação médica e pessoal

Aos meus irmãos, que tantos são para serem listados, pelo apoio e confiança durante toda minha jornada de vida

Lista de Figuras

- Figura 1** Curva de sobrevida global de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em ambos os grupos
- Figura 2** Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em relação à expressão de Ki67
- Figura 3** Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em relação à expressão de p53
- Figura 4** Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto com dois marcadores negativos versus dois marcadores positivos
- Figura 5** Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto com pelo menos um marcador negativo versus pelo menos um marcador positivo.....

Lista de Tabelas

Tabela 1	Distribuição dos pacientes segundo a idade nos dois grupos
Tabela 2	Distribuição dos pacientes segundo o sexo nos dois grupos
Tabela 3	Distribuição dos pacientes segundo estágio pós-operatório nos dois grupos
Tabela 4	Distribuição dos pacientes quanto ao marcador p53 nos dois grupos
Tabela 5	Distribuição dos pacientes segundo Ki67 nos dois grupos
Tabela 6	Distribuição dos grupos quanto ao desenvolvimento de metástases
Tabela 7	Distribuição do marcador p53 e aparecimento de metástase no grupo Controle e Caso.....
Tabela 8	Distribuição do marcador Ki 67 e aparecimento de metástase no grupo Controle e Caso.....

Lista de abreviaturas e símbolos

TNM	Tumor Linfonodo Metástase
p	Nível descritivo de probabilidade
UICC	International Union Against Câncer
QT	Quimioterapia
RT	Radioterapia
TC	Tomografia Computadorizada
INCA	Instituto Nacional de Câncer
Kg	Quilograma
cm	Centímetro
mm	Milímetro
%	Porcentagem

SUMÁRIO

Dedicatória	
Agradecimentos	
Lista de Figuras.....	
Lista de Tabelas	
Lista de Abreviatura	
Resumo.....	
1. INTRODUÇÃO	
2. OBJETIVOS	
3. REVISÃO DE LITERATURA	
3.1 Anatomia.....	
3.2 Etiologia	
3.3 Epidemiologia	
3.4 Genética	
3.5 Tratamento	
3.5.1 Cirurgia	
3.5.2 Quimioterapia	
3.6 Proliferação Celular	
3.7 Antígeno Nuclear Ki67	
3.8 Proteína p53.....	
3.9 Proteína p16	
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	
4.1 A Casuística	
4.2 Métodos	
4.3 Análise estatística.....	
5. RESULTADOS.....	

6. DISCUSSÃO	
7. CONCLUSÕES	
9. ANEXOS.....	
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
Abstract	

Resumo

Introdução: O câncer colorretal é uma das neoplasias mais freqüentes e a recorrência local é um grande desafio, pois provoca sintomas que incomodam o paciente e são de difícil resolução médica. . A cirurgia é a modalidade de tratamento mais importante para os tumores de reto e a radioterapia associada a quimioterapia aumentam significativamente a taxa de sobrevida, mas também aumenta a morbidade

Objetivos: Avaliar os marcadores moleculares p53 e Ki67 em pacientes portadores de câncer de reto submetidos a tratamento neoadjuvante em relação a pacientes submetidos a tratamento adjuvante e comparar a expressão de marcadores moleculares Ki67 e p53 nos dois grupos com a sobrevida.

Resultados: Dos 61 indivíduos elegíveis para o estudo, sendo 31 no grupo Caso e 30 do grupo controle, 63,95% tinham idade entre 50-70 anos, 50,8% do sexo masculino e 53% do estágio III.

Em relação aos marcadores moleculares 64,5% do grupo Caso e 63,34% do grupo Controle apresentavam-se com p53 negativo ($p=0,865$) e 9,67% do grupo Caso e 33,33% do grupo Controle tinham Ki67 positivo ($p=0,052$).

Quando avaliamos a presença de metástase em ambos os grupos, verificamos que 19,35% do grupo Caso e 26,67 do grupo controle desenvolveram metástase ($p=.0.708$). Em relação ao marcador p53 e desenvolvimento de metástase encontramos 37,5% do grupo Controle e 16,67% do grupo Caso positivos e metastáticos. O marcador Ki67 Em relação ao Ki67 e desenvolvimento de metástases observamos que no grupo controle, o marcador foi negativo em 5 (62,50%) pacientes dos que evoluíram com metástases e em 15 (68,18%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=1,00$). No grupo caso o marcador foi negativo em 5 (83,34%) dos pacientes que evoluíram com metástases e em 23 (82,14%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=0,488$),

Não observamos diferença na sobrevida dos pacientes dos dois grupos estudados. A sobrevida dos pacientes com tumores que não expressaram Ki67 foi superior aos que expressaram Ki67 (94,7% versus 40,38% após 5 anos de acompanhamento), ($p=0,041$). A sobrevida dos pacientes com tumores que não expressaram p53 foi

semelhante aos que expressaram p53 (60,56% versus 48,12% após 5 anos de acompanhamento), ($p=0,35$).

Quando avaliamos a sobrevida dos pacientes com tumores que expressaram dois marcadores positivos (p53+Ki67+) não diferiu dos que expressaram os dois marcadores negativos (p53-Ki67-), ($p=0,16$). A sobrevida dos pacientes com tumores que expressaram pelo menos um marcador positivo (p53+Ki67- ou p53+Ki67+ ou p53-Ki67+) não diferiu dos que expressaram pelo menos um marcador negativo (p53+Ki67- ou p53-Ki67- ou p53-Ki67+) ($p=0,17$).

Ao nível de significância de 5%, observou-se tendência de aumento no risco de morte para pacientes Ki67 positivos comparando-os com pacientes Ki67 negativo após ajustar pelas variáveis: faixa de idade, sexo e grupo em análise de regressão múltipla de Cox.

Conclusão: A positividade do p53 foi semelhante os tumores ressecados submetidos a quimio e radioterapia quando comparados aos tumores não tratados. Pacientes com tumores p53 positivos tiveram sobrevida semelhante aos com expressão negativa desta proteína. O percentual de tumores ressecados submetidos a quimio e radioterapia prévia expressaram Ki 67 em menor número quando comparados aos tumores não tratados. Pacientes com tumores com expressão negativa KI67 tiveram maior sobrevida.

I. INTRODUÇÃO

O câncer colorretal é uma das neoplasias mais freqüentes, sendo o reto responsável por aproximadamente 40% destes tumores. Embora, a maioria destes tumores sejam ressecáveis a recorrência local é um grande desafio, pois provoca sintomas que incomodam o paciente e são de difícil resolução médica. A cirurgia é a modalidade de tratamento mais importante para os tumores de reto e estudos recentes reportam taxa de recorrência local entre 20 a 36% dos tumores com envolvimento de órgãos adjacentes (Holm T et al,1996) e sobrevida de 5-10% após tratamento cirúrgico exclusivo (Polk, 1979; Yeung, 1993).

A maioria dos pacientes com câncer de reto apresenta ao diagnóstico tumor confinado ao reto e mesoreto. A radioterapia aumenta significativamente a taxa de sobrevida, mas também aumenta a morbidade (Holm T et al, 1996). A excisão de mesoreto combinada com a radioterapia tem sido relacionada à diminuição da recorrência local em dois anos de 2,4% comparado com a excisão (Crane et al, 2003).

O tratamento neoadjuvante e adjuvante com radioterapia com ou sem quimioterapia tem mostrado aumento do controle local (O'Connell et al, 1994; Frykholm et al 2001). Quando introduzimos a forma de tratamento neoadjuvante usando quimioterapia associado à radioterapia alguns benefícios práticos e teóricos são observados como: menor toxicidade aguda e crônica, aumento da radiosensibilidade por haver maior oxigenação do local irradiado, probabilidade de preservação do esfíncter e introdução de terapia sistêmica em doença precoce com maior possibilidade de erradicação de micrometástases.

A nucleoproteína p53, tem papel essencial na regulação do ciclo celular especialmente na transição de G0 para G1, é encontrada em baixos níveis nas células normais em contraposição com elevada expressão imunohistoquímica em células cancerosas. Mutações de p53 que ocorrem em diferentes tipos de câncer causam perda da atividade supressora do crescimento celular.

Um dos resultados finais de muitas mudanças na oncogênese do câncer é o aumento na proliferação das células. O Ki67 é uma proteína nuclear envolvida na regulação do ciclo celular e que está presente em todas as fases do ciclo celular exceto G0 e fase inicial de G1 sendo um bom marcador para avaliar reprodução celular

Garrido MC et al, 1992). O índice de proliferação celular representado pelo Ki67 tem valor prognóstico e/ou valor preditivo em diferentes tipos de tumor (Brown DC et al., 2002), embora no câncer colorretal os resultados parecem ser conflitantes Palmqvist R et al, 1999; Willett et al, 1998).

Neste estudo, a imunexpressão de p53 e Ki67 foi estudada e correlacionada com aspectos anátomo-clínicos, sobrevida e prognóstico.

II. OBJETIVOS

1. Avaliar os marcadores moleculares p53 e Ki67 em pacientes com câncer de reto submetidos a tratamento neoadjuvante em relação aos submetidos a tratamento adjuvante
2. Comparar a expressão de marcadores moleculares Ki67 e p53 nos dois grupos com a sobrevida.

III. REVISÃO DE LITERATURA

Os tumores malignos que acometem o cólon e o reto a cada ano somam cerca de 945 mil casos novos, sendo a quarta causa mais comum de câncer no mundo e a segunda em países desenvolvidos (Globocan 2006).

Ao se analisar a distribuição proporcional da ocorrência de casos de câncer na população brasileira, observa-se o número de casos novos estimados no Brasil em 2006 foi de 11.390 casos em homens e 13.970 casos em mulheres, assim como em outros países encontra-se entre os cinco tipos mais incidentes, com risco estimado de 12 casos novos a cada 100 mil homens e 15 casos novos a cada 100 mil mulheres (INCA 2006), sendo que esta incidência varia de acordo com as diversas regiões país e do mundo.

A sobrevida média estimada é de 44%, sendo o segundo tipo de câncer mais prevalente no mundo (depois do câncer de mama), com uma estimativa de 2,4 milhões de pessoas vivas diagnosticadas nos últimos cinco anos (Globocan 2006). Cerca de 40% dos tumores colorretais malignos localizam-se no reto.

Sua ocorrência é incomum antes dos 50 anos, mas pode ocorrer em qualquer faixa etária. A taxa de incidência aumenta substancialmente após a sexta década de vida e continua em ascendência de acordo com o avanço da idade (Edwards BK et al, 1973-1999).

Outros fatores epidemiológicos que podemos destacar são o tabagismo, os fatores ocupacionais, a radioterapia, a doença inflamatória intestinal, presença de pólipos adenomatosos e os “casos de novo” que se originam na mucosa colorretal sem lesão adenomatosa progressiva ou associada (Baron JA et al, 1995).

O cólon e o reto são sítios freqüentes de neoplasias primárias no corpo humano sendo que os adenocarcinomas representam quase a totalidade dos cânceres colorretais. Observam-se múltiplos fatores envolvidos na etiologia deste câncer, e os principais fatores de risco são de origem familiar, alimentar, genética ou por doença inflamatória prévia.

III.a. Câncer de reto

O câncer de reto representa uma doença dos países industrializados, como Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, Austrália, Nova Zelândia e Dinamarca onde o consumo de carnes, gorduras e carboidratos é alto. Essa distribuição geográfica indica o papel dos fatores ambientais, provavelmente dietéticos, na etiopatogenia. Dentre estes fatores dietéticos destacamos a ingestão de fibras insolúveis como fator protetor por reduzir a concentração fecal de ácidos biliares e reduzir a ingestão de gordura, especialmente as saturadas, com maior risco para o câncer retal.

Os últimos 12cm do trato digestivo constituem o reto e é dividido em três partes: o reto superior, médio e o inferior. A porção distal do reto é afunilada e é responsável pela continência de fezes. A necessidade de dividir o intestino é para que seja individualizado o seu sistema de nutrição sanguínea bem como seu funcionamento especializado e a produção de sintomas relacionados a doenças específicas deste local. Desta forma é possível ressecar um destes segmentos sem comprometer a irrigação dos demais.

A porção esfínteriana do reto se inicia na porção superior do anel muscular anorretal clinicamente palpável a 4-6cm da linha anocutânea (Gray et al, 1918).

O peritônio tem relação com os dois terços superiores do reto, recobrando inicialmente a porção anterior, a porção lateral e a parede anterior da porção inferior. Este deixa a parede anterior do reto para refletir-se anteriormente ao intestino com importância cirúrgica em relação à remoção da porção inferior do reto. Há diferenças anatômicas relacionadas ao sexo, quanto à altura de escavação retovesical e retouterina, localizadas no homem e mulher, respectivamente. O reto é envolvido por um denso tecido proveniente da fáscia endopélvica que se funde posteriormente com a fáscia que recobre o sacro e o cóccix. O tubo fascial é fracamente preso à parede retal por um tecido celular que permite a distensão intestinal (Gray D J et al, 2000). O peritônio e a musculatura do diafragma pélvico dividem a pelve em três compartimentos anatômicos: cavidade peritonia, espaço extraperitonia (supraelevador) e a fossa ísquiorectal (Webb W R et al, 2000).

Os vasos linfáticos são dispostos em 3 grupos e geralmente seguem o trajeto do vaso sanguíneo correspondente. Os linfonodos da porção superior do reto

dirigem-se para os linfonodos mesentéricos inferiores, os da porção mediana para os linfonodos sacrais, ilíacos internos e ilíacos comuns e o grupo mais inferior drena nas duas direções(Gardner E et al 1964).

Apesar da maioria dos cânceres retais localizados no reto médio e inferior serem facilmente diagnosticáveis pelo toque digital do reto, grande parte desses cânceres não produz sintomas antes de se tornarem moderadamente avançados. O sangramento representa o sinal mais comum, mas é freqüentemente atribuída a doença hemorroidária a qual, devido à sua alta prevalência, representa uma condição associada comum. O sangramento geralmente ocorre em pequena quantidade e é associado a fezes bem formadas. A eliminação de muco também é um sinal comum e a anemia não representa condição essencial ao diagnóstico. O aumento do número de evacuações e a sensação de evacuação incompleta bem como a urgência são sintomas-chave para o diagnóstico, embora ocorram para os tumores que ocupam um certo volume na luz retal, e, dessa forma, mais avançados. O toque retal pode fornecer informações importantes, como massas endurecidas, alterações da parede do reto e sangramento pela eventual friabilidade da mucosa retal. A dor e a obstrução são eventos raros (Cancer Medicine,2002).

Os exames de laboratório poderão fornecer algumas informações tais como anemia por deficiência de ferro, conseqüente à perda crônica de sangue por um tumor ulcerado, alterações das enzimas hepáticas (aminotransferases, gama glutamil transferase, fosfatase alcalina) por eventuais metástases hepáticas. A pesquisa de sangue oculto tem o objetivo de detectar quantidades microscópicas de sangue nas fezes que, normalmente, não deve ser encontrado (Tomeo CA, 1999). É um exame de baixo custo, rápido e fácil de ser realizado, mas devemos ter em mente que nem todos os tumores sangram. Outro exame que, embora não seja específico para câncer de reto é o Antígeno Carcinoembrionário (CEA), o qual deve ser solicitado após o diagnóstico (Gold P et al 1965). A colonoscopia permite a visualização do reto, proporcionando a visão direta da lesão, bem como a possibilidade de biópsias dirigidas para realização do exame anatomopatológico e a retirada de pólipos adenomatosos, os quais são lesões pré-cancerosas (Lieberman et al, 2000). A retosigmoidoscopia também tem o seu papel no diagnóstico dos

tumores de reto e sigmóide (Lieberman et al 2001). Os exames radiológicos contrastados, como o enema opaco, outrora muito utilizado, deve ser realizado somente em situações especiais, ou em situações em que a colonoscopia não esteja disponível ou formalmente contra indicada.

Uma vez confirmado o diagnóstico de câncer de reto, devemos promover o estadiamento do tumor, a fim de determinar a sua extensão, o comprometimento de linfonodos peri-tumorais, a invasão de órgãos adjacentes e eventuais metástases à distância. A partir desta avaliação, poderemos estabelecer a melhor opção de tratamento (Beahrs O, 1992). Este estadiamento compreende as fases pré, trans e pós-operatória. Os exames fundamentais realizados no pré-operatório serão a radiografia simples de tórax, a tomografia computadorizada abdominal total e/ou ecografia abdominal total. A radiografia do tórax nos prestará importantes informações sobre a existência, ou não, de metástases pulmonares. A tomografia computadorizada do abdome nos dará uma avaliação da extensão do tumor a órgãos adjacentes, adenomegalias e/ou metástases à distância. As metástases hepáticas ocorrem em cerca de 40% dos tumores de reto, sendo que, cerca da metade delas já se apresenta ao diagnóstico do tumor. A ecografia abdominal total revela, com boa acuidade, a presença de gânglios linfáticos acometidos. Exames mais recentes como a ultra-sonografia endoscópica retal e a tomografia computadorizada com a emissão de pósitrons, aumentaram a sensibilidade diagnóstica dos tumores de reto, propiciando uma maior fidedignidade no estadiamento pré-operatório. Deve-se salientar, entretanto, que a abordagem cirúrgica dos tumores de reto é de fundamental importância para um correto e mais abrangente estadiamento destas lesões, afim de que possamos estabelecer melhor o prognóstico e tratamento para os pacientes. Este estudo trans-operatório consiste na rigorosa inspeção da cavidade abdominal, em busca de possíveis implantes peritoniais, além da inspeção e palpação do fígado, com o objetivo de identificar metástases hepáticas que possam ter passado despercebidas nos exames de imagens realizados no pré-operatório, em especial as lesões com menos de 1,0 cm de diâmetro. O acompanhamento pós-operatório consiste na análise dos exames, acrescido do exame anatomopatológico, segundo a classificação TNM (Quadro 1,2)

do tecido ressecado na cirurgia. Ao exame anatomopatológico, o tipo histológico do tumor mais freqüentemente encontrado é o adenocarcinoma que perfaz cerca de 90% dos casos. Histologicamente, estes tumores são classificados como: a) bem diferenciados; b) moderadamente diferenciados; c) pouco diferenciados e d) indiferenciados ou anaplásicos. Com base no seu grau de diferenciação, os adenocarcinomas são classificados como baixo, moderado e alto grau de malignidade, sendo a maioria dos tumores do reto, pertencentes ao grau moderado. As informações obtidas pelo estadiamento são essenciais para o planejamento do tratamento, bem como para o estabelecimento do prognóstico destes pacientes.

Quadro 1: Classificação TNM do câncer de reto

Tumor primário (T)

Tx Tumor primário não pode ser avaliado

T0 Sem evidência do tumor primário

Tis Carcinoma in situ: intraepitelial ou invasão da lâmina própria

T1 Tumor invade a submucosa

T2 Tumor invade a muscular própria

T3 Tumor invade a subserosa ou tecidos não-peritonizados pericólicos ou perirretais

T4 Tumor invade outros órgãos ou estruturas / perfuração

Linfonodos (N)

Nx Linfonodos regionais não podem ser avaliados

N0 Ausência de metástases linfonodais

N1 Até 3 linfonodos regionais perirretais acometidos

N2 Mais do que 3 linfonodos regionais perirretais acometidos

N3 Linfonodo (s) acometidos em troncos vasculares identificados ou linfonodos apical (is)

Acometido (s)

Metástase (M)

M0 sem metástase

M1 Metástase á distância

Quadro 2: Estadiamento do câncer de reto segundo a classificação TNM

Estádio	T	N	M
0	is	N0	M0
I	T1	N0	M0
IIA	T2	N0	M0
IIB	T3	N0	M0
IIIA	T1-2	N1	M0
IIIB	T3	N1	M0
IIIC	Tqq	N1-3	M0
IV	Tqq	Nqq	M1

Tqq: qualquer extensão do tumor

Nqq: comprometimento ou não de linfonodos

III. b. Tratamento do Câncer de Reto

A remoção do tumor através da cirurgia é o pré-requisito básico para a cura. Com a introdução da amputação abdominoperineal como técnica cirúrgica de eleição para os tumores de reto inferior, o percentual de falência local foi reduzido significativamente, resultando, no entanto, em maior morbidade e mortalidade além de afetar a qualidade de vida do paciente diante da colostomia definitiva. A preservação do esfíncter anal depende principalmente da localização do tumor, mas também das características do tumor e do paciente. Tumores de reto alto são facilmente ressecados mantendo-se o esfíncter, ao passo que nos tumores de reto baixo este procedimento é quase impossível.

III.b.1. Cirurgia

A escolha da técnica cirúrgica a ser utilizada depende fundamentalmente do conhecimento do modo de propagação da neoplasia através dos vasos linfáticos. Nas neoplasias do segmento retal proximal, a disseminação linfática se faz através de três

pedículos retais ou hemorroidários. A amputação abdominoperineal de Miles com estabelecimento da colostomia definitiva, constitui a operação de escolha nestes casos. Nas neoplasias do segmento retal proximal, a disseminação linfática se faz apenas, ou preponderantemente, através do pedículo retal ou hemorroidário superior.

As operações conservadoras, isto é as que poupam o aparelho esfíntérico de contensão fecal, constituem, assim, conduta oncológicamente racional, tendo em vista que as metástases não progredem, senão excepcionalmente, mais que 2 cm em direção caudal, limite este sempre ultrapassado nas respectivas ressecções.

As operações conservadoras podem ser executadas através de várias técnicas, duas das quais são consideradas fundamentais e conhecidas como ressecção anterior do reto e retocoliectomia abdominoperineal.

A anastomose pode ser realizada num só tempo ou em dois tempos, tendo esta ultima a finalidade de prevenir ou reduzir ao mínimo a possibilidade de deiscência da sutura anastomótica, complicação muito freqüente na sutura imediata.

III.b.2. Radioterapia

A partir da década de 60, o uso da radioterapia pré-operatória (neoadjuvante) começou a ser difundido por apresentar vantagens biológicas, capazes de aumentar o potencial de cura das ressecções (Camma C et al,2000).

A radioterapia associada à quimioterapia começou a ser indicada no pré-operatório com finalidade de aumentar o índice de preservação do esfíncter anal, de melhorar a qualidade de vida e assim irradiar apenas o tecido comprometido, diminuindo a maioria dos efeitos colaterais que acompanham o paciente portador de neoplasia de reto baixo (Swedish Rectal Cancer Trial, 2000).

As células irradiadas sofrem alterações genéticas e metabólicas, que culminam em sua morte durante o processo de divisão celular. Células bem nutridas e oxigenadas são três vezes mais sensíveis aos efeitos da radiação do que células hipóxicas (Pahlman L, 1990; Mohiuddin M, 1993), o que confere uma vantagem adicional à radioterapia pré-operatória, quando os tecidos ainda estão íntegros e bem vascularizados.

A radioterapia pré-operatória atua sobre o tumor, diminuindo a população de células

tumorais viáveis (Rifkin D M, 1989), assim como é capaz de eliminar grupos de células tumorais presentes nos tecidos peri-retais, nos vasos linfáticos e linfonodos satélites à lesão. Dessa forma pode levar à diminuição do volume tumoral e regressão do estágio anátomo-patológico do tumor, tornando operáveis lesões que inicialmente pareciam clinicamente irresssecáveis (Horn A,1990). Seu uso pode aumentar a margem de segurança circunferencial, esterilizando oncológicamente os tecidos peri-retais, assim como pode atuar na margem distal, tornando operáveis por ressecção anterior, tumores que inicialmente seriam tratáveis por ressecção abdominoperineal (Marks G, 1991). Deve-se ressaltar que essa mudança de conduta deve-se principalmente à diminuição das dimensões do tumor, permitindo o acesso cirúrgico a pequenas margens cirúrgicas distais, suficientes para o restabelecimento do trânsito, e não à utilização de áreas previamente ocupadas pelo tumor para a realização da anastomose.

III.b.3. Quimioterapia

O tratamento de tumores do reto médio e baixo com quimioterapia e radioterapia tem uma resposta favorável quando as células se encontram com índice de proliferação aumentado. A avaliação da atividade proliferativa de uma neoplasia é de auxílio na caracterização do fenótipo maligno, na determinação dos seus graus de malignidade e na estimativa do seu crescimento, sendo uma inferência a respeito do seu comportamento biológico.

Conforme os dados do National Cancer Database para doença no estágio III a sobrevida esperada em 5 anos é de 55,1% para os tumores T1-2N1; 35,3% para os T3-4N1 e 24,5% para qualquer tumor N2. Todos estes grupos de pacientes quando submetidos a tratamento adjuvante têm melhor prognóstico (Greene et al, 2003). A partir do consenso do National Institute of Health, 1990, o tratamento combinado passou a ser preconizado para todos os pacientes com câncer de reto em estádios II e III (NIH Consensus, 1990). O tratamento neoadjuvante comumente associa quimioterapia e radioterapia nas lesões avançadas (T3-4 e LN+), principalmente nas lesões baixas, com finalidade de preservação de esfíncter anal conseguida em 65-77% das vezes com resposta patológica completa entre 15-30%(Wagman R et al, 1998). O tratamento combinado neoadjuvante confere maior toxicidade, porém, sem

comprometer a aderência dos pacientes ao tratamento ou a chance de curabilidade cirúrgica (Bosset et al, 2004). Além disso, o tratamento combinado iniciado concomitantemente confere maior sobrevida livre de doença.

Para pacientes com doença no estágio II e III, os estudos têm mostrado benefício do tratamento neoadjuvante seguido de ressecção anterior baixa com ressecção total do mesoreto, buscando margem proximal de 5cm sempre que possível. Estudo randomizado alemão com 823 pacientes com lesão T3-4 ou com linfonodos positivos (LN+) avaliou radioterapia (50Gy) combinada a 5FU (1000mg/m²/dia) endovenosa infusão contínua na primeira e quinta semana de radioterapia no pré ou no pós-operatório e observou redução de recidiva local, menor taxa de toxicidade grau 3 e 4 aguda e tardia a favor do tratamento neoadjuvante assim como aumento das chances de preservação do esfíncter anal (Sauer et al,2004). A resposta ao tratamento neoadjuvante foi associada a uma redução no risco relativo de mortalidade e de recidiva local quando se observou resposta patológica em mais de 95% da lesão inicial.

O TNM após tratamento é um fator prognóstico importante, podendo haver 97% de sobrevida global em 5 anos para pacientes com resposta patológica completa (Wagman R et al,1998). Os pacientes com lesão pT 0-2 após tratamento neoadjuvante apresentaram melhor sobrevida global e recidiva local independente do estágio clínico pré-tratamento, quando comparados a pacientes que não tiveram resposta evidente (Int Valentin V et al,2002).

Com relação ao tratamento neoadjuvante, a combinação de radioterapia e quimioterapia é superior a radioterapia ou quimioterapia exclusiva para controle local (Lee J L et al, 2002).

III.c. Farmacologia Clínica das Drogas Usadas em Câncer de Reto

III.c.1. 5- fluorouracil

O 5-fluorouracil é uma fluoropirimidina antimetabólito. Tem ação citotóxica intracelular generalizada por inibir a enzima timidilato sintetase resultando na inibição da síntese de DNA e na síntese e função do RNA.

A farmacologia clínica do 5-fluorouracil (5FU) é caracterizada por uma variabilidade interpacientes, cinética de eliminação não linear e bioviabilidade oral

errática (11). Após infusão intravenosa em bolus, 5FU desaparece rapidamente no plasma com meia vida de 8-14 minutos. A concentração no plasma depende da dose administrada e da taxa de infusão; o clearance de 5FU é mais rápido quando dado em infusão contínua que em bolus e a dose diária tolerável diminui com o aumento da duração de infusão da droga. O 5FU é eliminado primariamente por metabolismo hepático e menos de 5% da droga é excretada por via urinária (Drug Information Handbook, 2001).

III.c.2. Uracil e Tetrahydrofuranyl (UFT)

O UFT é um agente antineoplásico, antimetabólito usado no tratamento de câncer colorretal adjuvante e metastático. Tegafur é uma pró-droga do 5-Fluorouracil (5FU) que é convertido in vivo através do citocromo P-450 e via timidina fosforilase presente no tumor e na célula sadia. O Uracil é um inibidor competitivo de dehydropyrimidina dehydrogenase (DPD) enzima responsável pelo catabolismo de aproximadamente 85% do 5FU. A melhor taxa molar de Uracil/ Tegafur estabelecida em animais é de 4:1. A dose usual recomendada é 300mg/m²/dia (expressa pelo Tegafur) em combinação com ácido folínico via oral (Drug Information Handbook, 2001).

III.c.3. Oxaliplatina

A oxaliplatina é um agente alquilante. Sua ação é baseada em hidrólise intracelular, ligando-se a DNA, RNA e proteínas. Tem como efeito colateral a neurotoxicidade ocorrendo na maioria dos pacientes que recebem dose cumulativa de 540mg/m². O sintoma mais comum é parestesia de mãos, pés e região perioral que geralmente é reversível após 7 dias de início da infusão da droga. Após 2 horas de infusão de oxaliplatina, 40% da platina sanguínea está nos eritrócitos, 33% se encontra em proteína plasmática e 27% livres no plasma. Sua eliminação ocorre 30%-50% via renal em 2-5 dias após inicio de infusão; no entanto, não tem sido observada toxicidade renal, não necessitando ajuste de dose para os pacientes com insuficiência renal (Drug Information Handbook, 2001).

III.c.4. Irinotecano

O irinotecano é um derivado semi-sintético da camptotecina que inibe a enzima Topoisomerase I. A inibição desta enzima leva a parada de replicação do DNA e conseqüentemente morte celular. As toxicidades mais observadas desta droga são neutropenia e diarréia podendo ser mais intensa em pacientes que receberam irradiação pélvica e em pacientes com disfunção hepática (por exemplo, com bilirrubinas elevadas). O irinotecano é convertido inicialmente em SN-38 pela enzima carboxiesterase presente na mucosa intestinal, plasma, fígado, e em alguns tumores. A SN-38 é conjugada com o glucoronide, sendo, porém menos ativa que a SN-38 isolada. A eliminação é feita primariamente via fecal e biliar. É usado em primeira linha para câncer colorretal metastático associado a 5 fluorouracil e ácido folínico.

Não existe recomendação específica para redução inicial de dose em portadores destas alterações específicas, mas é prudente que seja iniciado o tratamento com doses menores que as habituais quando estas alterações se encontram presentes. A recomendação para modificação da dose, na ausência de tratamento concomitante à radioterapia ou disfunção hepática é baseada na tolerância dos pacientes em terapias ou ciclos prévios (Drug Information Handbook, 2001).

III.d. Proliferação Celular

A avaliação da atividade proliferativa de uma neoplasia é de auxílio na caracterização do fenótipo maligno, na determinação dos seus graus de malignidade e na estimativa do seu crescimento, sendo uma inferência a respeito do seu comportamento biológico.

Pesquisas histopatológicas envolvem direta ou indiretamente, a avaliação da proliferação celular, diferenciação celular e a regulação destes mecanismos.

Através da representação do ciclo celular, observamos que as células obedecem a um ciclo de multiplicação pré-determinado. As células em repouso (fase Go) podem ser induzidas ao processo de multiplicação, entrando em um ciclo cujo início da divisão celular (fase G1) resulta na maior síntese de proteínas, que continua com a síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA) (fase S), duplicação do DNA e

preparação para a mitose (fase G2), resultando no encadeamento do processo de divisão celular (fase M).

III d.1. Anticorpo Ki67

O anticorpo monoclonal Ki67 é uma imunoglobulina da classe G1 (IgG1) produzido contra antígeno nuclear específico de células de Reed-Sternberg, na Universidade de Kiel, Alemanha, e tem sua denominação por ter sido a sexagésima sétima placa de cultura de tecido (Gerdes, 1983).

Após teste por meio de imunoperoxidase, observou-se que enquanto a maioria dos anticorpos monoclonais gerados reagem com estruturas nucleares de todas as células testadas, o anticorpo monoclonal Ki67 reagia com um antígeno nuclear apenas de células em proliferação. Observou-se também que, a expressão deste antígeno reconhecido pelo anticorpo monoclonal Ki67 era induzida em linfócitos normais de sangue periférico após estímulo com fitohemaglutinina e que o seu desaparecimento ocorria após a diferenciação de células HL60.

Portanto, este antígeno nuclear parecia estar presente em células proliferativas e ausentes em células em repouso (Go). Gerdes et al, em 1983, demonstraram a expressão do antígeno nuclear Ki67 em células na fase G1, S, G2 e M do ciclo celular, e sua ausência em células quiescentes, na fase Go.

No início de G1, ela é identificada como numerosos focos no nucleoplasma, coincidindo com regiões satélites do DNA. Com a progressão da fase G1, sua presença nestas estruturas declina passando a ser identificada no nucléolo. Durante a fase S, permanece restrita ao nucléolo, podendo também ser observada no nucleoplasma na fase G2. Na fase inicial da mitose – prófase – o nucléolo desaparece e o Ki67 reorganiza-se, sendo detectável como fina rede intrincada associada à cromatina condensada. Durante a metáfase ela recobre os cromossomos e permanece unida à cromatina condensada durante a anáfase. Na telófase está novamente relacionada ao nucléolo. Deve-se ressaltar que a totalidade do Ki67 não está somente associada à cromatina, pois, após a ruptura da membrana nuclear, ela também pode ser detectada difusamente no citoplasma (End, Gerdes, 2000; Scholzen, Gerdes, 2000). A sua meia vida é estimada entre 60-90 min, com síntese e degradação, provavelmente

envolvendo proteossomos altamente regulados (Scholzen, Gerdes, 2000; Brown, Gatter, 2002).

A determinação do índice de proliferação celular em neoplasias através do anticorpo monoclonal Ki67 constitui um meio rápido e simples de avaliação da fração de crescimento das populações celulares humanas normais e neoplásicas (HAL et al, 1988).

III.d.2. Proteína p53

A proteína p53 humana, de localização nuclear, contém 393 aminoácidos e apresenta regiões altamente conservadas durante a evolução dos vertebrados, indicando um alto grau de importância funcional. Esta proteína atua como o fator de transcrição que regula a expressão de uma variedade de genes como o gene WAF1 (wild-type p53-activated fragment 1), que codifica uma proteína de 21kD, denominada p21. Esta proteína liga-se às quinases dependentes de ciclina, que são elementos imprescindíveis para a continuidade do ciclo celular, bloqueando as células na fase G1 do ciclo (Marx, 1993).

Esta parada do ciclo celular, na fase G1, permite que o sistema de reparo seja ativado para correção de eventuais erros no genoma ou caso este reparo não seja possível, iniciar-se-á o processo de apoptose (Lane, 1992).

As primeiras evidências de associação entre alterações de p53 nas neoplasias provêm de observações do aumento dos níveis desta proteína em células tumorais e a presença de anticorpos anti-p53 em uma porcentagem significativa de portadores de câncer.

A constatação de que a introdução do gene selvagem em células tumorais, com p53 mutado ou inativado, revertia o fenótipo neoplásico destas células, consolidou a importância deste gene na tumorigênese humana (Baker et al., 1990).

A proteína p53 normal tem uma vida média bastante curta, mensurada em minutos. Já a proteína mutada apresenta uma estabilidade maior permitindo a sua observação pelo método de imunohistoquímica. No relato de Finlay et al. (1988), a análise imunohistoquímica da proteína p53 mutada apontou níveis intracelulares altos em comparação ao achado nas células normais nas quais a proteína não foi

detectada. Provavelmente os altos níveis encontrados sejam devidos ao aumento da meia-vida da proteína mutada.

A detecção da proteína *p53* mutante parece conferir prognóstico pior para os tumores de reto tanto na sobrevida quanto em recidiva. Esta associação tem ocorrido independentemente de outros fatores, incluindo idade, estadiamento ou ploidia tumoral (RIBEIRO JR. et al., 2000; GALLEGO et al. (2000), A expressão da proteína *p53* mutada tem sido também associada a um maior potencial metastático no câncer colorretal .

A correlação entre positividade citoplasmática da proteína *p53* com melhor prognóstico em câncer de reto, mas não no câncer de cólon foi descrita por Roberts et al contradizendo outros estudos que relataram o acúmulo citoplasmático da *p53* a um fator pior prognóstico independente no câncer colorretal distal .

IV. CASUÍSTICA E MÉTODO

IV.1. Casuística

Foi realizada pesquisa retrospectiva, a partir de 1999, com 61 casos de indivíduos com diagnóstico clínico e anátomo-patológico de câncer de reto em acompanhamento no Ambulatório de Neoplasias do Trato Gastrointestinal da Universidade Federal de São Paulo. No banco de dados do Departamento de Anatomia Patológica do mesmo hospital foram verificados os cadastros desses 63 pacientes e os respectivos exames. Os pacientes tiveram seus prontuários revisados para levantamento dos dados clínicos: idade, sexo, cor, tempo de evolução e extensão da doença e acompanhados durante um tempo médio de quatro anos. Os exames anátomo-patológicos das peças cirúrgicas foram revisados e corados por imuno-histoquímica. O estágio pré-operatório foi feito por radiografia de tórax, tomografia de abdomen e colonoscopia.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo e está registrado no Sistema de Centro de Estudos e Pesquisa (CEP) sob número 0427/05.

Critérios de inclusão:

- ▶ diagnóstico de adenocarcinoma;
- ▶ performance status 0-2 segundo a WHO;
- ▶ ausência de tumores sincrônicos ou metástase à distância;
- ▶ estágio II e III.

Critérios de exclusão:

- ▶ performance status > 2 segundo WHO;
- ▶ estágio I e IV;
- ▶ presença de tumores sincrônicos;
- ▶ tratamentos prévios com quimioterapia e/ou radioterapia

Os pacientes foram divididos segundo a forma de tratamento em dois grupos

Grupo Caso: constituído por pacientes submetidos a tratamento neoadjuvante. Nestes a quimioterapia utilizada foi 5FU na dose de 325mg/m² em bolus (infusão em tempo menor que 5 minutos) associado a ácido folínico 20mg/m² intravenoso de segunda a sexta-feira na primeira e na quinta semana de radioterapia ou com UFT na dose de 300mg/m² via oral dividida em duas tomadas de segunda a sexta-feira concomitante à radioterapia.

A radioterapia foi feita na dose 5040 cGy fracionada 180cGy ao dia, 5 dias por semana, por 5 semanas.

Grupo Controle: constituído por pacientes submetidos a tratamento adjuvante. Neste grupo os pacientes foram submetidos a tratamento após quatro a 10 semanas da cirurgia com 5FU na dose de 325mg/m² associado a ácido folínico na dose de 20mg/m² de segunda a sexta-feira na primeira e na quinta semana de radioterapia, que foi realizada com 5040 cGy acrescido de um “boost” no leito tumoral.

Os 2 grupos receberam consolidação com quatro ciclos de quimioterapia com 5FU na dose de 425mg/m² associado ao ácido folínico 20mg/m² de segunda a sexta-feira 4 semanas após o término da radioterapia ou 4 a 10 semanas após a cirurgia.

Após o término do tratamento os pacientes foram acompanhados a cada 3 meses nos dois primeiros 2 anos e a cada 6 meses até completarem 5 anos. Além do exame clínico foram realizados, exames de sangue para avaliar hemograma, transaminases, fosfatase alcalina, gama glutamil transferase, uréia, creatinina e dosagem de CEA; ultra-som e/ou tomografia computadorizada de abdomen e pelve. Radiografia de tórax foi realizada anualmente e colonoscopia após 1 ano e a cada 2 anos após o diagnóstico até completar os cinco anos.

IV.2. Método

A peça cirúrgica foi submetida à avaliação histopatológica e foram realizadas as reações de imuno-histoquímica para detecção de p53 e Ki67 de todos os tumores.

O estudo histopatológico foi feito pelo mestrando, pelo seu orientador e por patologista especializado em sistema digestório em todas as etapas de revisão das lâminas.

O método imuno-histoquímico foi empregado no estudo de Ki-67 e p53. Foram capturados em grande aumento de 200x todos os campos representativos dos locais de neoplasia, nos quais se fez a contagem de células positivas e negativas para a expressão da p53 e Ki67.

Para esta reação foi utilizado o método da estreptavidina-biotina, que utiliza três reagentes e se baseia na capacidade da estreptavidina ligar-se à biotina. O primeiro reagente é o anticorpo primário que é específico para o antígeno a ser localizado. O segundo reagente é o anticorpo secundário que está conjugado à biotina e tem a capacidade de se ligar ao anticorpo primário. O terceiro reagente é o complexo peroxidase conjugado à biotina e estreptavidina, em cujos sítios livres da estreptavidina liga-se à biotina do anticorpo secundário. Por último, a utilização de um substrato cromogênico que permite a visualização do resultado da reação.

As células positivas com os núcleos fortemente corados em marrom foram contadas por diferença de cor com os outros núcleos em azul (células negativas). As células epiteliais negativas foram contadas manualmente com marcação na tela do monitor.

Quadro 2: Especificações dos anticorpos primários utilizados na reação imuno-histoquímica.

Anticorpo	Clone	Diluição	Recuperação antigênica	Fornecedor
Monoclonal mouse Anti-human Ki-67	MIB-1	1:600	Pressão	Immunotech – 0505
Monoclonal mouse anti-human p53	DO7	1:300	Microondas	Dako A/S -- M 7001

O anticorpo monoclonal Ki-67 reage com o antígeno nuclear presente em células com atividade proliferativa, apresentando positividade nuclear, atingindo níveis máximos nas fases G2 e M. A expressão antigênica é negativa em células quiescentes, nas fases G0 e G1 precoce do ciclo celular.

Foi usado como controle positivo, lâmina com corte histológico de amígdala comprovada anteriormente como Ki-67 positiva. Esta mesma lâmina serviu como controle negativo subtraindo-se o anticorpo primário da reação.

A análise quantitativa foi realizada por meio de análise digital de imagem, utilizando-se o programa IMAGE-PRO Plus, versão 3,0. As imagens foram geradas por um microscópio Olympus conectado a uma Camera Adaptor CMA-D2 da Sony que alimentava um computador, através de uma placa digitalizadora de imagem Image Capture Board .

O índice de proliferação celular de Ki-67 (Ki-67-LI) foi determinado pela razão entre o número total dos núcleos corados positivamente por pelo menos 1000 núcleos analisados. Acima de 50% os tumores foram considerados positivos para o antígeno em questão e abaixo de 50% foram considerados negativos.

O anticorpo anti-p53 utilizado reconhece um epitopo na poção N-terminal da proteína p53, entre os aminoácidos 19 e 26, reagindo tanto com a proteína selvagem como a mutante. Na célula com o gene p53 normal, a concentração da proteína está geralmente abaixo do nível de detecção por imuno-histoquímica, porém, quando o gene p53 está mutado ocorre um acúmulo da proteína pelo prolongamento de sua meia-vida. Devido a sua maior estabilidade é detectada pelo método imuno-histoquímico.

Foi usado como controle positivo, lâmina contendo corte histológico de amígdala comprovada anteriormente como p53 positiva. A mesma lâmina foi usada como controle negativo subtraindo-se o anticorpo primário da reação.

A positividade da reação foi observada pela coloração nuclear e a sua expressão foi analisada segundo os critérios de intensidade e distribuição nas células tumorais.

Crêterios utilizados para avalia o de p53 foram:

- (-) negativo: ausência de positividade em todas as células tumorais disponíveis no material ou células isoladas positivas, não excedendo 5% da amostra de células tumorais (até 5% de células tumorais com positividade nuclear foi considerada espúria).

- (+): presença de células isoladas ou não, com positividade leve, moderada ou intensa, entre 5 a 25% da amostra de células tumorais.

- (++): presença de positividade em até 50% das células tumorais disponíveis na amostra.

- (+++): presença de positividade acima de 50% das células tumorais.

Consideramos, para a análise estatística, os valores acima de 5% como positivos para p53.

Análise estatística

Foi avaliado o grau de resposta dos doentes após quimioterapia e radioterapia assim como o tempo entre o diagnóstico e a presença ou não de doença ou morte na última consulta. Foi quantificado o Ki67 e p53 através da imuno-histoquímica do tecido da peça cirúrgica de todos os pacientes. Foi realizada curva de sobrevida, de tempo livre de doença dos grupos tratados com quimioterapia na neoadjuvância e adjuvância.

Propor es foram comparadas em tabelas 2x2 utilizando-se teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando apropriado (Fisher et al,1993).

Curvas de sobrevivência foram determinadas segundo método do produto limite de Kaplan-Meier e comparadas via método Log-Rank (Kaplan EL et al,1958).

O efeito da variavel Ki67 na sobrevida foi avaliado utilizando-se modelo de regressao multipla de Cox (Cox DR,1972). Esta rela o foi ajustada pelas variaveis : faixa de idade, sexo e grupo.Todas as probabilidades de significância (valores de p) apresentadas são do tipo bilateral e valores menores que 0.05 considerados estatisticamente significantes. Valores de p entre 0.05 e 0.10 foram considerados marginalmente significantes.

O software SAS 9.1 (Statistical Analysis System , Cary, NC, USA) foi utilizado na anlise estatística de dados(5).

V) RESULTADOS

Entre os 61 pacientes avaliados, 31 pacientes fizeram tratamento neoadjuvante sendo considerados grupo Caso e 30 pacientes fizeram tratamento adjuvante e foram considerados como grupo Controle.

Idade dos pacientes

No grupo Controle: 20% dos pacientes tinham idade inferior a 50 anos; 60 % dos pacientes se encontravam entre 50-70 anos e 20% tinham mais de 70 anos. No grupo Caso: 22,58% dos pacientes tinham idade inferior a 50 anos, 67,73% tinham idade entre 50-70 anos e 9,67% dos pacientes tinham mais que 70 anos, (p=0,884) (TABELA 1).

TABELA 1. Distribuição dos pacientes segundo a idade nos dois grupos

Idade (anos)	Caso	%	Controle	%	Total		P
<50	7	22,58	6	20	13	21,31	0,884
50-60	12	38,70	12	40	24	39,34	
61-70	9	29,03	6	20	15	24,59	
>70	3	9,67	6	20	9	14,75	
Total	31	100	30	100	61	100	

Sexo dos Pacientes

Em relação ao sexo observamos que 49,18% do grupo controle e 38,70% do grupo caso eram do sexo feminino ($p=0,160$), (TABELA 2).

TABELA 2. Distribuição dos pacientes segundo o sexo nos dois grupos

Sexo	Caso	%	Controle	%	Total	%	P
Masculino	19	61,29	12	50,82	31	50,81	0,160
Feminino	12	38,70	18	49,18	30	49,18	
	31	100	30	100	61		

Estádio Clínico dos Pacientes

Quando analisamos os pacientes segundo o estágio anátomo-patológico da peça cirúrgica verificamos que no grupo caso, dois pacientes tinham tido remissão completa da doença após o tratamento neoadjuvante, 58% dos tumores eram estágio II e 35,60% dos pacientes estágio III. No grupo controle 47% dos tumores se encontravam no estágio II e 53% no estágio III ($p=0,182$), (TABELA 3).

Quando avaliamos o grupo Caso em relação ao estágio pré operatório 18 (58,06%) pacientes eram do estágio II e 13 (41,94%) pacientes eram do estágio III e avaliamos o estágio pré versus pós operatório ($p=0,33$).

TABELA 3. Distribuição dos pacientes segundo estágio pós-operatório nos dois grupos

Estádio	Caso	%	Controle	%	Total	P
0	2	6,40	0	0	2	P=0,182
II	18	58,00	14	47,00	32	
III	11	35,60	16	53,00	27	
	31	100	30	100	61	

Estádio	Pré	%	Pós	%	p
0	0	0	2	6,4	0,355
II	19	61,3	18	58	
III	12	38,7	11	35,6	

Estádio	caso	%	controle	%	total	p
0	2	6,4	0	0	2	0,182
II	18	58	14	47	32	
III	11	35,6	16	53	27	
Total	31	100	30	100	61	

Expressão do p53 nos tumores estudados

Quando avaliamos os marcadores moleculares quanto à expressão dos marcadores, o p53 foi negativo em 20 (64,52%) pacientes do grupo caso e em 19 (63,34%) pacientes do grupo Controle ($p=0,865$), (TABELA 4).

TABELA 4. Distribuição dos pacientes quanto ao marcador p53 nos dois grupos

P53	Caso	%	Controle	%	Total	P
Negativo	20	64,52	19	63,34	39	0,865
Positivo	11	35,5	11	36,66	22	
Total	31		30		61	

Expressão do Ki67 nos tumores estudados

O Ki67 foi negativo em 28 (90,32%) pacientes do grupo caso e em 20 (66,66%) do grupo Controle ($p=0,031$). (TABELA 5)

TABELA 5. Distribuição dos pacientes segundo Ki67 nos dois grupos

Ki67	Caso	%	Controle	%	Total	P
Negativo	28	90,32	20	66,66	48	0,052
Positivo	3	9,67%	10	33,33	13	
Total	31		30		61	

Desenvolvimento de metástases nos dois grupos

Quando avaliamos a presença de metástase em ambos os grupos, verificamos que 6 (19,35%) doentes desenvolveram metástase no grupo caso e 8 (26,66%) no grupo Controle ($p=0,708$), (TABELA 6).

TABELA 6. Distribuição dos grupos quanto ao desenvolvimento de metástases

Metástase	Caso	%	Controle	%	Total	%	P
Sim	6	19,35	8	26,67	14	22,95	0,708
Não	25	80,65%	22	73,33	47	77,04	
Total	31		30		61		

Relação entre desenvolvimento de metástases e p53

Em relação ao p53 e desenvolvimento de metástases observamos que no grupo controle, o marcador foi negativo em 5 (62,50%) pacientes dos que evoluíram com metástases e em 18 (81,81%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=0,536$). No grupo caso o marcador foi negativo em 5 (83,33%) dos pacientes que evoluíram com metástases e em 21 (67,74%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=0,634$), (TABELA 7).

TABELA 7. Distribuição do marcador p53 e aparecimento de metástase no grupo Controle e Caso.

		Metástase						P
		Com	%	Sem	%	Total	%	
Controle	Negativo	5	62,50	18	81,81	23	76,66	0,536
	Positivo	3	37,50	4	18,18	7	23,33	
	Total	8	100	23	100	30	100	
Caso	Negativo	5	83,33	16	51,61	21	67,74	0,634
	Positivo	1	16,67	9	29,03	10	32,25	
	Total	6	100	25	100	31	100	

Relação entre desenvolvimento de metástases e Ki67

Em relação ao Ki67 e desenvolvimento de metástases observamos que no grupo controle, o marcador foi negativo em 5 (62,50%) pacientes dos que evoluíram com metástases e em 15 (68,18%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=1,00$). No grupo caso o marcador foi negativo em 5 (83,34%) dos pacientes que evoluíram com metástases e em 23 (82,14%) dos que não apresentaram metástases durante o acompanhamento ($p=0,488$), (TABELA 8).

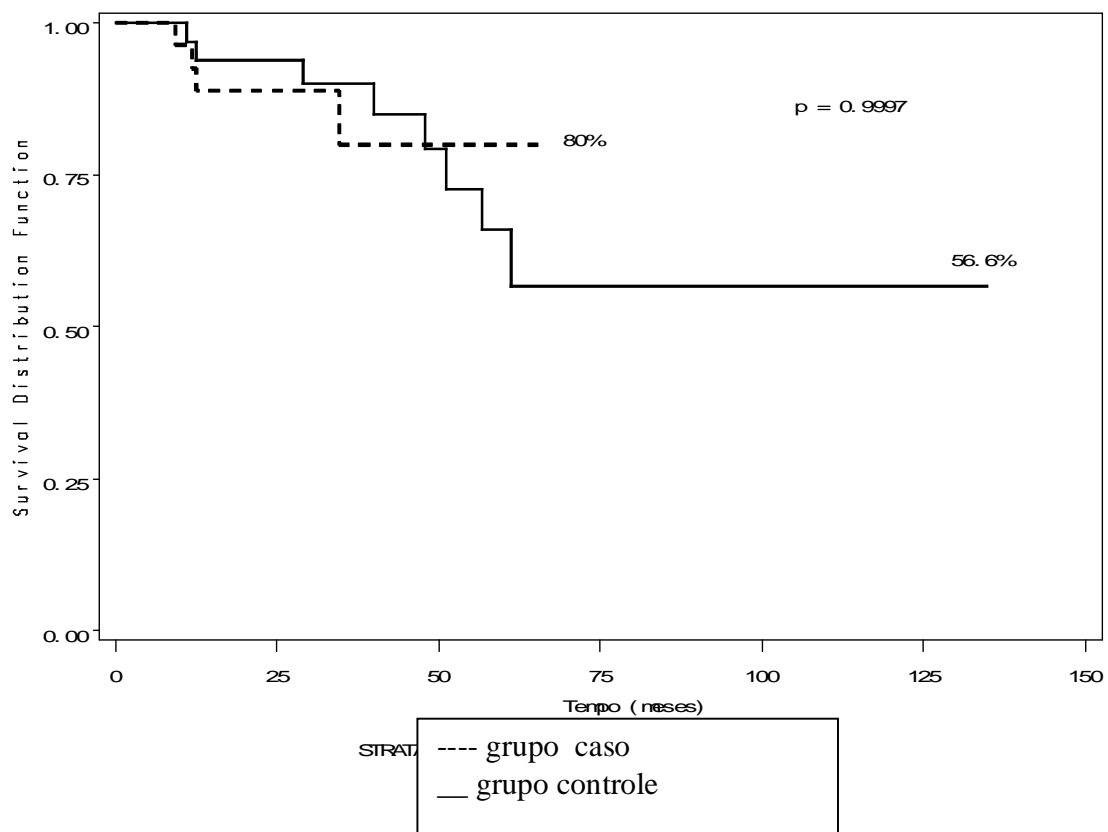
TABELA 8. Distribuição do marcador Ki 67 e aparecimento de metástase no grupo Controle e Caso.

		Metástase						
		Com	%	Sem	%	Total	%	P
Controle	Negativo	5	62,5	15	68,18	20	66,66	1,00
	Positivo	3	37,5	7	31,82	10	33,33	
	Total	8	100	22	100,00	30	100,00	
Caso	Negativo	5	83,33	23	92,00	28	90,32	0,488
	Positivo	1	16,67	2	8,00	3	9,68	
	Total	6	100	25	100,00	31	100,00	

Sobrevida dos Pacientes dos grupos caso e controle

Não observamos diferença na sobrevida dos pacientes dos dois grupos estudados (Figura 1).

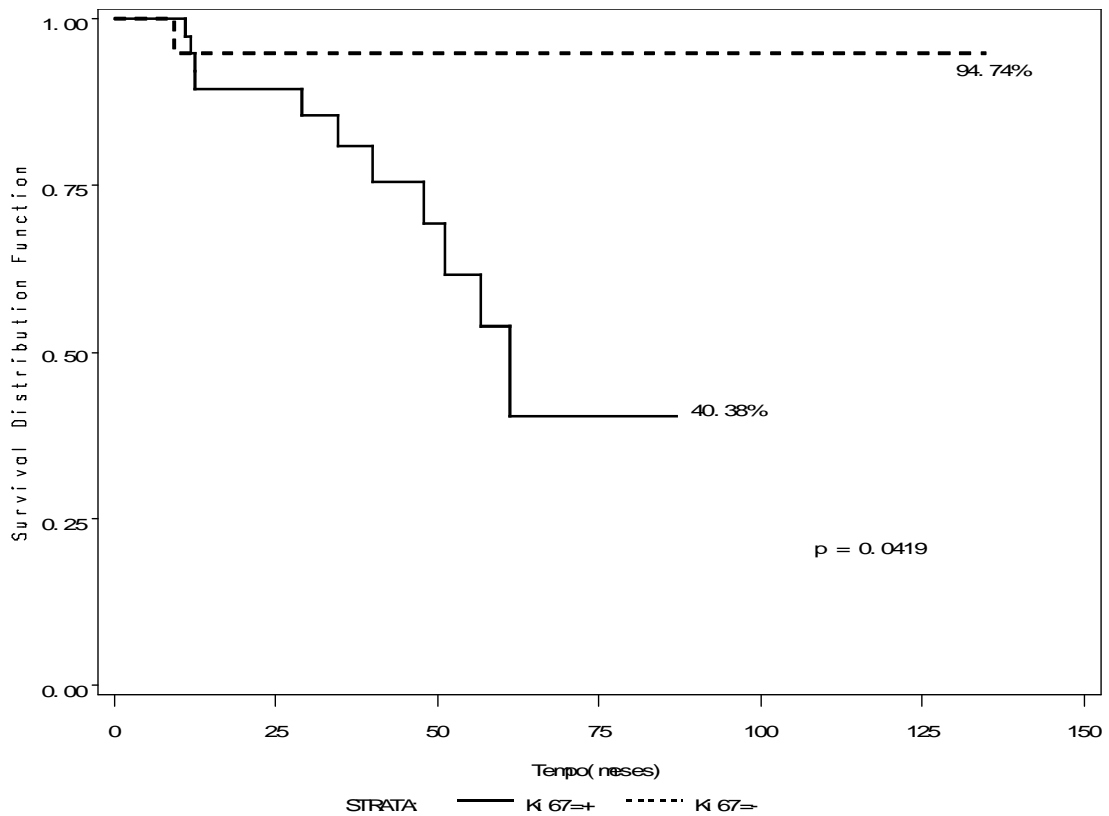
Figura 1. Curva de sobrevivida global de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em ambos os grupos .



Sobrevida dos Pacientes em relação à expressão de Ki67

A sobrevida dos pacientes com tumores que não expressaram Ki67 foi superior aos que expressaram Ki67 (94,7% versus 40,38% após 5 anos de acompanhamento), ($p=0,041$) (Figura 2).

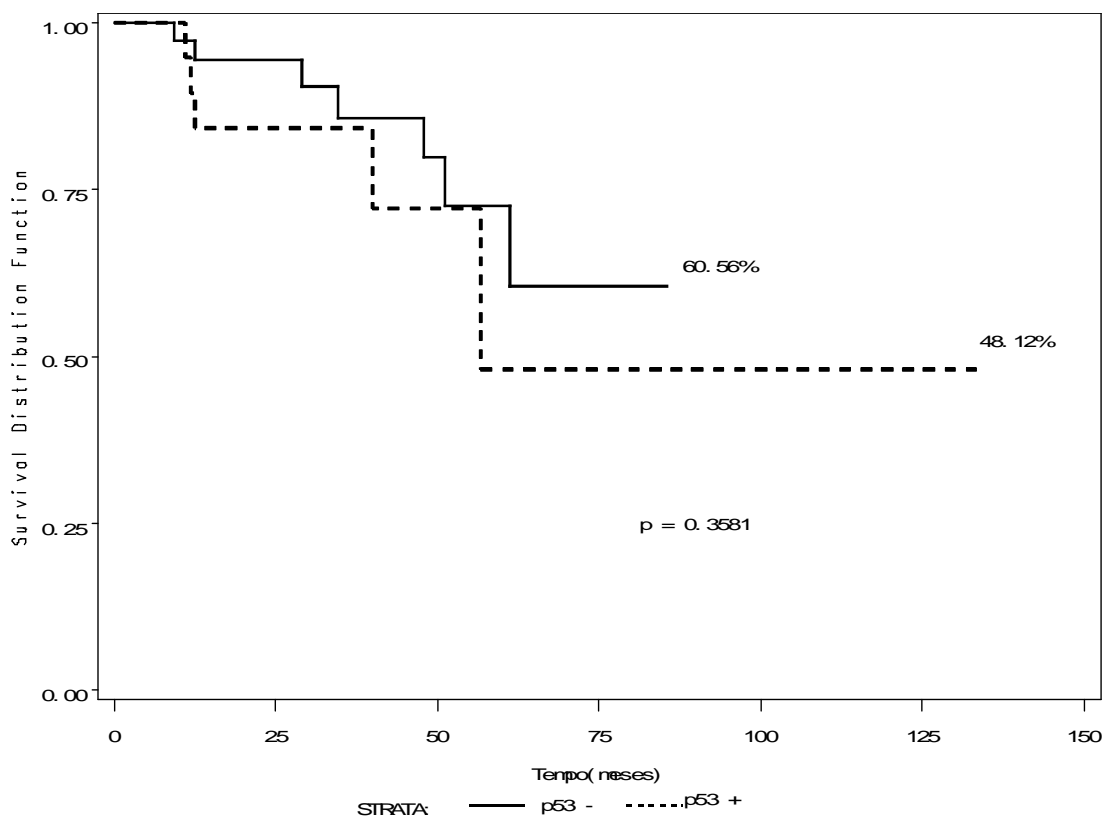
Figura 2. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em relação à expressão de Ki67.



Sobrevida dos Pacientes em relação à expressão de p53

A sobrevida dos pacientes com tumores que não expressaram p53 foi semelhante aos que expressaram p53 (60,56% versus 48,12% após 5 anos de acompanhamento), ($p=0,35$) (Figura 3).

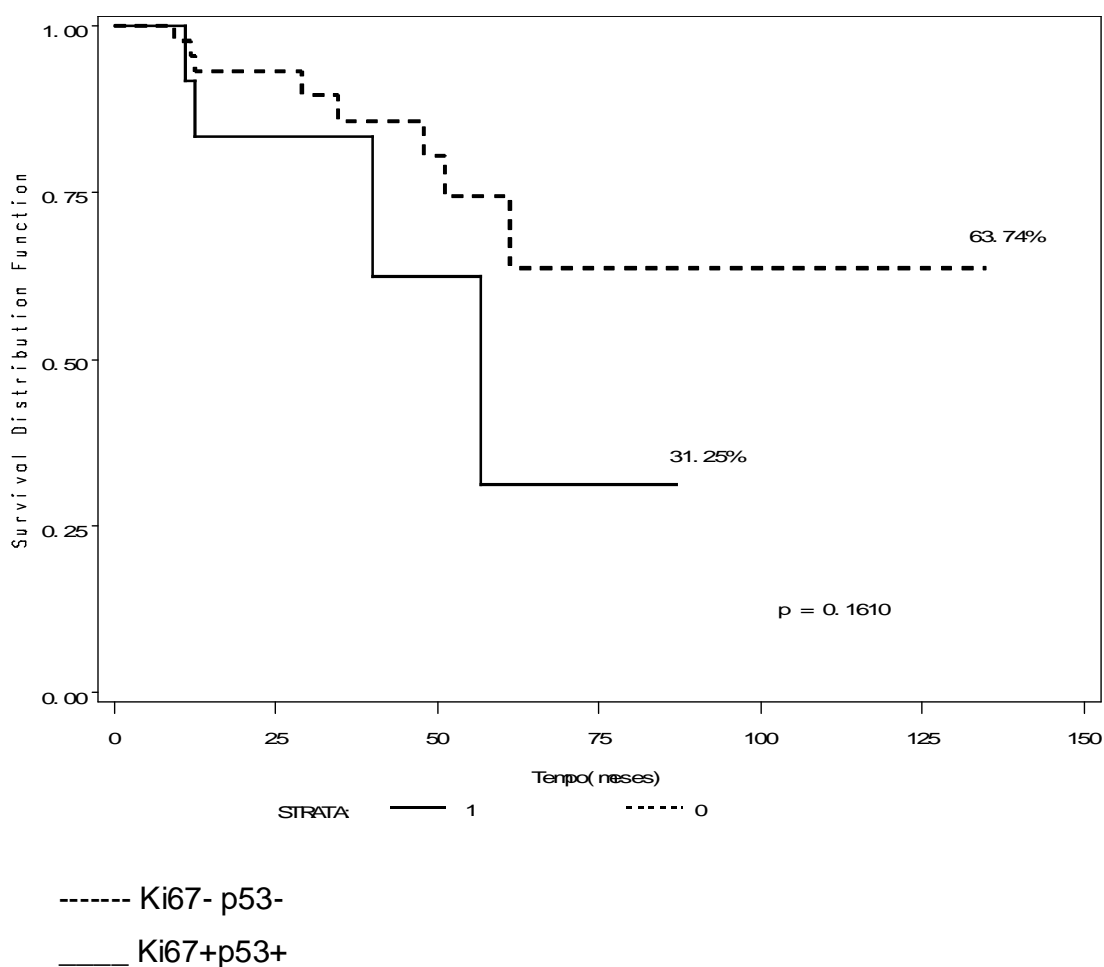
Figura 3. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto em relação à expressão de p53.



Sobrevida dos Pacientes em relação à expressão dos dois marcadores

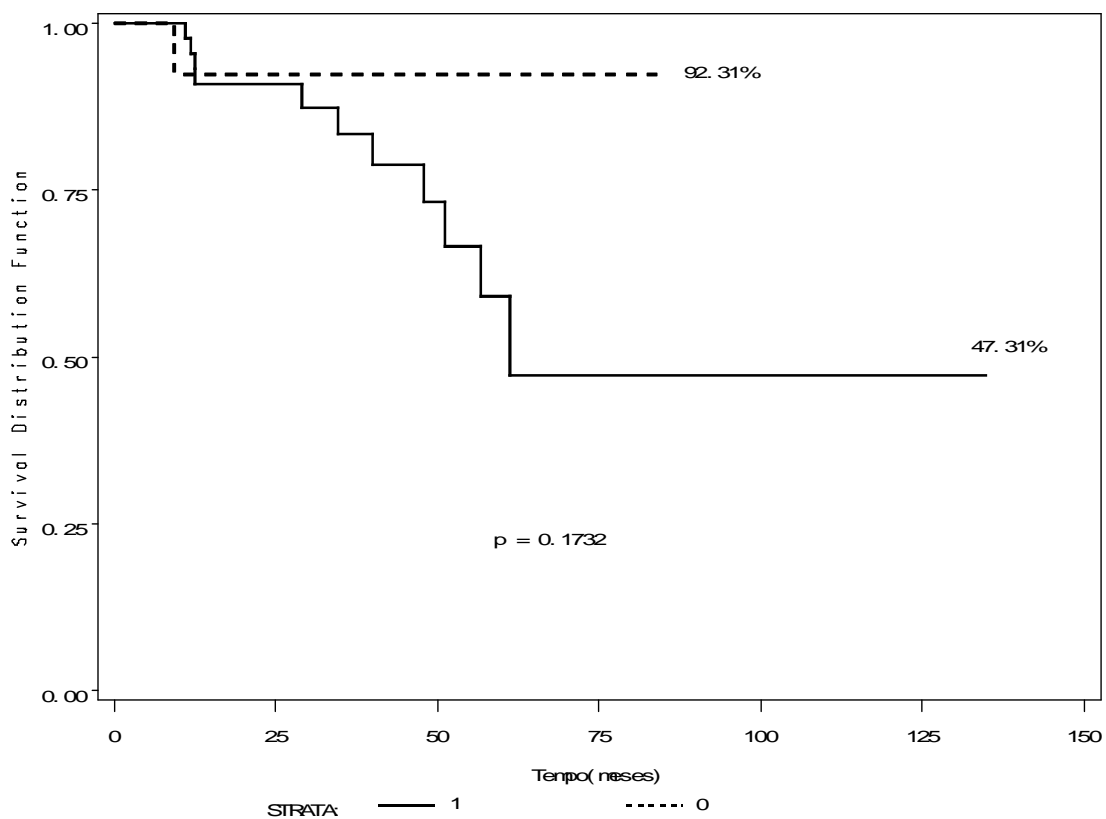
A sobrevida dos pacientes com tumores que expressaram dois marcadores positivos (p53+Ki67+) não diferiu dos que expressaram os dois marcadores negativos (p53-Ki67-), ($p=0,16$) (Figura 4).

Figura 4. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto com dois marcadores negativos versus dois marcadores positivos.



A sobrevida dos pacientes com tumores que expressaram pelo menos um marcador positivo (p53+Ki67- ou p53+Ki67+ ou p53-Ki67+) não diferiu dos que expressaram pelo menos um marcador negativo (p53+Ki67- ou p53-Ki67- ou p53-Ki67+) ($p=0,17$) (Figura 5).

Figura 5. Curva de sobrevida de Kaplan-Meier dos pacientes com câncer de reto com pelo menos um marcador negativo versus pelo menos um marcador positivo.



- - - - - Se pelo menos um marcador positivo

— Se pelo menos um marcador negativo

Análise de regressão múltipla de Cox

Ao nível de significância de 5%, observou-se tendência de aumento no risco de morte para pacientes Ki67 positivos comparando-os com pacientes Ki67 negativo após ajustar pelas variáveis: faixa de idade, sexo e grupo em análise de regressão múltipla de Cox

(RR_{ajustado}=7.566 IC95% 0.849-67.455 p=0.0699)

Variable	D	Parameter		Standard		Hazard 95% Hazard Ratio		
		Estimate	Error	Chi-Square	Pr>ChiSq	Ratio	Confidence	Limits
Ki67								
posxneg	1	2.02360	1.11627	3.2863	0.0699	7.566	0.849	67.455
idade1x4	1	0.25142	0.95523	0.0693	0.7924	0.778	0.120	5.057
idade2x4	1	0.44852	0.98237	0.2085	0.6480	0.639	0.093	4.379
idade3x4	1	0.44970	0.94473	0.2266	0.6341	0.638	0.100	4.063
Sexo 1x2	1	0.40798	0.68362	0.3562	0.5506	0.665	0.174	2.539
Grupo TxC	1	0.58938	0.75928	0.6025	0.4376	1.803	0.407	7.985

FAVOR CONFERIR EU MONTEI A TABELA - Magali

VI. DISCUSSÃO

O câncer colorretal é o 2º tipo de câncer mais prevalente do mundo (após o câncer de mama) com estimativa de 2,4 milhões de pessoas vivas diagnosticadas nos últimos 5 anos e sobrevida de 44% (INCA 2006), sendo por isso motivo de inúmeras pesquisas que contribuem para o melhor conhecimento dos fatores de risco, dos métodos de diagnóstico precoce e de novos tratamentos. Estes estudos permitiram, a partir de 1990, grandes progressos no tratamento adjuvante e paliativo do câncer de cólon e de reto.

Aproximadamente 40% dos tumores colorretais são de reto. A localização do reto na pelve, a dificuldade em seu acesso cirúrgico e em muitas vezes as margens livres exíguas acarreta maior risco de recorrência local. Estas características fazem com que o tratamento do câncer de reto seja diferente do de cólon, sendo nestes casos necessária a inclusão de tratamento radioterápico para diminuir a incidência de recidiva local e por conseqüência modificações no tratamento quimioterápico.

No final da década de 80 e na de 90 do último século inúmeros estudos demonstraram que a quimioterapia e a radioterapia adjuvante concomitante beneficia os doentes com câncer de reto estágio II ou III em relação aos doentes submetidos à cirurgia ou a cada um dos tratamentos quimio ou radioterápicos isolados (ref). Estes estudos fizeram com que o NCI (National Cancer Institute) assumisse como um consenso esta forma de tratamento combinada nos doentes com câncer de reto estágio II e III (ref). A semelhança do que é realizado no câncer de cólon, embora não existam estudos randomizados que comprovem que este seja a melhor forma de tratamento para o câncer de reto, estes doentes são posteriormente tratados com quimioterapia por mais 4 meses. O tratamento quimioterápico recomendado nestes estudos é o uso de 5-fluorouracil e ácido folínico que aumenta as taxas de respostas e a sobrevida em comparação com 5FU como agente único (O'Connell MJ et al, 1989 e em uma metanálise em 1992). Estudos mais recentes comprovam menor índice de recorrência local quando o 5-fluoracil é realizado em infusão contínua (LokichJJ, Ahlgren et al,1989) ou com fluoropirimidinas orais como é o caso da capecitabina (Xeloda) ou do UFT (Izumi M.

et al,2001) que pela sua facilidade de ingestão podem ser usadas diariamente e dispensam o uso de cateteres ou de infusores endovenosos. O UFT foi avaliado na adjuvância por Mitomi et al,1993 em pacientes portadores de câncer colorretal durante um acompanhamento de 3 anos revelando um aumento da taxa de sobrevida livre de doença ($p=0,026$) no grupo que recebeu UFT após mitomicina comparado ao grupo que recebeu mitomicina C unicamente . A eficácia do UFT como agente único foi avaliada por Malik et al, 1990 e Ota et al,1988 em câncer colorretal avançado, num total de 99 pacientes avaliáveis, houve 21 respostas parciais para uma taxa de resposta global de 21%. Malik et al registraram uma sobrevida média de 32,4 semanas e Ota et al registraram sobrevida média semelhante de 32,4 semanas.

A eficácia do tratamento adjuvante levou alguns investigadores a estudar a indicação desta terapêutica no pré-operatório e este vem sendo recomendado porque diminui a extensão do tumor do reto e contribui na realização de maior número de cirurgias com preservação do esfíncter e redução dos índices de recorrência local (CCCG, 2001; Janjan et al,1999). No entanto, não existe até o momento um consenso se o tratamento neoadjuvante utilizando-se 5FU e ácido folínico aumenta a sobrevida dos pacientes com câncer de reto quando comparados aos tratados no pós-operatório com as mesmas drogas (ref).

O intuito desta pesquisa foi procurar estabelecer marcadores que possam indicar possíveis diferenças entre os tumores submetidos ou não a quimio e radioterapia prévia e se estes podem ter algum efeito preditivo no prognóstico. Para isso foi analisado um índice de proliferação tumoral (Ki67) associado a um marcador de apoptose (p53) e estudado a relação entre estas proteínas e o prognóstico.

Analisamos 61 pacientes, tratados de forma neoadjuvante e adjuvante com radio e quimioterapia. Nos dois grupos, os doentes foram submetidos à continuidade do tratamento com mais 4 ciclos de quimioterapia.

Durante a radioterapia os doentes foram tratados com 5fluorouracil na dose de 300mg/m² quando associado à radioterapia e na dose de 425mg/m² quando isolado. Esta diminuição do quimioterápico durante a radioterapia se deve ao aumento da radiosensibilidade causada pela droga, aumentando portanto, os

efeitos colaterais como dermatite, cistite ou de ileite actínica. Pela dificuldade dos recursos no serviço público, o 5-fluorouracil foi usado em infusão rápida (menor que 5 minutos). Parte dos pacientes pôde usar o UFT porque este foi doado na ocasião pela Bristol-Meyers. Mas infelizmente, tanto a infusão contínua como as fluoropirimidinas orais não podem ser usadas em doentes que fazem uso do SUS porque a verba revertida mediante as APACS (autorização para procedimentos de alta complexidade) não permite a compra destas medicações.

A incidência do câncer de reto, à semelhança dos demais tumores do aparelho digestório, é relativamente incomum antes dos 50 anos, aumenta substancialmente durante a sexta década de vida, continuando em ascendência. A média de idade encontrada em nossos casos foi de ---anos, sendo semelhante nos dois grupos (grupo caso foi de 54,74 anos e no grupo controle de 58,2). Apesar da amostra ser pequena, estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Brenner, 1990 em que a média de idade foi de 55,6 anos, mas menor que a descrita num estudo escocês por Deans et al em 1994 onde a média foi de 66,3 anos. Estas médias de idade divergem entre os países e alguns autores mostram uma maior prevalência de pacientes mais jovens nos países em desenvolvimento (ref). Neste estudo embora a maior parte dos doentes tinham mais que 50 anos, observamos que 21,31% tinham menos que 50 anos.

O número de casos novos de câncer colorretal estimados para o Brasil no ano que passou foi de 11.390 casos em homens e de 13.970 em mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 12 casos novos a cada 100 mil homens e 15 para cada 100 mil mulheres (INCA 2006). Para mulheres é o 2º tumor mais freqüente na região sudeste (INCA 2006). Parece haver no Brasil uma freqüência maior de cânceres colorretais nas mulheres, o que não é observado entre os americanos (ref), onde a freqüência em homens parece ser ligeiramente maior do que entre as mulheres. Há estudos que mostram que os tumores no sexo feminino tendem a ter melhor prognóstico (Alley et al,1986; Decosse et al, 1993)(23,24). Neste estudo o sexo masculino foi predominante nos pacientes do grupo caso, no entanto estas diferenças não foram estatisticamente significantes ($p=0,160$).

O estádio para câncer colorretal foi primeiramente descrito por Dukes em 1932, modificado por Astler e Cooller em 1954 e atualmente é comumente usado o TNM revisado em 2003 (Greene et al, 2003), tendo o estádio conhecido valor prognóstico, sendo pior nos tumores com invasão linfonodal ou doença metastática (Swanson et al, 2003).

Entre os doentes estudados, observamos que 52,45% eram estádio II e os demais estádio III. Na análise das peças cirúrgicas, no grupo caso o número de pacientes estádio II foi maior em relação ao grupo controle (grupo caso 58% e grupo controle 47%), o contrário foi encontrado no grupo controle em relação ao estádio III (grupo caso 35,60% e grupo controle 53%), no entanto esta variação não foi estatisticamente significativa ($p=0,184$). O estádio 0 ou seja, sem doença identificada foi verificado em 2 doentes do grupo caso sendo estes doentes inicialmente estádio II e portanto obtiveram remissão completa da doença. A remissão completa dos pacientes com câncer de reto submetida a tratamento neoadjuvante varia entre 15-36% com média de aproximadamente 20% (GTSG,1986; Enker et al,1992; Arnould et al,1997). Neste estudo este percentual foi de 6,4%. Não observamos diminuição estatisticamente significativa do estádio clínico pré-operatório quando comparado ao estádio da peça cirúrgica ($p= 0,330$). Esta avaliação no entanto, merece algumas ressalvas, uma vez que a tomografia computadorizada de abdômen e pelve foi usada como método de diagnóstico para o estádio clínico no pré-operatório e comparado com a análise anátomo-patológica do tumor após ressecção cirúrgica do mesmo. Estudos mostram que a tomografia computadorizada de pelve tem acurácia de 70% (Gazelle et al, 1995) e sensibilidade entre 55 e 61% (Gazelle et al,1995; Balthazar, 1998) quando analisado a extensão tumoral e acurácia de 52 a 59% (Di Gianni et al, 1995; Filippone et al, 1999) e sensibilidade de 27 a 73% quando analisado o comprometimento linfonodal (Balthazar et al, 1998). Numa análise de 15 pacientes submetidos a tratamento neoadjuvante, na nossa instituição, onde a tomografia foi realizada no pré e no pós-operatório, observou-se acurácia que variou entre 46,7 e 73,3%, sendo maior nos tumores T3-4 e de 20-40% na avaliação do comprometimento linfonodal (Pinto , 2005).

A mutação do p53 e a perda do alelo no braço curto do cromossomo 17 conduz a alterações genéticas que inativa a função supressora do p53 e a alteração gênica conduz a perda da função da proteína p53 e portanto a maior proliferação celular segundo Diez et al, 1995. Além disso o p53 funciona como guardião do genoma, impedindo que células com DNA alterado completem o ciclo celular, induzindo a apoptose (Bell et al, 1993). Esta proteína tem sido estudada largamente por imunohistoquímica em várias neoplasias e os estudos mostram que a sua mutação é uma das mais freqüentes, porém seu uso como marcador prognóstico nos cânceres colorretais ainda é muito controverso (Smith et al, 1989; Bosari et al, 1995; Sinnicope et al, 1995). A prevalência desta proteína alterada nos tumores de reto varia entre 40 a 60% (Diez et al, 1995). Forones et al, 1999 observaram positividade do p53 em 70% dos cânceres colorretais.

Em nosso estudo, na totalidade de pacientes, 64,52% foram considerados negativos para o p53. Quando comparamos os grupos verificamos que a positividade dos p53 foi semelhante entre os tumores submetidos a tratamento prévio e os demais (35,50% versus 36,66%). Tumores de reto com mutação do p53 são mais resistentes à radioterapia e portanto têm menores índices de resposta (Cancer Medicine 203-204).

Quando avaliamos o p53 como marcador de prognóstico observamos que no final do estudo, 60,5% dos pacientes p53 negativos estavam vivos enquanto que entre os positivos este percentual foi de 48,1%. Embora tenhamos observado maior número de pacientes vivos, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

A correlação entre p53 e prognóstico no tratamento de câncer colorretal também permanece incerta. Muitos autores têm encontrado uma relação entre positividade de p53 e maior sobrevida como Bossari et al, 1994, enquanto outros autores falharam ao tentar mostrar esta mesma relação (Soong R et al, 2000; Bell et al, 1993; Kressner et al, 1996; Brenner S et al, 1990, Forones et al). Hilska M et al, 2005 encontraram diferenças entre câncer de cólon e de reto no estudo do p53 no citoplasma.

A expressão de Ki67 é encontrada em uma porcentagem alta de células tumorais antes de qualquer tratamento, com uma média que varia de estudo para estudo (incluir Forones et al) e alcança em algumas vezes 90% das células (Ref). Quando comparamos o Ki67 neste estudo, 9,67% dos pacientes do grupo caso e 33,33% dos pacientes do grupo controle tiveram expressão positiva ou seja, mais que 50% das células coradas ($p=0,052$). Estes resultados sugerem que o tratamento com quimioterapia e radioterapia tem influência na proliferação celular. Infelizmente não foi possível corar as lâminas do tecido de biópsia do tumor na ocasião do diagnóstico, nos doentes submetidos a tratamento neoadjuvante para confirmar a resposta ao tratamento devido à escassez de tecido. Willet et al,1998 relacionaram a expressão de Ki67 à resposta ao tratamento radioterápico; pacientes com melhor resposta à radioterapia tiveram menores índices de Ki67. Ao contrário estudo realizado por Palmqvist et al,1999 não mostraram uma associação entre Ki67 e resposta a radio e quimioterapia neoadjuvante em câncer de reto.

Marcadores prognósticos para câncer de reto já foram estudados e os resultados são ainda controversos. Roberts et al, 2005 relataram diferenças no comportamento do Ki67 nos tumores de cólon quando comparados aos de reto. Os autores correlacionaram a fração positiva de núcleos contados \geq 5% a melhor prognóstico para o câncer de reto, mas não para o câncer de cólon. Garrity et al, 2004 também relataram uma associação entre baixa contagem de Ki67 e curto intervalo de sobrevida para os pacientes com estágio II de câncer colorretal.

Ao avaliarmos sobrevida e Ki67 observamos que o grupo com expressão de Ki67 menor que 50% teve melhor sobrevida ($p=0,041$). Resultados semelhantes foram encontrados por Salminen et al,2005 e por Forones et al ().Vieira et al,2000 também relataram em estudo que altos índices de proliferação celular do Ki67 estão associados a maiores índices de recidiva tumoral e menor sobrevivência (38).

As diferenças encontradas podem ser decorrentes da interpretação dos percentuais de positividade, da metodologia realizada, assim como do local de contagem das células, uma vez que alguns estudos preferem a leitura na profundidade do tumor outros na superfície (ref). Além disso medicações laxantes ou enemas usados na preparação do intestino para cirurgias ou colonoscopias (Lehy et

al, 1984) e processos ulcerosos podem aumentar a proliferação da borda luminal resultando também em maior expressão do Ki67 (Palmqvist et al, 1999). Alguns estudos também sugerem que a verdadeira taxa de proliferação seria resultado da fração entre o número de células em proliferação e o tempo para realizar o ciclo celular. O método imunohistoquímico mede o número de células em fase proliferativa mas não o tempo do ciclo (Jansson A et al,1997; Van Oijen et al,1998). Para estudar a fração de crescimento Duchrow et al,2003 avaliaram o nível de expressão da proteína e o RNAm e mostraram que uma alta expressão da proteína pode ser acompanhada de baixa expressão de RNAm.

Na associação de marcadores tumorais separamos os mesmos como ambos positivos e ambos negativos 63,7% dos pacientes com Ki67 e p53 negativos e 31,2% dos pacientes estavam vivos no término do estudo ($p=0,16$). Avaliando a associação de marcadores quando pelo menos um marcador se encontrava negativo ou quando pelo menos um marcador se encontrava positivo 92,3% e 47,3% estavam vivos ao final do estudo.

VII. CONCLUSÕES

1. A positividade do p53 foi semelhante os tumores ressecados submetidos a quimio e radioterapia quando comparados aos tumores não tratados.
2. Pacientes com tumores p53 positivos tiveram sobrevida semelhante aos com expressão negativa desta proteína.
3. O percentual de tumores ressecados submetidos a quimio e radioterapia prévia expressaram Ki 67 em menor número quando comparados aos tumores não tratados.
4. Pacientes com tumores com expressão negativa KI67 tiveram maior sobrevida.

VIII. ANEXOS

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraham J, Gulley JL, Allegra CJ. Bethesda Handbook of Clinical Oncology. 2a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.

Alley PG, McNee RK. Age and Sex differences in right colon cancer. Dis Colon Rectum 1986; 29: 227-229.

Altman DG, Bland JM. Time to event (survival) data. BMJ 1998;317: 468-9

Arnauld JP, Nordlinger B, Bosset JF, et al. Radical surgery and postoperative radiotherapy as combined treatment in rectal cancer. Final results of a phase III study of European Organization of Research and Treatment of Cancer. Br J Surg 1997;84:352-7.

Astler VB, Cooller FA. The classification significance of direct extension of carcinoma of colon and rectum. Ann Surg. 1954; 139: 846-51.

Balthazar E J, Megibow A J, Hulnick D, Naidich D P. Carcinoma of the colon: detection and preoperative staging by CT. Am J Roentegenol 1988; 150: 301-306.

Beahrs O. Staging of câncer of the colon and rectum. Cancer. 1992; 70:1393-1396

Bell SM, Scott N, Cross D, Sagar P et al. Prognostic value of p53 overexpression and c-ki-ras gene mutation in colorectal cancer. Gastroenterology. 1993; 104: 57-64.

Bosari S, Viale G, Bossi P. Cytoplasmic accumulation of p53 protein: an independent prognostic indicator in colorectal adenocarcinomas. J Natl Cancer Inst.1994; 86: 681-7.

Brenner S. Adenocarcinomas colorretais. Análise dos resultados do tratamento cirurgico em 608 doentes[Tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1990.

Camma C, Giunta M, Fiorica F, Pagliaro L, Craxi A, Cottone M. Preoperative radiotherapy for resectable rectal câncer: A meta-analysis. JAMA 2000;284:1008-1015.

CCCG. Adjuvant radiotherapy for rectal cancer. A systematic overview of 8507 patients from 22 randomised trials. Lancet 2001; 20: 1291-304.

Chemoradiotherapy for Rectal Cancer — When, Why, and How? N Engl J Med 351:1790-1792.

Cox DR, Oakes D: Analysis of Survival Data. London, UK, Chapman & Hall, 1984

Cox DR: Regression models and life tables. J Stat Soc (B) 34:187, 1972

Crane CH, Skibber JM, Feig BW. Response to preoperative chemoradiation increases the use of sphincter-preserving surgery in patients with locally advanced low rectal carcinoma. Cancer 2003;97:517-24.

Deans GT, Heatley M, Patterson CC, et al. Colorectal carcinoma: importance of clinical and pathological factors in survival. Ann R Coll Surg Engl 1994; 76: 59-64.

DeCosse JJ, Ngoi SS, Jacobson JS, et al. Gender and colorectal cancer. Eur J Cancer Prev 1993; 2: 105-115.

Di Gianni F G L. Avaliação da tomografia computadorizada da extensão tumoral do adenocarcinoma do reto para gordura e linfonodos periretais. Tese de Mestrado em radiologia clínica, 1995.

- Diez M, Enriquez JM, Camunas J. Prediction of recurrence in B-C stages of colorectal cancer by p53 nuclear overexpression in comparison with standard pathological features. *Eur J Surg Oncol.* 1995; 21: 635-59.
- Diez M, Medrano M, Muguerza JM, et al. Influence of tumor localization on the prognostic value on tumor localization on the prognostic value of P53 protein in colorectal adenocarcinomas. *Anticancer Res* 2000;20:3907-12.
- Duchrow M, Ziemann T, Windhövel U, et al. Colorectal carcinomas with high MIB-1 labelling indices but low pKi67 mRNA levels correlate with better prognostic outcome. *Histopathology* 2003; 42: 566-574.
- Dukes C E, Bussey H J R. The spread of rectal cancer and its effect on prognosis. *Br J Cancer.* 1958; 12: 309-320.
- Dukes CE. The classification or cancer of the rectum. *J Pathol Bacteriol.* 1932; 35: 323-32.
- Edwards BK, Howe HL, Ries LAG. The annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1999, featuring implications of age and aging on US cancer burden. *Cancer* 2002;94:2766-92.
- Enker WE, Paty PB, Mininsky BD, Cohen AM. Restorative or preservative operations in the treatment of rectal cancer. *Surg Oncol Clin North Am* 1992;1:57-69.
- Filippone A, Ambrosini R, Fuschi M, Genovesi D, Bonomo L. Preoperative T and N staging of colorectal cancer: Accuracy of contrast-enhanced multi-detector row CT colonography- initial experience.
- Fisher, L.D. and van Belle, G. *Biostatistics: A Methodology for Health Sciences*, (1993) New York John Wiley and Sons.

Frykholm GJ, Pahlman L, Glimelius B. Combined chemo-and radiotherapy vs radiotherapy alone in treatment of primary, nonresectable adenocarcinoma of the rectum. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;50:427-34.

Gardner E, Gray DJ, O'rahilly R. Reto e canal anal. *Anatomia: estudo regional do corpo humano*. 2ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1964; 556-562.

Garrido MC, Cordell JL, Becker MH, Key G, Gerdes J, Jones M, Gatter KC, Mason DY. Monoclonal antibody JCI: new reagent for studying cell proliferation. *J Clin Pathol* 1992;45:860-865.

Garrity MM, Burgart LJ, Mahoney MR, et al. Prognostic value of proliferation, apoptosis, defective DNA mismatch repair, and p53 overexpression in patients with resected Dukes B or C colon cancer: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1572-82.

Gastrointestinal Tumor Study Group: Survival after postoperative combination treatment of rectal carcinoma. *N Engl J Méd* 1986;315:4-1295.

Gazelle C S, Gaa J, Saini S, Shellito P. Staging of colon carcinoma using water enema CT. *J Comput Assist Tomogr* 1995; 19:87-91

Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinoma by immunologic tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965;121:439-62.

Gray, Henry. *The Large Intestine. Anatomy of the Human Body*. Philadelphia:Lea & Febiger, 1918; Bartleby. Com,2000.

Gray, Henry. *The large intestine. Anatomy of the human body*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918; Bartleby.com, 2000.

Greene F. L, Stewart A.K., Norton H.J. A new TNM staging strategy for node-positive (stage III) rectal cancer: An analysis of 5988 patients. Proc. Am Soc. Clin. Oncol 2003;22 (abstr 1007)

Haidinger G, Waldhoer T, Hackl M, et al. Wien Med Wochenschr (2006); 156:549-551.

Hermanek P, Hohenberger W, Kimpfinger M, et al. The pathological assessment of mesorectal excision: implications for further treatment and quality management. Int J Colorectal Dis 2003; 18:335-341.

Hilska M, Collan Y, et al. The significance of tumor markers for proliferation and apoptosis in predicting survival in colorectal cancer. Dis Colon Rectum 2005; 48: 2197-2208.

Holm T, Singnomklao T, Rutqvist LE, Cedermark B. Adjuvant preoperative radiotherapy in patients with rectal carcinoma. Adverse effects during long term follow-up of two randomized trials. Cancer 1996;78:968-76.

Horn A, Morild I, Dahl O: Tumour shrinkage and down staging after preoperative radiation of rectal adenocarcinomas. Radiother Oncol. 1990; 18: 19-28.

Improved survival with preoperative radiotherapy in resectable rectal cancer. Swedish Rectal Cancer Trial. N Engl J Med 1997;336:980-987.

Izumi M, Chwada S, Yoshiro S, Kashiwabara Y, Ito H, et al. Preoperative treatment with Tegafur Suppositories for Rectal Cancer. Proc Am Soc Oncol 2001;20 (abstr 2180).

- J. F. Bosset, G. Calais, A. Daban, C. Berger, L. Radosevic-Jelic, P. Maingon, et al. Preoperative chemoradiotherapy versus preoperative radiotherapy in rectal cancer patients: assessment of acute toxicity and treatment compliance: Report of the 22921 randomised trial conducted by the EORTC Radiotherapy Group. *European Journal of Cancer* 2004; 40: 219-224.
- Janjan NA, Abbruzzese J, Pazdur R et al. Prognostic implications of response to preoperative infusional chemoradiation in locally advanced rectal cancer. *Radiother Oncol* 1999; 51: 153-60.
- Jansson A, Sun XF. Ki-67 expression in relation to clinicopathological variables and prognosis in colorectal adenocarcinoma. *APMIS* 1997;105: 730-734.
- Kaplan E. L., Meier P. Non-parametric estimation from incomplete observation. *J. Am. Stat. Assoc.*, 53: 457-481, 1958.
- Keynes WM: Implantation from the bowel lumen in cancer of the large intestine. *Ann Surg.* 1961; 153: 357-64.
- Kressner U, Kindmar G, Gerdin B. Immunohistological p53 staining is of limited value in the staging and prognostic prediction of colorectal cancer. *Anticancer Res.* 1996; 6: 951-7.
- Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr RC, Gansler TS, Holland JF et al. *Cancer Medicine*. American Cancer Society. 2003.
- Lee J L, Lee J, Ahn J, Bahng H, Kim T, Kang YK, Lee KH, Kim JC, Yu CS, et al Randomized Trial of Postoperative Adjuvant Therapy in Stage II and III Rectal Cancer to Define the Optimal Sequence of Chemotherapy and Radiotherapy: A Preliminary Report *Journal of Clinical Oncology*,2002; 20 (7): 1751-1758.

Lehy T, Abithol JL, Mignon M. Influence de la preparathion rectable par lavement sur la proliferation cellulaire dans la muqueuse rectale normale de l'homme. *Gastroenterol Clin Biol* 1984; 8: 216-221

Lieberman DA, W Weiss DG, Bond JH. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 343:162-8.

Lieberman DA, Weiss DG. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *N Engl J Med* 2001;345:555-60.

Lokich JJ, Ahlgren JD, Gullo JJ, et al. A prospective randomized comparison of continuous infusion fluorouracil with a conventional bolus schedule in metastatic colorectal carcinoma: a Mid-Atlantic Oncology Program Study. *J Clin Oncol.* 1989;7:425-432.

Maeda K, Chung YS, Kang SM. Overexpression of cyclin D1 and p53 associated with disease recurrence in colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 1997;74:310-5.

Malik STA, Talbot D, Clarke PI. Phase II trial of UFT in advanced colorectal and gastric cancer. *Br J Cancer* 1990;62:1023-1025.

Marks G, Mohiuddin M, Rakinic J: New hope and promise for sphincter preservation in the management of cancer of the rectum. *Semin Oncol.* 1991; 18: 388-98.

Mincis M. Câncer colo-retal. *Gastroenterologia e Hepatologia:Diagnóstico e tratamento.* São Paulo. Lemos- Editorial, 1997;429-442.

Mitomi T, Tsuchiya S, Hiki Y, et al. A randomized controlled study on adjuvant chemotherapy with UFT in curatively resected colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1993;225. Abstract 690.

Mohiuddin M, Ahmad N, Marks G: A selective approach to adjunctive therapy for cancer of the rectum. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1993; 27: 765-72.

NIH Consensus Conference. Adjuvant Therapy for Patients With Colon and Rectal Cancer.

NIH consensus conference. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer. *JAMA.* 1990;264:1444-1450.

O'Connell MJ, Martenson JA, Wieand HS. Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med* 1994;331:502-7.

O'Connell MJ. A phase III trial of 5-fluorouracil and leucovorin in the treatment of advanced colorectal cancer. A Mayo Clinic/North Central Cancer Treatment Group study. *Cancer.* 1989;63:1026-1030.

Oshima CTF, Iriya K, Forones NM. Ki-67 as a prognostic marker in colorectal cancer but not in gastric cancer.

Ota K, Taguchi T, Kimura K. Report on nationwide pooled data and cohort investigation in UFT phase II study. *Cancer Chemother Pharmacol* 1988;22:333-338.

Pahlman L, Glimelius B: Pre-or postoperative radiotherapy in rectal and rectosigmoid carcinoma. Report from a randomized multicenter trial. *Ann Surg.* 1990; 211: 187-95.

Palmqvist R, Sellberg P, Öberg Å, Tavelin B, Rutegård J, et al. Low tumor cell proliferation at invasive margin is associated with a poor prognosis in Duke's stage B colorectal cancer. *Br J Cancer* 1999; 79: 577-581.

Pinto G A D, Valor da tomografia computadorizada no estadiamento pós-radioterapia e quimioterapia neoadjuvante do câncer retal. Dissertação apresentada á Unifesp-EPM 2005.

Polk Jr HC, Spratt Jr JS. Results of treatment of perineal recurrence of cancer of the rectum. *Cancer* 1979;43:952-5 .

Preoperative Neoadjuvant Radio-Chemotherapy for T3-T4 Rectal Cancer. *Proc. Am Soc. Clin. Oncol* 2001;20 (abstr 2245).

Rebischung C, Gerard JP, Gayet J. Prognostic value of p53 mutations in rectal carcinoma. *Int J Cancer* 2002;100:131-5.

Reerink O, Karrenbeld A, Plukker J, et al. Molecular prognostic factors in locally unresectable rectal cancer treated preoperatively by chemo-radiotherapy. *Anticancer Res* 2004; 24: 1217-1222

Ribeiro U, Alves V, Souza PMSB et al. Correlação das proteínas p53 e Ki67 com prognóstico de pacientes com adenocarcinoma de reto distal. *Ver bras Coloproct* 2000; 20 (4): 248-256.

Rifkin D M, Ehrlich S M, Marks G. Staging of rectal carcinoma : Prospective comparison of endorectal US and CT. *Radiology* 1989; 170:319-322.

Rose DIP, Boyar AP, Wynder EL. International comparisons of mortality rates of cancer of the breast, ovary, prostate and colon, and per capita food consumption. *Cancer* 1986;58:2363-71.

Salminen E, Salla P, Valhberg T, et al. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11 (21): 3245-3249.

SAS Institute. SAS 9.1.3 Help and Documentation. Cary, NC: SAS Institute; 2000–2004.

Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rodel C, Wittekind C, Fietkau R et al. Preoperative versus Postoperative Chemotherapy for Rectal Cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(17):1731-1740.

Solimando DA, Bressler LR, Kintzel PE, Geraci MC. *Drug Information Handbook Oncology*. 2^a ed. United States: Lex-Comp; 2000.

Soong R, Powell B, Elsaleh H, et al Prognostic significance of TP53 gene mutation in 995 cases of colorectal carcinoma. Influence of tumor site stage, adjuvant chemotherapy and type of mutation. *Eur J Cancer*. 2000;36:2053-60.

Spence RAJ, Johnston PG. *Oncologia*. 1a ed. Traduzido por Araújo CLC. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;2003.

Spitz FR, Giacco GG, Hess K. p53 imunohistochemical staining predicts residual disease after chemoradiation in patients with high-risk rectal cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1685-90.

Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, et al. The prognosis of T3N0 colon cancer is independent on number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10: 65-71.

Swedish rectal cancer trial. Improved survival with preoperative radiotherapy in respectable rectal cancer. *N Engl J Med* 1997;336:980-7.

The Advanced colorectal Cancer Meta-Analysis Project. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: evidence in terms of response rate. *J Clin Oncol*. 1992;10:896-903.

Tomeo CA, Colditz GA, Willet WC. Harvard report of cancer prevention: vol 3: Prevention of colon cancer in United States. *Cancer Causes Control* 1999;10:167-80.

UICC International Union Against Cancer. Union Internationale Controle le Cancer (1992). Atlas TNM. São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo, 1993.

Valentini V, Coco C, Picciocchi A, Morganti AG, Trodella L, Ciabattoni A, Cellini F, et al..Does downstaging predict improved outcome after preoperative chemoradiation for extraperitoneal locally advanced rectal cancer? A long-term analysis of 165 patients. *Int.J. Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53(3):664-674

Van Oijen MG, Medema RH, Slootweg PJ, et al. Positivity of the proliferation marker Ki-67 in noncycling cells. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 24-31

Volgstein B. A deadly inheritance. *Cancer* 1990. *Nature* 348;681-2.

Wagman R, Minsky BD, Cohen AM, Guillem JG, Paty PP. Sphincter preservation in rectal cancer with preoperative radiation therapy and coloanal anastomosis: long term follow-up *International Journal of Radiation Oncology*Biological*Physics* 1998; 42(1):51-57.

Webb W R, Brant W E, Helms C A. Pelve. Fundamentos de tomografia computadorizada do corpo. 2ed, Editora Guanabara Koogan, 2000; 248-259.

Willett CG, Hagan M, Daley W, et al. Changes in tumor proliferation of rectal cancer induced by preoperative 5 fluorouracil and irradiation. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 62-7.

Yeung RS, Moffat FL, Falk RE. Pelvic exenteration for recurrent and extensive primary colorectal adenocarcinoma. *Cancer* 1993;72:1853-8.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)