

Análise imunoistoquímica da expressão dos marcadores ALCAM e ALDH1 em pacientes com adenocarcinoma colorretal e associação com desfechos clinicopatológicos

Immunohistochemical analysis of the expression of ALCAM and ALDH1 markers in patients with colorrectal adenocarcinoma and association with clinicopathological outcomes

Cecilia Neves de Vasconcelos¹, Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas¹, Rodrigo Ketzer Krebs¹, Ana Maria Waaga Gasser², Martin Gasser¹, Nicolau Gregori Czezczko¹, Janine da Silva Lima Delilo³, Osvaldo Malafaia¹

RESUMO

Introdução: O câncer colorretal apresenta alta mortalidade global e marcadores tumorais têm surgido como sinalizadores de diagnóstico, manejo e prognóstico. Novos marcadores estão sendo estudados.

Objetivo: Verificar se há correlação da expressão por imunoistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 em tecido com adenocarcinoma colorretal com as características epidemiológicas e clinicopatológicas, em particular o seu impacto na progressão de doença e no óbito.

Método: Estudo observacional, unicêntrico, analítico, retrospectivo, através da investigação de pacientes submetidos à ressecção cirúrgica por câncer colorretal.

Resultado: Foram avaliados 122 pacientes. Em relação a progressão, mostrou-se que nos indivíduos com ALCAM positiva (n = 40), 14/40 (35%) tiveram progressão, e para ALDH1 positiva (n = 54), 22/54 (40,7%). Para óbito, a análise da ALCAM positiva (n = 40), 24/40 (60%) morreram, e ALDH1 positivo (n = 54), 33/54 (61,1%).

Conclusão: A expressão imunoistoquímica dos marcadores ALCAM e ALDH1 não apresentou associação com a progressão de doença e óbito; também não foi possível observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer colorretal. ALCAM. ALDH1.

ABSTRACT

Background: Colorectal cancer has a high global mortality and tumor markers have emerged as diagnostic, management and prognostic indicators. New markers are being studied.

Objective: To verify if there is a correlation between the immunohistochemical expression of ALCAM and ALDH1 proteins in colorectal adenocarcinoma tissue with epidemiological and clinicopathological characteristics, in particular their impact on disease progression and death.

Method: Observational, single-center, analytical, retrospective study, through the investigation of patients undergoing surgical resection for colorectal cancer.

Result: 122 patients were evaluated. Regarding progression, it was shown that in individuals with positive ALCAM (n=40), 14/40 (35%) had progression, and for positive ALDH (n = 54), 22/54 (40.7%). For death, the analysis of ALCAM positive (n = 40), 24/40 (60%) died, and ALDH1 positive (n = 54), 33/54 (61.1%).

Conclusion: The immunohistochemical expression of ALCAM and ALDH1 markers was not associated with disease progression and death; it was also not possible to observe a correspondence relationship with the evaluated markers.

KEYWORDS: Colorectal cancer. ALCAM. ALDH1

Mensagem Central

Determinar a fase de progresso (estadio), a extensão e a gravidade de um tumor no momento do diagnóstico é essencial para que se estabeleça a estratégia do tratamento e para estimar a evolução da doença. Assim, estudar a correlação da expressão por imunoistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 em tecido com adenocarcinoma colorretal podem auxiliar no impacto na progressão de doença e no óbito.

Perspectiva

Embora os estudos iniciais tenham apontado ALCAM e ALDH1 como potenciais marcadores prognósticos no câncer colorretal, ainda existem diversos pontos conflitantes como: 1) o evento progressão da doença de forma isolada; 2) o óbito, avaliado de forma também isolada, apresenta-se mais em pacientes com tumores primários de reto; 3) na metástase pulmonar, estadio clínico e marcador ALCAM apresentaram significância estatística, o que não ocorreu com ALDH1. Para a minimização desses pontos é necessário fazer refinamento na pesquisa dessas substâncias, de forma quantitativa e qualitativa, para assegurar resultados mais conclusivos.

¹Instituto Presbiteriano Mackenzie, São Paulo, SP, Brasil;

²Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Molecular Oncology and Immunology and Renal Division, Boston, MA, USA;

³Fundação Hospital Estadual do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil.

Conflito de interesse: Nenhum | Financiamento: Nenhum | Recebido em: 17/07/2024 | Aceito em: 22/10/2024 | Correspondência: cvasconcelos.krebs@gmail.com | Editor Associado: Nelson Adami Andreollo¹

Como citar:

de Vasconcelos CN, Ribas CAPM, Krebs RK, Gasser AMW, Gasser M, Czezczko NG, Delilo JSL, Malafaia O. Análise imunoistoquímica da expressão dos marcadores ALCAM e ALDH1 em pacientes com adenocarcinoma colorretal e associação com desfechos clinicopatológicos. BioSCIENCE. 2024;82:e0062.

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é a terceira causa mais comum de morte por câncer no mundo (mortalidade 8,9%). Os pilares de seu tratamento constituem-se de procedimento cirúrgico, quimioterapia e radioterapia. Embora procedimento cirúrgico possa ser potencialmente curativo, menos de 25% dos casos são operáveis com taxas de recorrência de até 70%. Tumores inoperáveis, recidivas ou tumores metastáticos são tratados por quimioterapia paliativa, em geral.¹ Apesar destes, o prognóstico de tumores metastáticos permanece reservado.²

Determinar a fase de progresso (estadio), a extensão e a gravidade de tumor no momento do diagnóstico é essencial para que se estabeleça a estratégia do tratamento e para estimar a evolução da doença. As classificações utilizadas para definir seu estágio são: grau de diferenciação celular, estadios clínico e patológico, acometimento de linfonodos e presença de metástase à distância.³

O câncer colorretal restrito à parede do intestino (estágios I e II) é potencialmente curável devido à detecção e tratamento precoces. Apresenta sobrevida em 5 anos entre 70-90%. No entanto, a maioria dos países não possui programa de rastreamento que permita sua detecção precoce.⁴ Em contraste, a sobrevida média de 5 anos em estágio regional (estágio III) e distante (metastático; estágio IV) é de aproximadamente 50-70% e 10-14%, respectivamente.⁴ Estas taxas são atribuídas principalmente ao rompimento da parede intestinal pelo tumor e sua disseminação linfática para órgãos à distância através da corrente sanguínea. A incidência de CCR aumenta após os 50 anos de idade, com 90% dos casos estando dentro desta faixa etária.^{4,5}

Assim, o objetivo deste estudo foi correlacionar a expressão por imunoistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 em tecido com adenocarcinoma colorretal com as características epidemiológicas e clinicopatológicas dos pacientes, em particular o seu impacto na progressão de doença e no evento óbito.

MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Programa de Pós-Graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, em parceria com Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School Molecular Oncology and Immunology and Renal Division, Boston, USA. Ela foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba, sob parecer CAAE 66365117.0.0000.0103, estando de acordo com os preceitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CNS/MS). É estudo observacional, unicêntrico, analítico e retrospectivo.

Foram estudados pacientes do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil, que foram submetidos à ressecção cirúrgica por câncer colorretal e com prontuários acessíveis para consulta. Da mesma forma, era necessário haver disponibilidade dos blocos de parafina que confirmassem o diagnóstico

adenocarcinoma colorretal e também serem submetidos às novas divisões. Foram excluídos pacientes menores de 18 anos, com diagnóstico de câncer colorretal não adenocarcinoma, impedimentos acerca das informações clinicoepidemiológicas e também inviabilidade de se obter os referidos blocos de parafina (por dano pelo tempo ou pouca amostragem).

A amostra inicial foi de 219 pacientes. Deste total, 29 não dispunham do bloco de parafina, 32 blocos possuíam amostra muito pequena da biópsia de adenocarcinoma, o que inviabilizou o fracionamento; 5 foram diagnosticados com câncer colorretal não adenocarcinoma; 19 apresentavam dados clinicoepidemiológicos incompletos e em 12 não se pôde utilizar o bloco. Assim, a amostra final foi de 122 indivíduos com diagnóstico de adenocarcinoma colorretal e com informações clinicoepidemiológicas e blocos completos e disponíveis.

Realizou-se a seleção através de rastreio dos prontuários eletrônicos do hospital (sistema PAGU) utilizando os CID's C18, C19, C20 e C21. O critério de aceite para que o bloco fosse escolhido foi definido pela necessidade mínima de amostra tumoral que permitisse cortes adicionais sem que fosse utilizado por completo o material. A seguir, realizou-se a revisão das respectivas lâminas por patologista. Esta etapa foi considerada como segunda avaliação, haja vista a primeira ter sido realizada por especialista que emitiu o primeiro laudo; o do estudo selecionou os blocos que apresentavam maior massa tumoral nos casos em que havia mais de 1 bloco para ser revisto e confeccionou novas lâminas H&E para os casos que não foram encontradas as lâminas, para confirmação de adenocarcinoma. Assim, estes blocos pertinentes e adequados, foram encaminhados à imunomarcagem com ALCAM e ALDH.

Já para a pesquisa dos dados clinicoepidemiológicos além do sistema eletrônico de prontuários realizou-se contato telefônico com os pacientes ou suas famílias em casos de aquisição de informações extras. As informações foram distribuídas em tabela Excel® obedecendo o seguinte padrão: nome, data de nascimento, idade ao diagnóstico, gênero, telefone para contato, numeração do bloco de parafina, diagnóstico histológico, local do tumor primário, CID-10, data do diagnóstico, classificação TNM patológico, local de metástase ao diagnóstico (se presente), classificação TNM de acordo com AJCC/UICC do Manual de Estadiamento de tumores 6ª edição, estado da ressecção cirúrgica (R), progressão de doença (se presente), tempo livre de progressão (se presente), data da progressão (se presente), local de progressão (se presente), tempo de sobrevida em meses, evento óbito (se presente), tempo de seguimento, data de óbito (se presente), última consulta ambulatorial (se presente), e por fim, resultado da imunomarcagem da ALCAM e ALDH.

Como variáveis, considerou-se a idade do diagnóstico, tabulou-se a faixa etária por décadas e, com o objetivo de aperfeiçoar a comparação, agruparam-se as seguintes décadas: menores de 50 anos, entre 50-65 e acima dos 65 anos. Quanto ao gênero, classificou-se em masculino e feminino, conforme informado em seu prontuário. A topografia estava de acordo com informações do prontuário ou laudo da anatomia patológica em cólon

ascendente, transverso, descendente, sigmoide e reto. Em casos de informação incerta precisa, classificou-se como indeterminado. Optou-se por agrupar os pacientes de tumores de cólon ascendente e transverso. Desta forma obteve-se 4 grupos: cólon ascendente/ transverso, cólon descendente, sigmoide e reto.

Em casos de metástase no momento do diagnóstico, foi fixada sua localização: hepática, pulmonar, peritoneal ou outros locais (diferentes locais de metástase que não os já contemplados). Classificou-se os pacientes em estadiamento clínico 0 à IV, de acordo com classificação da American Joint Commission Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC), Cancer Staging Manual 6ª edição.

Documentou-se a progressão de doença a partir da evidência de recidiva local ou metástase à distância. Recidiva local referia-se aos pacientes que já possuíam critérios de cura e apresentaram doença no local da ressecção da doença primária em seu seguimento. Metástases referia-se à evidência de neoplasia em outros sítios, como sítio cirúrgico (linfonodos, peritônio, órgãos contíguos) ou à distância (fígado, pulmão, peritônio ou outros locais) e foram avaliadas para sua inserção como progressão de doença local ou à distância. Calculou-se o tempo livre da doença em meses, levando em conta o período em que o paciente permaneceu sem sinais e sintomas da doença. O tempo de sobrevivência foi determinado em meses e definido como do momento do diagnóstico do adenocarcinoma colorretal até o momento em que o paciente morreu. O tempo de seguimento foi determinado em meses e definido como do momento diagnóstico do adenocarcinoma colorretal até a data do último contato, por consulta médica ambulatorial ou contato telefônico. O estadiamento patológico foi realizado através do laudo de anatomia patológica, que subsidiou o estadiamento patológico (pTNM) pós-operatório das lesões colorretais de adenocarcinoma utilizadas na pesquisa. Manteve-se como base a 6ª edição do AJCC, conforme utilizado à época no hospital.

Com relação aos dados do status pós-ressecção cirúrgica, utilizou-se o laudo da anatomia patológica para a sua definição, observando-se informações quanto à ressecabilidade e margens envolvidas. Para a informação do grau de diferenciação tumoral histopatológico utilizou-se o laudo da anatomia patológica após ressecção cirúrgica, também de acordo com a mesma edição do AJCC.

Análise dos biomarcadores tumorais

Foi realizada através da técnica de tissue microarray (TMA), seguida de marcação por imunohistoquímica. Para a confecção dos blocos de parafina, utilizou-se o aparelho Tissue Tek Quick-Array™, que continha pinças com diâmetros de 1-3 mm para a extração do fragmento desejado para ser submetido à imunohistoquímica, sendo utilizado na pesquisa a pinça de 2 mm.

Seguiram-se os seguintes passos, na montagem dos blocos multiamostrais: 1) seleção das áreas que continham maior representação da neoplasia nas lâminas coradas em H&E, e sinalizadas com caneta de retroprojeto; 2) marcação desta sinalização no respectivo bloco

de parafina, intitulado como bloco doador; 3) criou-se planilha Excel com os casos, semelhante a mapa cartesiano com 10 colunas e 6 linhas, sendo que a primeira célula ficava em branco pois servia de marcação para o início da leitura das lâminas e nas demais foram anotados os números de registros dos casos; 4) bloco multiamostrado confeccionado a partir de molde de parafina contendo 60 orifícios com diâmetros de 2 mm cujo objetivo era seguir a ordem relacionada na planilha de Excel® criada; 5) extração da área marcada do bloco doador com o equipamento de TMA; 6) alocação nos orifícios correspondentes no molde de parafina, obedecendo a ordem criada na planilha Excel®; 7) na determinação do ponto inicial da leitura da lâmina a primeira célula, correspondente ao primeiro orifício deste molde, era destinado a tecido não relacionado ao estudo, neste caso fragmento de placenta; 8) molde emblocado em parafina; 9) microtomia de 5 µm com material obtido colocado em lâminas Superfrost Plus (hidrofílica) para se iniciar a imunomarcação imunohistoquímica.

A técnica de imunohistoquímica foi realizada no instrumento Ventana Bench Mark Ultra™ com processamento 3 em 1 integrado. Nesse, as lâminas de TMA foram preparadas com desparafinização, rehidratação, recuperação antigênica com tampões Cell Conditioning 1 (pH alto) e Cell Conditioning 2 (pH baixo). Os anticorpos primários (Tabela 1) foram incubados por 16-20 min em temperatura ambiente.

TABELA 1 — Descrição dos anticorpos primários com seus respectivos fabricantes

Biomarcador	Anticorpo primário	Fabricante
ALCAM	clone EPR2759(2)	Medaysis
ALDH	ALDH1A1 clone 44	Medaysis

Em seguida, as lâminas eram submetidas à técnica da imunoperoxidase, sendo realizada a amplificação da marcação através do Kit ultra View Universal DAB Detection®. Após realizada a imunomarcação as lâminas de TMA foram laudadas e controles positivos internos e externos testaram a fidelidade das reações. As lâminas foram laudadas no microscópio Olympus CX31 por 2 patologistas diferentes, em tempos diferentes. Os seguintes parâmetros foram usados para se laudar os tumores quanto à imunomarcação em: positiva ALCAM por presença de marcação na membrana citoplasmática e ALDH por presença de marcação no citoplasma; negativa, caso o anticorpo não fosse visualizado em nenhuma distribuição histológica; indeterminada, caso não houvesse a possibilidade de realizar a leitura da lâmina devido à má qualidade da amostra.

Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA. Os resultados de variáveis quantitativas foram descritos por médias, desvios-padrão, medianas, e valores mínimos e máximos. Variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais. Para a análise de fatores associado ao tempo até a progressão da doença (PEVENT)

foram ajustados modelos de Fine e Gray considerando-se o óbito como risco competitivo. Após o ajuste, a medida de associação estimada foi a subdistribution hazard ratio (SHR). Para a análise de sobrevida foram ajustados modelos de regressão de Cox e estimados os valores de hazard ratio. Para ambos os modelos o teste de Wald foi usado para avaliar a significância das variáveis. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata/SE v.14.1. Stata Corp LP, USA.

RESULTADOS

A análise foi realizada com base nos dados de 122 pacientes que tinham dados válidos para os marcadores. Foi considerado 1 tumor em cada paciente.

A idade variou de 20-91 anos, com média 61,9. Houve prevalência de doença na 5ª. e 6ª. décadas de vida (54,9%). Dos 122 avaliados, 63 eram homens (51,6%) e 59 mulheres (48,4%). A incidência decrescente por topografia, conforme classificação optado pelo grupo de pesquisa, ficou com a seguinte distribuição: 42 casos (35,9%) no cólon ascendente/transverso, 31 (26,5%) no sigmóide, 27 no reto (23,1%), 17 (14,5%) no cólon esquerdo. Em 5 não foi possível determinar a localização precisa, recebendo a classificação indeterminado.

Constatou-se que 87 (71,3%) dos pacientes não tinham metástase ao diagnóstico e 35 (28,7%) sim. O local mais comum foi o fígado com 24 casos (19,7%), seguido pelo peritônio com 9 (7,4%), pulmões com 5 (4,1%) e outros locais com 10 (8,2%). Ao momento do diagnóstico de câncer primário, 13 pacientes apresentaram metástase para mais de 1 local.

De acordo com a UICC 6ª edição, do total, 1 (0,8%) era estadiado 0, 14 (11,5%)

do I, 33 (27%) do II, 39 (32%) do III e 35 (28,7%).

Os casos com comprometimento local (estadio 0/I/II) representaram 39,3% (48 casos), enquanto os com envolvimento linfonodal e metastático (III/IV) de 60,7% (74 casos).

Do total de casos, 43 (35,2%) apresentaram recidiva ou progressão da neoplasia, enquanto 79 (64,8%) não, sendo que 14 tinham progressão da doença em mais de um órgão. O local mais comum da progressão foi para o fígado, com 16 casos (13,1%), seguido pelo peritônio, com 13 casos (10,7%) e pulmão com 12 (9,8%). Outros locais totalizaram 20 (16,4%). Houve aumento de pacientes com progressão da doença ao longo do tempo. O tempo mediano de sobrevida estimado pelo método de Kaplan-Meier foi de 30 meses no grupo estudado, com variação de 0-85,7 meses. Do total de 122 pacientes, 68 (55,7%) morreram. Nos demais, houve mediana de seguimento de 35,9 meses (Tabela 1). A mediana do tempo de sobrevida dos pacientes que evoluíram ao óbito foi de 15,6 meses.

TABELA 1 — Tempo de seguimento durante o período estudado

Óbito	Follow-up óbito (meses)					
	n	Média	Mediana	Min	Max	DP
Não	54	39,9	35,9	0,20	101	27,7
Sim (tempo de sobrevida)	68	18,6	15,6	0	85,7	17,2
Todos	122	28,0	22,5	0	101	24,8

Em relação ao estadiamento patológico, observou-se predominio dos casos pT3 com 71 (58,2%) pacientes, pN0 com 52 (42,6%) e pMx com 72 casos (59%) pacientes (Tabela 2).

TABELA 2 — Distribuição dos pacientes conforme TNM

pTis	1	0,8
pT1	0	0
pT2	16	13,1
pT3	71	58,2
pT4	28	23
Biópsia	6	4,9
pNx	8	6,6
pN0	52	42,6
pN1	37	30,3
pN2	21	17,2
Biópsia	4	3,3
pMx	72	59
pM0	13	10,7
pM1	33	27
Biópsia	4	3,3
Total	122	100

Em relação ao status da ressecção cirúrgica, 85 (72%) foram classificados como R0 (ressecção completa), 23 (19,5%) como R1 (tumor residual microscópico), e 10 (8,51%) como R2 (tumor residual macroscópico). Do total da amostra, 4 não puderam ter seus dados avaliados neste critério.

Quanto ao grau de diferenciação houve predominio de tumores moderadamente diferenciado com 101 amostras (82,8%), seguido pelos pouco diferenciados com 10 (8,2%) e bem diferenciados com 8 (6,6%). Do total, 2,4% foram de indeterminados.

Imunomarcação com ALCAM e ALDH1

Após revisão histopatológica, confecção de TMA e reação de imunoistoquímica de ALCAM e ALDH1, avaliou-se sua expressão em tecido com carcinoma colorretal. A positividade de ALCAM foi de 32,8% (n = 40), enquanto ALDH foi de 44,3% (n = 54, Tabela 3). Não foi observado significância estatística na presença ou ausência dos marcadores ALCAM e ALDH em relação à idade, ao diagnóstico dos pacientes, ao gênero, ao grau de diferenciação, ao estadiamento clínico ou metástases em qualquer sítio.

TABELA 3 — Imunomarcação com ALCAM e ALDH1

ALCAM	n	%
Negativo	54	44,3
Positivo	40	32,8
Inconclusivo	28	23
ALDH1	n	%
Negativo	41	33,6
Positivo	54	44,3
Inconclusivo	27	22,1
Total	122	100

Avaliação de fatores associados à progressão de doença

A análise não mostrou significância estatística para presença ou ausência de marcação do ALCAM e

ALDH. Também não se encontrou diferença estatística ao relacionar tempo de progressão da doença com idade ao diagnóstico, gênero, grau de diferenciação, topografia primária do tumor, estadiamento clínico ao diagnóstico, presença ou não de metástases e margem de ressecção cirúrgica comprometida (ressecção R1 e R2, Tabela 4).

TABELA 4 – Análise univariada para o evento progressão da doença

Variável	Classificação	n	%	p*	SHR	IC 95%
Idade no dx	< 50	22	10 (45,5)			
	50 a 65	45	17 (37,8)	0,300	0,67	0,31 – 1,43
	> 65	55	16 (29,1)	0,124	0,54	0,25 – 1,18
Gênero	Fem	59	16 (27,1)			
	Masc	63	27 (42,9)	0,127	1,63	0,87 – 3,04
Grau de diferenciação*	Bem diferenc	8	3 (37,5)			
	Moderado	101	39 (38,6)	0,738	1,19	0,42 – 3,38
	Pouco diferenc	10	1 (10,0)	0,360	0,34	0,04 – 3,36
Topografia do tumor primário**	Cólon direito/transverso	42	12 (28,6)			
	Cólon esquerdo	17	5 (29,4)	0,681	1,27	0,41 – 3,89
	Retossigmoide	31	12 (38,7)	0,495	1,31	0,60 – 2,88
	Reto	27	12 (44,4)	0,332	1,47	0,68 – 3,19
Metástase pulmonar	Não	117	39 (33,3)			
	Sim	5	4 (80,0)	0,019	4,33	1,27 – 14,7
Metástase hepática	Não	98	34 (34,7)			
	Sim	24	9 (37,5)	0,557	1,26	0,58 – 2,72
Metástase peritoneal	Não	113	40 (35,4)			
	Sim	9	3 (33,3)	0,806	0,86	0,27 – 2,80
Metástase para outros sítios	Não	112	41 (36,6)			
	Sim	10	2 (20,0)	0,531	0,64	0,16 – 2,59
Presença de metástase	Não	87	30 (34,5)			
	Sim	35	13 (37,1)	0,360	1,37	0,70 – 2,69
UICC	0/I	15	5 (33,3)			
	II	33	10 (30,3)	0,572	0,75	0,28 – 2,00
	III	39	16 (41,0)	0,394	1,50	0,59 – 3,85
	IV	35	12 (34,3)	0,662	1,25	0,46 – 3,44
UICC agrupado	0/I/II	48	15 (31,2)			
	III/IV	74	28 (37,8)	0,085	1,68	0,93 – 3,05
Status de ressecção cirúrgica	R0	85	31 (36,5)			
	R1	23	8 (34,8)	0,739	1,14	0,53 – 2,48
	R2	10	3 (30,0)	0,944	0,95	0,26 – 3,55
Tratamento	Operação	105	30 (28,6)			
	Outros	17	13 (76,5)	<0,001	3,30	1,88 – 5,79
ALCAM	Negativo	54	20 (37,0)			
	Positivo	40	14 (35,0)	0,607	0,84	0,43 – 1,65
	Inconclusivo	28	9 (32,1)	0,938	0,97	0,44 – 2,12
ALDH1	Negativo	41	10 (24,4)			
	Positivo	54	22 (40,7)	0,182	1,64	0,79 – 3,40
	Inconclusivo	27	11 (40,7)	0,060	2,30	0,97 – 5,50

SHR =subdistribution hazard ratio; IC95% = 95% confidence interval; modelo de Fine e Gray e teste de Wald, p < 0,05; * = excluídos 3 pacientes que tiveram grau de diferenciação indeterminado; ** = excluídos 5 pacientes que tiveram topografia indeterminada

Entretanto, ao relacionar tempo de progressão da doença com o tratamento instituído, observou-se que pacientes submetidos ao tratamento não cirúrgico (SHR 3,30; 1,88 – 5,79) apresentaram menor sobrevida (p < 0,001). Também se observou pior prognóstico quando existia doença metastática para pulmão (SHR 4,33; 1,27 – 14,7, p < 0,05). A avaliação da progressão de doença conforme imunomarcacção não mostrou relevância estatística. A análise univariada mostrou nos indivíduos com ALCAM positiva (n = 40), 14/40 (35%) tiveram progressão, p = 0,607, SHR 0,84 (IC: 0,43-1,65) e para ALDH positiva (n = 54), 22/54 (40,7%) tiveram progressão, p = 0,182, SHR 1,64 (IC: 0,79-3,40). A

avaliação da progressão de doença conforme o estadio UICC agrupado não mostrou relevância estatística.

Avaliação de fatores associados ao óbito

Nesta avaliação não foi encontrada significância estatística entre presença ou ausência da marcação dos marcadores estudados. A análise univariada mostrou indivíduos com ALCAM positiva (n = 40), 24/40(60%), p = 0,789, SHR 0,93 (IC: 0,54- 1,60) evoluírem ao óbito, diferente do ALDH1 positivo (n = 54), 33/54 (61,1%), p = 0,771, SHR 1,09 (IC: 0,62-1,90).

Entretanto, os com tumores pouco diferenciados (HR 17,6; 3,5 – 88,6), estadio clínico avançado (UICC III/IV, HR 2,52; 1,49 – 4,25), e evento progressão de doença (HR 5,91; 3,37 – 10,4) mostraram maior relação com óbito (p < 0,001). Nos casos dos com tumores primários de reto (HR 2,25; 1,13 – 4,48), metástase hepática ao diagnóstico (HR 2,02; 1,17 – 3,47) e margem de ressecção cirúrgica comprometida (ressecção R1, HR 2,00; 1,08 – 3,70), esta associação também foi observada, com significância estatística (p < 0,05, Tabela 5).

TABELA 5 – Avaliação de fatores associados ao óbito

Variável	Classif	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
Idade no dx	< 50	22	9 (40,9%)			
	50 a 65	45	26 (57,8%)	0,587	1,23	0,58 – 2,64
	> 65	55	33 (60,2%)	0,110	1,83	0,87 – 3,84
Gênero	Masculino	63	32 (50,8%)			
	Feminino	59	36 (61,0%)	0,134	1,44	0,89 – 2,34
Grau de diferenciação*	Bem diferenc	8	2 (25,0%)			
	Moderado	101	58 (57,4%)	0,078	3,55	0,87 – 14,6
	Pouco diferenc	10	7 (70,0%)	0,001	17,6	3,5 – 88,6
Topografia tumor primário**	Retossigmoide	31	13 (41,9%)			
	Cólon direito/transverso	42	19 (45,2%)	0,556	1,24	0,61 – 2,51
	Cólon esquerdo	17	11 (64,7%)	0,125	1,88	0,84 – 4,20
	Reto	27	22 (81,5%)	0,021	2,25	1,13 – 4,48
Metástase pulmonar	Não	117	65 (55,5%)			
	Sim	5	3 (60,0%)	0,714	1,24	0,39 – 3,98
Metástase hepática	Não	98	50 (51,0%)			
	Sim	24	18 (75,0%)	0,011	2,02	1,17 – 3,47
Metástase peritoneal	Não	113	62 (54,9%)			
	Sim	9	6 (66,7%)	0,512	1,32	0,57 – 3,07
Metástases em outros sítios	Não	112	62 (55,4%)			
	Sim	10	6 (60,0%)	0,075	2,17	0,92 – 5,11
Presença de metástase	Não	87	44 (50,6%)			
	Sim	35	24 (68,6%)	0,004	2,12	1,27 – 3,52
UICC	0/I	15	7 (46,7%)			
	II	33	15 (45,4%)	0,616	0,79	0,32 – 1,96
	III	39	23 (59,0%)	0,114	1,98	0,85 – 4,64
	IV	35	23 (65,7%)	0,052	2,33	0,99 – 5,46
UICC agrupado	0/I/II	48	22 (45,8%)			
	III/IV	74	46 (62,2%)	0,001	2,52	1,49 – 4,25
Status de ressecção cirúrgica	R0	85	42 (49,4%)			
	R1	23	14 (60,9%)	0,028	2,00	1,08 – 3,70
	R2	10	8 (80,0%)	0,103	1,58	0,88 – 4,02
Tratamento	Cirurgia	105	57 (54,3%)			
	Outros	17	11 (64,7%)	0,527	1,23	0,64 – 2,36
Evento de progressão	Não	79	41 (51,3%)			
	Sim	43	27 (62,8%)	<0,001	5,91	3,37 – 10,4
ALCAM3	Negativo (ref)	54	31 (57,4%)			
	Positivo	40	24 (60,2%)	0,789	0,93	0,54 – 1,60
	Inconclusivo	28	13 (46,4%)	0,710	1,13	0,59 – 2,19
ALDH1	Negativo (ref)	41	20 (48,8%)			
	Positivo	54	33 (61,1%)	0,771	1,09	0,62 – 1,90
	Inconclusivo	27	15 (55,6%)	0,102	1,76	0,89 – 3,48

* = Modelo de regressão de Cox e teste de Wald, p < 0,05; a variável Evento de progressão foi incluída como tempo- dependente; * = excluídos 3 pacientes que tiveram grau de diferenciação indeterminado; ** = excluídos 5 pacientes que tiveram topografia indeterminada.

Avaliação de fatores associados ao tempo de seguimento e sobrevida

Essa associação mostrou tendência da mediana de seguimento maior em estadios clínicos mais precoces (0 / I / II, Tabela 6).

TABELA 6 – Tempo de seguimento

Tempo de seguimento (meses)						
UICC	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão
0 / I	15	31,9	30,1	1,37	63,6	17,7
II	33	44,2	47,5	0,03	101	30,5
III	39	20,5	15,6	0	83,2	18,5
IV	35	19,4	15,6	0,03	85,7	20,0

A sobrevida em 5 anos para o estadió 0/I/II foi de 48,5%, e 23,2% para estádios III/IV (Tabela 7). Do grupo acompanhado, 68 pacientes (55,7%) morreram.

TABELA 7 — Tempo de sobrevida global e classificação conforme estadiamento clínico

Tempo	Percentual de sobrevida		
	0 / I / II	III / IV	Geral
Diagnóstico	100%	100%	100%
1 ano	85,00%	70,20%	76,20%
2 anos	80,60%	45,40%	60,60%
3 anos	59,60%	33,00%	44,40%
5 anos	48,50%	23,20%	34,40%

Avaliação de fatores associados aos biomarcadores

Nesta amostra, ALCAM marcou positivo em 16 casos em doença local (estádio 0, I, II), sendo que destes, 5 (31,2%) evoluíram ao óbito. Nos casos de presença de metástase linfonodal ou à distância (estádio III e IV), observaram-se 24 casos com ALCAM positivo, e 19 (79,2%) deles morreram. Apesar de valores relevantes, estes dados não obtiveram significância estatística (Tabela 8).

TABELA 8 — Relação da expressão do marcador ALCAM com estadió clínico

ALCAM	Classif	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
0/I e II	Negativo	24	13 (54,2%)			
	Positivo	16	5 (31,2%)	0,056	0,36	0,13 – 1,03
	Inconclusivo	8	4 (50,0%)	0,938	1,05	0,34 – 3,23
III e IV	Negativo	30	18 (60,0%)			
	Positivo	24	19 (79,2%)	0,290	1,43	0,74 – 2,79
	Inconclusivo	20	9 (45,0%)	0,879	1,07	0,47 – 2,42

* = Modelo de regressão de Cox e teste de Wald, $p < 0,05$

A amostra ALDH1 marcou positivo em 27 casos em doença local (estádio 0, I, II), sendo que destes, 20 (74,1%) morreram. Nos casos de presença de metástase linfonodal ou à distância (estádio III e IV), observaram-se 27 casos com ALDH1 positivo, e 12 (48,1%) morreram. Apesar de valores relevantes, estes dados não obtiveram significância estatística. O inconclusivo foi relevante (Tabela 9).

TABELA 9 — Relação da expressão do marcador ALDH1 com estadió clínico

ALDH1	Classif	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
0/I e II	Negativo	28	17 (60,7%)			
	Positivo	27	20 (74,1%)	0,216	1,54	0,78 – 3,04
	Inconclusivo	19	9 (47,4%)	0,676	1,20	0,52 – 2,76
III e IV	Negativo	13	3 (23,1%)			
	Positivo	27	13 (48,1%)	0,389	1,74	0,49 – 6,11
	Inconclusivo	8	6 (75,0%)	0,015	5,66	1,39 – 23,1

* Modelo de regressão de Cox e teste de Wald, $p < 0,05$

Avaliação de concordância entre ALCAM e ALDH1 e multivariada

A concordância entre eles mostrou-se fraca, com 22,1% de concordância em ambos positivos ($n = 27$) e 22,1% ($n = 27$) em ambos negativos de um total de 122 pacientes avaliados. Na análise multivariada entre os fatores metástase pulmonar, estadió clínico e marcador

ALCAM observou-se significância estatística na presença de metástase pulmonar. Já na análise multivariada entre os fatores metástase pulmonar, estadió clínico e marcador ALDH1 não se observou significância estatística.

Análise multivariada sem a presença dos marcadores

Ao se realizar a análise multivariada dos fatores idade, progressão da doença, topografia do tumor primário, status pós-ressecção cirúrgica, estadió clínico e presença de metástase evidenciou-se que havia significância estatística na idade acima de 65 anos, presença de progressão da doença e ressecção cirúrgica incompleta ou tumor residual. Ao se realizar a análise multivariada dos fatores idade, progressão da doença, status pós-ressecção cirúrgica, estadió clínico e positividade da ALCAM constatou-se significância estatística na idade acima de 65 anos, presença de progressão da doença e ressecção cirúrgica incompleta ou tumor residual. Conforme análise multivariada relacionando idade, evento progressão, status pós- ressecção cirúrgica, estadió clínico e positividade da ALDH1 constatou-se significância estatística na idade acima de 65 anos e presença de progressão da doença.

DISCUSSÃO

A idade dos pacientes no momento do diagnóstico do câncer colorretal é fator muito importante para avaliar medidas de rastreio em políticas de saúde. Diversos estudos clássicos mostram baixa incidência abaixo dos 50 anos, sendo a idade mediana ao diagnóstico em torno de 70 anos em países desenvolvidos. No entanto, no presente estudo observou-se idade média de 61,9 anos. Com relação à distribuição dos pacientes por faixa etária verificou-se o diagnóstico em 18% dos casos na população abaixo dos 50 anos, grande parcela na faixa entre 50-65, que representa 36,9% dos casos e, na faixa acima, 45,1%. Esse dado é importante pois pode representar sinal de alerta de que o câncer colorretal se apresenta com tendência de surgimento cada vez mais precoce. A demonstração de aparecimento abaixo dos 50 anos de forma significativa pode ter efeito sobre os programas de rastreamento, que hoje preconizam exames complementares a partir dos 50 anos na população geral.^{6,7}

Embora seja descrito que mutações no gene BRCA estejam relacionadas com aumento do risco de câncer colorretal, com alguns estudos trazendo a hipótese de que mulheres de forma geral teriam também risco aumentado, os resultados deste estudo mostraram distribuição similar entre homens e mulheres, com leve desvio para o gênero masculino (51,6%). Os estudos epidemiológicos populacionais mostram distribuição semelhante (49-52% homens), o que sugere a possibilidade de causas diferentes de acordo com o gênero, pois se alguns fatores aumentam o risco no gênero feminino, outros aumentariam no masculino.⁸⁻¹¹

Outro dado que corrobora com a ideia de que o mecanismo etiológico pode ser diferente entre homens e mulheres, é a diferença significativa na localização do tumor. Enquanto e especialmente em mulheres mais

velhas, a porção mais acometida é o cólon proximal, nos homens a maioria envolve o cólon distal e reto. Os dados aqui apresentados mostram distribuição menor no cólon proximal (35,9%) em relação ao distal e reto que, quando comparados com outros estudos, apresentam variações não significativas.^{2,9,12,13}

Diversos estudos mostraram associação de formas mais agressivas da doença no cólon proximal, e pior prognóstico em mulheres, já que são mais propensas a esta localização. Dentre os fatores que podem justificar essa diferença de comportamento, está a possível diferença entre os mecanismos etiológicos e fatores relacionados ao próprio diagnóstico, como a maior chance de resultado colonoscópico falso negativo nos tumores de cólon proximal. No entanto, o resultado do presente estudo não mostrou diferença significativa da progressão da doença, tanto em relação à localização quanto ao gênero. Pelo contrário, os dados foram mais próximos de um risco maior de em homens, porém não de forma significativa estatisticamente (SHR 1,63; IC 0,87-3,04).^{4,8,12}

A progressão da doença, nesta análise, foi caracterizada como nova evidência de doença após o primeiro tratamento, seja como recidiva local, piora no estadiamento TN ou ainda aparecimento de metástases. Nesta amostra, 35,2% dos pacientes tiveram algum tipo de recorrência do tumor em até 5 anos, sendo que não foi possível observar picos de incidência, ou seja, a recorrência teve distribuição linear. Os dados sobre recorrência variam na literatura entre 23-45% entre os pacientes submetidos à ressecção com intenção curativa. Esse número levanta várias hipóteses tanto sobre a fisiopatologia da recorrência, fatores que podem estar associados com aumento ou diminuição desse risco, e também quanto ao acompanhamento pós-cirúrgico.^{14,15}

Em relação aos fatores que poderiam ter influência sobre a progressão da doença, não se obteve resultados significativamente estatísticos em relação à localização do tumor, grau de diferenciação tumoral, estadiamento clínico, presença ou não de metástases à distância ou nível de ressecção tumoral (R0, R1 e R2). Associação significativa encontrada foi em relação à presença de metástase pulmonar (SHR 4,33; IC 1,27-14,7). Além disso, foi observado importante correlação da progressão da doença com a modalidade de tratamento primário (SHR 3,30; IC 1,88- 5,79); porém, esta variável apresenta um viés por ser dependente do estadiamento clínico.

Wilhelmsen et al.¹⁵ mostraram que inúmeros fatores podem estar relacionados à recorrência, como mutações no gene K-ras, instabilidades microssatélites, entre outras. Seu estudo propõe subdivisões dentro dos estadiamentos clínicos, baseados na resposta do tratamento, para melhor definir o risco de recorrência nesses pacientes específicos. Alguns autores estudaram associações que possam reduzir o risco de progressão da doença, como uso de estatina após o primeiro tratamento, mas os resultados não mostraram impacto na progressão em si, embora tenham efeito na sobrevida global.¹⁴⁻¹⁸

Em relação aos marcadores analisados, não foi possível afirmar que existe relação prognóstica em sua expressão. Com relação à ALCAM (CD166) os resultados mostraram que a minoria dos tumores apresentava sua

expressão, de forma diferente ao encontrado na literatura. No entanto, não caracterizou-se de forma específica a expressão quantitativa e o sítio celular detalhado.¹⁹⁻²¹

A maioria dos estudos que avaliaram associação da ALCAM com prognóstico não apresentaram dados relativos à progressão da doença. Estes resultados mostraram que não houve correlação significativa entre a expressão de ALCAM e a recorrência (SHR 0,84; IC 0,43 – 1,65). Lugli et al.¹⁹ obteve resultados semelhantes, onde não houve significância estatística na correlação com recorrência local ou metástases.¹⁹

A expressão de ALDH1 é encontrada em 70-80% dos cânceres colorretais, segundo estudos prévios. Porém, nesta amostra encontrou-se ALDH1 positiva em 44,3% de 122 casos. Uma possível explicação para essa diferença foi o elevado número de amostras inconclusivas para ALDH1 (11%, 27 casos), ou seja, a dificuldade técnica de se obter esse resultado pode ter subestimado o número de casos com positividade para ALDH1.²⁰⁻²³

A relação da expressão de ALDH1 com a recorrência da doença apresenta alguns resultados não significativos estatisticamente e outros mostrando relação de risco aumentado que, quando agrupados em metanálise, correlacionam a ALDH1 com pior taxa de sobrevida livre de doença em 5 anos, ou seja, mais eventos de recorrência. Nossos resultados não mostraram significância estatística nessa associação, mas sugerem que, se agrupados com outros estudos, podem reforçar a correlação de ALDH1 com maior progressão da doença (SHR 1,64; IC 0,79-3,40).²⁴

Embora poucos fatores tenham demonstrado correlação significativa estatisticamente com eventos de progressão da doença, os óbitos mostraram mais associações. Estes resultados sugerem impacto maior de outros fatores relacionados à idade (comorbidades por exemplo) na sobrevida desse grupo de pacientes do que a progressão da doença.

Ao analisar-se toda a amostra os fatores de maior impacto no risco de óbito em 5 anos foram grau de diferenciação tumoral com neoplasia pouco diferenciada (HR 17,6; IC 3,5-88,6), localização do tumor no reto (HR 2,25; IC 1,13-4,48); a progressão de doença na forma ou recidiva local foi o fator de maior impacto no risco de óbito em 5 anos (HR 5,91; IC 3,37-10,4). Além destas variáveis, a presença de metástase hepática também relacionou-se ao óbito (HR 2,02; 1,17- 3,47). A correlação entre a idade aumentada e menor sobrevida concorda com diversos estudos recentes; porém, ainda existe controvérsia sobre a provável causa dessa correlação, se seriam comorbidades associadas, grau de diferenciação do tumor, ou fator de risco isolado.^{25,26}

Diversos estudos têm explorado as potenciais diferenças em relação à sobrevida entre os tumores localizados no lado direito e esquerdo. Nesta amostra, tumores localizados no reto tiveram pior prognóstico em relação à sobrevida quando comparados aos outros locais (HR 2,25; IC 1,13-4,48).

Benedix et al.²⁷ afirmaram que, apesar de metástases à distância serem mais comuns nos tumores à esquerda, a sobrevida é significativamente pior no lado direito, quando agrupados por estadiamento clínico. Outros estudos

mostram resultados similares, porém contrastam com publicação recente que, utilizando dados multicêntricos, mostrou ausência de diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, com exceção ao estadiamento 3.²⁷⁻³⁰ Além disso, é possível que as diferenças encontradas sejam devido à outras variáveis possivelmente dependentes da localização do tumor, como grau de diferenciação e diferenças imunológicas, pois os resultados mostram associação apenas em análises univariadas, não sendo encontradas publicações com análises multivariadas.¹²

Concordando com a literatura, o estadiamento clínico no diagnóstico foi um importante fator de risco para o óbito em 5 anos, com pacientes estadio III e IV tendo um risco 2,52 vezes maior (IC 1,49-4,25). Esse dado reforça a importância do diagnóstico precoce; porém, mesmo com os programas de rastreamento vigentes, mais da metade (60,4%) dos pacientes foi diagnosticada já nos estadiamentos mais avançados (III e IV). Esse dado é semelhante ao de países emergentes, como mostra, por exemplo, estudo da Malásia onde 58,6% também se encontravam nos estádios tardios no momento do diagnóstico.²⁵

Regiões desenvolvidas apesar de apresentarem as maiores incidências do câncer colorretal, têm também as maiores taxas de sobrevida em 5 anos. O diagnóstico precoce tem grande influência nessa estatística, pois apenas 25% aproximadamente são diagnosticados nos estadiamentos mais avançados.^{4,31}

Neste estudo a expressão de ALCAM (CD166) não mostrou correlação estatisticamente significativa com a sobrevida global, concordando com o encontrado por Lugli et al.¹⁹ que utilizaram a maior amostra encontrada na literatura. Embora nesta metanálise tenha sido demonstrada a associação da ALCAM com pior prognóstico (HR 1.⁹⁴; IC 1,05-3,58), a existência de estudos contraditórios e limitrofes pesam mais para a ausência de impacto do CD166 do que para sua utilização como marcador prognóstico independente.^{3,19,20,21}

Uma possível explicação para os resultados conflitantes é a falta de padronização na pesquisa da ALCAM no câncer colorretal, embora o primeiro estudo que investigou a associação prognóstica já tenha observado diferenças nessa expressão em diferentes sítios da mesma célula, podendo mascarar os resultados obtidos de forma menos específica. Outro aspecto apresentado pela ALCAM é relação não linear ao grau de diferenciação celular, o que pode indicar a necessidade de aplicação de algum fator de correção em sua expressão de acordo com a classificação histológica para esclarecimento do padrão evolutivo. No entanto, os resultados aqui apresentados mostraram o mesmo padrão de expressão se estratificados de acordo com o estadiamento clínico. Quando comparado aos estádios I e II apresentou HR 0,36 (IC 0,13 – 1,03) e HR 1,43 (0,74 – 2,79) nos estádios III e IV.^{4,32-34}

A associação de ALCAM com outros tipos de câncer e os resultados que, embora controversos, mostram relação com prognóstico nos pacientes com câncer colorretal mantém essa proteína como potencial biomarcador com relevância clínica; porém, os vieses ainda são grandes para estabelecê-la como forte marcador prognóstico.^{21,35,36}

Os resultados também não mostraram associação significativa da ALDH1 com a sobrevida global dos pacientes (HR 1,09; IC 0,62 – 1,90). Estudos anteriores o mostraram como forte marcador de óbito em até 5 anos, porém sua expressão apresenta subgrupos com características específicas e, da mesma forma que ocorre com a ALCAM, os resultados podem ser contaminados pela falta de especificidade na técnica de pesquisa.^{20,24}

O refinamento da ALDH1 para melhor análise em relação à sobrevida deve ser realizado de forma quantitativa e qualitativa, separando em subgrupos para identificação mais específica do seu papel como marcador tumoral. Fitzgerald et al.³⁷ mostraram que mesmo entre os casos com expressão positiva de ALDH1, existe diferença significativa entre a expressão alta e baixa. Outros autores afirmaram que ALDH1 deve ser dividida em subgrupos de acordo com seu sítio específico de expressão celular. O mecanismo exato da ação dela na patogênese do câncer colorretal não é conhecido, porém diversos estudos correlacionam sua expressão com grau de invasão local e metástases linfonodais.^{21,24,33,37-39}

Perspectivas futuras

Embora os estudos iniciais tenham apontado ALCAM e ALDH1 como potenciais marcadores prognósticos no câncer colorretal, ainda existem diversos pontos conflitantes entre os estudos. Estes pontos são: 1) o evento progressão da doença de forma isolada, os casos de metástase pulmonar e os que não foram tratados cirurgicamente apresentam pior desfecho; 2) o óbito, avaliado de forma também isolada, apresenta-se mais em pacientes com tumores primários de reto, estadio clínico avançado (caracterizado por doença linfonodal e metastática presentes), margens cirúrgicas comprometidas, presença de metástase hepática, e tumores com grau histológico pouco diferenciados; 3) metástase pulmonar, estadio clínico e marcador ALCAM apresentaram significância estatística, o que não ocorreu com ALDH1. Para a minimização desses pontos é necessário fazer o máximo refinamento na pesquisa dessas substâncias, de forma quantitativa e qualitativa, para que os resultados possam ser conclusivos.

CONCLUSÕES

A expressão por imunoistoquímica dos marcadores ALCAM e ALDH1 não apresentou associação com as características epidemiológicas e clinicopatológicas avaliadas. Em relação à progressão de doença e ao evento óbito também não foi possível observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

Contribuição dos autores

Conceituação: Ana Maria Waaga-Gasser
Análise formal: Cecilia Neves de Vasconcelos
Metodologia: Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas
Administração do projeto: Rodrigo Ketzer Krebs
Supervisão: Martin Gasser
Redação (esboço original): Nicolau Gregori Czeckzo
Redação (revisão e edição): Todos os autores

REFERÊNCIAS

1. Neo JH, Ager EI, Angus PW, Zhu J, Herath CB, Christophi C. Changes in the renin angiotensin system during the development of colorectal cancer liver metastases. *BMC Cancer*. 2010;10:134. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-134>

2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin.* 2009;59(4):225-49. <https://doi.org/10.3322/caac.20006>
3. Weichert W, Beier D, Russo L, Dietel M, Kristiansen G. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol.* 2004;57(11):1160-4. <https://doi.org/10.1136/jcp.2004.016238>
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(3):177-93. Doi: 10.3322/caac.21395
5. Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg.* 2009;22:191-7. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242458>
6. Issa IA, Nouredine M. Colorectal cancer screening: An updated review of the available options. *World J Gastroenterol.* 2017;23(28):5086-96. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i28.5086>
7. Siegel RL, Jemal A, Thun MJ, Hao Y, Ward EM. Trends in the incidence of colorectal cancer in relation to county-level poverty among blacks and whites. *J Natl Med Assoc.* 2008;100(12):1441-4. [https://doi.org/10.1016/s0027-9684\(15\)31544-3](https://doi.org/10.1016/s0027-9684(15)31544-3)
8. Kim SE, Paik HY, Yoon H, Lee JE, Kim N, Sung MK. Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk. *World J Gastroenterol.* 2015;21(17):5167-75. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i17.5167>
9. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(4):271-89. <https://doi.org/10.3322/caac.21349>
10. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen D, Meester RGS, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(3):177-93. <https://doi.org/10.3322/caac.21395>
11. Sopik V, Phelan C, Cybulski C, Narod SA. BRCA1 and BRCA2 mutations and the risk for colorectal cancer. *Clin Genet.* 2015;87(5):411-8. <https://doi.org/10.1111/cge.12497>
12. Lee GH, Malietzis G, Askari A, Bernardo D, Al-Hassi HO, Clark SK. Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? – A systematic review. *Eur J Surg Oncol.* 2015;41(3):300-8. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.11.001>
13. Siegel RL, DeSantis CE, Virgo KS, Stein K, Mariotto A, Smith T, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012;62(4):220-41. <https://doi.org/10.3322/caac.21149>
14. Lash TL, Riis AH, Ostenfeld EB, Erichsen R, Vyberg M, Ahern TP, et al. Associations of statin use with colorectal cancer recurrence and mortality in a Danish cohort. *Am J Epidemiol.* 2017;186(6):679-87. <https://doi.org/10.1093/aje/kww245>
15. Wilhelmsen M, Kring T, Jorgensen LN, Madsen MR, Jess P, Bulut O, et al. Determinants of recurrence after intended curative resection for colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49(12):1399-408. <https://doi.org/10.3109/00365521.2014.926981>
16. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet.* 2014;383(9927):1490-502.
17. Cortet M, Grimault A, Cheynel N, Lepage C, Bouvier AM, Faivre J. Patterns of recurrence of obstructing colon cancers after surgery for cure: a population-based study. *Colorectal Dis.* 2013;15(9):1100-6. <https://doi.org/10.1111/codi.12268>
18. Gunawardene A, Desmond B, Shekouh A, Larsen P, Dennett E. Disease recurrence following surgery for colorectal cancer: five-year follow-up. *N Z Med J.* 2018;131(1469):51-8.
19. Lugli A, Iezzi G, Hostettler I, Muraro MG, Mele V, Tornillo L, et al. Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2010;103(3):382-90. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605762>
20. Holah NS, Aiad HA, Asaad NY, Elkhoully EA, Lasheen AG. Evaluation of the Role of ALDH1 as Cancer Stem Cell Marker in Colorectal Carcinoma: An Immunohistochemical Study. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(1):EC17-EC23. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22671.9291>
21. Zhang Y, Wang Z, Yu J, Ren J, Guan Y. Meta-analysis indicating that high ALCAM expression predicts poor prognosis in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017;8(29):48272-81. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17707>
22. Koppaka V, Thompson DC, Chen Y, Ellermann M, Nicolaou KC, Juvonen RO, et al. Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application. *Pharmacol Rev.* 2012;64(3):520-39. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005538>
23. Vasiliou V, Nebert DW. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family. *Hum Genomics.* 2005;2(2):138-43. Doi: 10.1186/1479-7364-2-2-138
24. Chen J, Li Y, Yu TS, Chang W, Yuan W, Ma Z, et al. Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(12):e0145164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145164>
25. Hassan MRA, Suan MAM, Soelar SA, Mohammed NS, Ismail I, Ahmad F. Survival Analysis and Prognostic Factors for Colorectal Cancer Patients in Malaysia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17(7):3575-81.
26. Kumar R, Price TJ, Beeke C, Jain K, Patel G, Padbury R, et al. Colorectal Cancer Survival: An Analysis of Patients With Metastatic Disease Synchronous and Metachronous With the Primary Tumor. *Clin Colorectal Cancer.* 2014;13(2):87-93. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2013.11.008>
27. Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger I, Lippert H, et al. Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Diseases of the colon and rectum. Dis Colon Rectum.* 2010;53(1):57-64. <https://doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181c703a4>
28. Meguid RA, Slidell MB, Wolfgang CL, Chang DC, Ahuja N. Is There a Difference in Survival Between Right- Versus Left- Sided Colon Cancers? *Annals of Surgical Oncology. Ann Surg Oncol.* 2008;15(9):2388-94. <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0015-y>
29. Suttie SA, Shaikh I, Mullen R, Amin AI, Daniel T, Yalamarthi S. Outcome of right- and left-sided colonic and rectal cancer following surgical resection. *Colorectal Dis.* 2011;13(8):884-9. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2010.02356.x>
30. Weiss JM, Pfau PR, O'Connor ES, King J, LoConte N, Kennedy G, et al. Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: analysis of surveillance, epidemiology, and end results--Medicare data. *J Clin Oncol.* 2011;29(33):4401-9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.4414>
31. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87-108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>
32. Burkhardt M, Mayordomo E, Winzer KJ, Fritzsche F, Gansukh T, Pahl S, et al. Cytoplasmic overexpression of ALCAM is prognostic of disease progression in breast cancer. *J Clin Pathol.* 2006;59(4):403-9. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.028209>
33. Horst D, Kriegel L, Engel J, Kirchner T, Jung A. Prognostic Significance of the Cancer Stem Cell Markers CD133, CD44, and CD166 in Colorectal Cancer. *Cancer Invest.* 2009;27(8):844-50. <https://doi.org/10.1080/07357900902744502>
34. Tomita K, van Bokhoven A, van Leenders GJ, Kiemeny LA, Karthaus HFM, Vriesema J, et al. Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule (ALCAM) Expression is Associated with a Poor Prognosis for Bladder Cancer Patients. *UroOncology.* 2003;3(3-4):121-9. <https://doi.org/10.1080/15610950310001632322>
35. Kahlert C, Pecqueux M, Halama N, Bergmann F, Schirmacher P, Kenngott HG, et al. Increased expression of ALCAM/CD166 in pancreatic cancer is an independent prognostic marker for poor survival and early tumour relapse. *Br J Cancer.* 2009;101(3):457-64. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605136>
36. King JA, Ofori-Acquah SF, Stevens T, Al-Mehdi AB, Fodstad O, Jiang WG, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule in breast cancer: prognostic indicator. *Breast Cancer Res.* 2004;6(5):R478-87. <https://doi.org/10.1186/bcr815>
37. Fitzgerald TL, McCubrey JA, Biswas T, Starr S, Sigounas G. The impact of Aldehyde dehydrogenase 1 expression on prognosis for metastatic colon cancer. *J Surg Res.* 2014;192(1):82-9. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.05.054>
38. Hessman CJ, Bubbers EJ, Billingsley KG, Herzig DO, Wong MH. Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. *Am J Surg.* 2012;203(5):649-53. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2012.01.003>
39. Zhou F, Mu YD, Liang J, Liu ZX, Chen HS, Zhang JF. Expression and prognostic value of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma. *Oncol Lett.* 2014;7(2):507-12. <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1723>