



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA



**ANÁLISE DE LINFONODOS NO CÂNCER COLORRETAL:
O IMPACTO DO USO DE UMA SOLUÇÃO CLAREADORA DE
GORDURAS**

RAIR GERALDO RICHARD XAVIER

Belo Horizonte - MG
2007

RAIR GERALDO RICHARD XAVIER

**ANÁLISE DE LINFONODOS NO CÂNCER COLORRETAL:
O IMPACTO DO USO DE UMA SOLUÇÃO CLAREADORA DE
GORDURAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Área de concentração: Patologia Médica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Margarida Miguel
Ferreira Nogueira.

Belo Horizonte - MG
2007

Dedicatória

Aos meus pais pela dedicação, doação e amor que possibilitaram essa conquista.

Aos meus irmãos pela força nos momentos difíceis.

À minha querida irmã que de onde estiver sei que estará feliz por mim.

À minha namorada e companheira pela compreensão, amor e carinho.

A todos os parentes, amigos e colegas que me acompanharam e apoiaram durante essa jornada.

Agradecimentos

Agradeço a Deus acima de tudo! Pois possibilitou, esteve presente e estará sempre presente em tudo aquilo que é realizado com amor e dedicação.

A professora Ana Margarida Miguel F. Nogueira pela presença, orientação e exemplo não só profissional e científico, mas como pessoa que contribui para uma formação reta em caráter e humana.

Ao Prof. Dr. Konradin Metze pela sua valiosa contribuição nas análises estatísticas e discussão dos resultados.

Ao colega e amigo Túlio Pereira Júnior pelo seu profissionalismo e dedicação a esse projeto.

Os colegas que contribuíram na obtenção dos casos: Cynthia Koepffel Berenstein, Daniel Ribeiro Moreira, Frederico Henrique Corrêa de Melo, Luciana de Paula Lima Gazzola, Marcelo Antônio Pascoal Xavier e Mário Félix Richard de Lima.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio para o desenvolvimento deste estudo.

RESUMO

Introdução: O acometimento de linfonodos (LN) é um critério importante para o estadiamento do câncer colorretal (CCR). Têm sido recomendadas técnicas especiais para melhorar a análise dos LN e detecção de metástases. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do uso de uma solução clareadora de gorduras na dissecação de LN em CCR. **Materiais e Métodos:** Analisaram-se prospectivamente 74 espécimes de CCR (35 homens, idade média de 62,9 anos). Após o exame de rotina e dissecação de LN pelo método convencional (MC) a gordura foi imersa em uma mistura contendo 65% de álcool, 20% éter, 5% ácido acético e 10% de formalina por 36h (três trocas) e realizou-se nova dissecação. Mediu-se o diâmetro dos LN usando sistema computadorizado (KS400, Carl Zeiss, Germany) e determinou-se o número de LN positivos e negativos menores que 4mm. O número e medida dos LN obtidos por ambos os métodos foram comparados e analisados em relação às características dos pacientes e do tumor. **Resultados:** Todos os CCR eram adenocarcinomas, 81% moderadamente diferenciados e 69% pT3; dissecaram-se 3167 LN (42,8/caso): Detectaram-se 1814(24,5/caso) pelo MC e 1355 (18,3/caso) após o uso da solução clareadora (SC); metástases em 196 LN: 170 (86,7%) pelo MC e 26 (13,2%) após a SC; 59% dos LN dissecados convencionalmente tinham menos de 4mm (n=1068, 14,4/caso; variação 0,4-23mm); 93% dos LN dissecados após a SC tinham menos de 4mm (n=1261, 17/caso; variação 0,2-11mm). Entre os 170 LN positivos (LN+) dissecados convencionalmente, 39 (22,9%) tinham menos de 4mm; 73% dos LN+ dissecados após a SC mediam menos de 4mm (p=0,000). O uso da SC aumentou o número de LN em 74,7% (p=0,000), a detecção de LN pequenos em 118% (p=0,000), e a detecção de metástases em 15,3%(p=0,003). Havia correlação entre o número de LN dissecados em ambos os grupos (r=0,3; p=0,004) e o número de LN+ após a SC foi maior quando pelo menos uma metástase foi previamente detectada (p=0,007). Observaram-se modificação do pN em cinco casos (p=0,03); 90% dos casos LN+ foram detectados somente após a dissecação de 40 LN. A idade dos pacientes (r=-0,2; p=0,04), diâmetro dos LN (menor: r=-0,3;p=0,01; maior: r=0,3;p=0,004) e o número de LN <4mm (r=0,9; p=0,000) foram significativamente associados com o número de LN. O pT, o número de LN <4mm e o diâmetro do maior LN foram fatores preditivos independentes do número de LN. **Conclusão:** Um grande número de LN pequenos deve ser dissecado para um estadiamento adequado dos CCR. Soluções de clareamento de gorduras simples de aplicar e pouco dispendiosas podem ser de grande ajuda neste propósito.

Palavras Chaves: carcinoma colorretal, metástases linfonodais, estadiamento, solução clareadora de gorduras.

ABSTRACT

Background: Lymph node (LN) involvement is one of the most important criteria for staging colorectal cancer (CRC). Special procedures have been recommended in order to improve LN analysis and metastasis detection. The aims of this study were to evaluate the impact of using a fat clearance solution in LN dissection. **Method:** We analysed prospectively 74 CRC (35 men, median age 62.9 years-old). After routine (conventional - CM) LN dissection, the fat was emerged in a mixture containing 65% alcohol, 20% ether, 5% acetic acid and 10% formalin (at 10%) for 36 hours (3 changes). A new LN search was performed. LN diameters were measured using a computerized system (KS400, Karl Zeiss, Germany). The number of positive and negative LN with <4mm was determined. The number and measures of the LN obtained by both methods were compared and analysed in respect to patients and tumour characteristics. **Results:** All CRC were adenocarcinomas, 81% moderately differentiated and 69% pT3; 3167 LN (42.8/case) were dissected: 1814 (24.5/case) by the CM and 1355 (18.3/case) after the use of the clearing solution (CS). Metastasis were detected in 196 LN: 170 (86.7%) by the CM and 26 (13.2%) after CS; 59% of the LN dissected conventionally had <4mm (n=1068, 14.4/case; range 0.4-23mm); 93% of the LN dissected after CS had <4mm (n=1261, 17/case; range 0.2-11mm). Among the 170 positive LN (LN+) conventionally dissected, 39 (22.9%) had <4mm; 73% of the LN+ dissected after CS measured <4mm (p=0.000). The use of the CS increased the LN number in 74.7% (p=0.000), the detection of small LN in 118% (p=0.000), and metastasis in 15.3% of the cases (p=0.003). The number of LN dissected in both groups was correlated (r=0.3; p=0.004) and the number of LN+ after CS was higher when at least one metastasis was previously detected (p=0.007); pN changed in 5 cases (p=0.03); 90% of the LN+ cases were detected only after the dissection of 40 LN. Patient's age (r=-0,2; p=0.04), LN diameter (smallest: r=-0.3;p=0.01; biggest: r=0.3;p=0.004) and the number of <4mm LN (r=0.9; p=000) were significantly associated with LN number. The number of LN was independently predicted by the pT, the number of <4mm LN and the diameter of the biggest LN. **Conclusion:** A large number of small LN must be dissected to adequately stage CRC. Fat clearing solutions simple to apply and neither expensive nor time consuming, might be useful for this propose.

Key Word's: colorectal cancer, lymph node metastases, staging, fat clearance solution.

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC	-	"American Joint Committee on Cancer"
CCR	-	Carcinoma colorretal(is)
HE	-	Hematoxilina & eosina
LN	-	Linfonodo(s)
MC	-	Método convencional de dissecação
SC	-	Solução clareadora de gorduras
SG	-	Sobrevida geral
SLD	-	Sobrevida livre de doença
TNM	-	"Tumor Node Metastasis"
UICC	-	"International Union Against Cancer"
UFMG	-	Universidade Federal de Minas Gerais
WHO	-	"World Health Organization"

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Distribuição dos casos de carcinoma colorretal quanto ao pT ----- 22
- Gráfico 2.** Relação entre o número de linfonodos dissecados pelo método convencional e a frequência acumulada de casos com metástases -----
----- 27
- Gráfico 3.** Mudança de estadiamento após o uso da solução reveladora em relação ao número de linfonodos dissecados pelo método convencional ----- 30
- Gráfico 4.** Probabilidade de encontrar um único linfonodo com metástases, caso ele exista, segundo o número total de linfonodos dissecados, usando-se apenas o método convencional de dissecação e após o uso da solução reveladora (Goldstein – 2002). ----- 31
- Gráfico 5.** Modelo preditivo do número final de linfonodos dissecados ----- 35
- Gráfico 6.** Mudança de estadiamento após o uso da solução clareadora em relação ao gênero ----- 36

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Processo de revelação usando-se a solução ----- 20
- FIGURA 2.** Linfonodos destacados como pequenos nódulos brancos na gordura pericólica após processo de clareamento ----- 23
- FIGURA 3.** Imuno-marcação por pan-citoqueratina (Antisoro AE1/AE3) -----24

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Classificação de Dukes -----	56
Quadro 2.	Avaliação da extensão do tumor no CCR – TNM -----	56
Quadro 3.	Avaliação do status dos linfonodos no CCR – TNM -----	57
Quadro 4.	Avaliação de metástases a distância no CCR – TNM -----	57
Quadro 5.	Grupamento por Estádios no CCR – TNM -----	57
Quadro 6.	Fatores prognósticos em câncer colorretal estabelecidos em 1999 pelo consenso do Colégio Americano de Patologistas (COMPTON <i>et al.</i> , 2000) -----	06
Quadro 7.	Custos da solução clareadora de gorduras -----	58
Quadro 8.	Estimativa de custo do tempo do patologista júnior -----	58
Tabela 1.	Probabilidade preditiva de se identificar linfonodos comprometidos de acordo com o número de linfonodos dissecados -----	10

Tabela 2.	Relação entre o número mínimo de linfonodos e a probabilidade para prever a ausência de metástases linfonodais, de acordo com a localização e o estágio do tumor -----	11
Tabela 3 .	Mortalidade em 5 anos em pacientes com carcinoma colorretal estágio III -----	12
Tabela 4 .	Anti-soro utilizado no estudo imuno-histoquímico -----	21
Tabela 5 .	Número de linfonodos obtidos pelo método convencional e após o clareamento -----	25
Tabela 6 .	Correlação do número de LN após o uso da SC e a detecção de metástases linfonodais no MC -----	26
Tabela 7 .	Mudança de grupos de estadiamento do pN em relação ao ponto de corte (12 linfonodos), após o uso da solução clareadora nos 43 cânceres colorretais inicialmente estadiados como pN0 -----	28
Tabela 8 .	Mudanças de estadiamento detectadas após o uso da solução clareadora, em 74 casos de câncer colorretal -----	29
Tabela 9 .	Mudanças de estadiamento em relação ao número de linfonodos dissecados antes e após o uso da solução clareadora -----	30

- Tabela 10 .** Fatores associados ao número final de linfonodos dissecados (linfonodos dissecados pelo método convencional mais linfonodos dissecados após o uso da solução clareadora)-----32
- Tabela 11 .** Fatores associados ao número final de linfonodos comprometidos (linfonodos comprometidos dissecados pelo método convencional mais linfonodos comprometidos dissecados após o uso da solução clareadora)----- 33
- Tabela 12 .** Fatores correlacionados com o número de linfonodos final e linfonodos comprometidos ----- 34
- Tabela 13 .** Dissecção média de linfonodos pelo método convencional em casos de carcinoma colorretal, registrada na literatura ----- 40

SUMÁRIO

Dedicatória -----	iii
Agradecimentos -----	iv
Resumo -----	v
Abstract -----	vi
Lista de Abreviaturas -----	vii
Lista de Gráficos -----	viii
Lista de Figuras -----	ix
Lista de Quadros e Tabelas -----	x
1. Introdução -----	01
2. Revisão da Literatura -----	03
2.1. Situação global e nacional -----	03
2.2. Estadiamento -----	03
2.3. Fatores prognósticos e preditivos no CCR-----	05
2.4. Análises dos linfonodos no CCR -----	07
2.5. Métodos de dissecação de linfonodos -----	14
2.5.1. Método convencional -----	14
2.5.2. Métodos de clareamento de gorduras -----	14
3. Objetivos -----	17
Objetivo geral -----	17
Objetivos específicos -----	17
4. Material e Métodos -----	18
4.1. Material -----	18
4.2. Processamento dos espécimes -----	19

4.3. Análise histológica e estadiamento -----	20
4.4. Dimensões dos linfonodos -----	20
4.5. Imuno-histoquímica -----	21
4.6. Análise estatística -----	21
5. Resultados -----	22
5.1. Casuística -----	22
5.2. Análise dos linfonodos-----	23
5.3. Impacto do uso da solução clareadora -----	25
5.3.1. Número de linfonodos -----	25
5.3.2. Estadiamento -----	27
5.4. Fatores correlacionados ou preditores do número de linfonodos -----	32
5.5. Fatores correlacionados a mudança de estadiamento (pN)-----	36
6. Discussão -----	37
7. Conclusões -----	46
8. Referências Bibliográficas -----	47
Anexos -----	55

1. Introdução

O prognóstico do câncer colorretal (CCR) é altamente dependente do estadiamento patológico. Apesar dos numerosos estudos sobre marcadores de prognóstico realizados em diversas populações, o sistema TMN é o único marcador consistente de prognóstico para o CCR. Neste sistema, o estadiamento patológico dos linfonodos (pN) tem grande importância e é determinante no uso de terapias adjuvantes (quimioterapia). Mais ainda, a presença de metástases em linfonodos (LN) regionais é, isoladamente, o fator prognóstico mais importante do CCR e é incorporado a todos os sistemas de estadiamento atualmente aceitos. Vários estudos apontam um número mínimo de linfonodos a analisar para que o estadiamento seja considerado adequado, principalmente na ausência de metástases. De acordo com o sistema TNM, é necessário analisar um mínimo de 12 LN em CCR. Além disso, no CCR o número de LN comprometidos depende do número de LN analisados. A amostragem e dissecação adequadas de LN são, portanto, cruciais na análise anatomopatológica e estadiamento destes tumores, mas freqüentemente ficam aquém do desejável. Isso se deve a questões inerentes à técnica cirúrgica, a variações anatômicas, à ocorrência de tratamento neoadjuvante e à qualidade do exame anatomopatológico.

Durante o meu treinamento na residência médica de anatomia patológica a árdua tarefa de dissecação de LN em espécimes de CCR, me estimulou a procurar uma forma de tornar mais ameno e eficaz esse trabalho, tendo em mente que em nosso serviço, a média de dissecação de LN é alta para CCR (média 21,7 linfonodos por caso). Além do mais, são descritos casos de pacientes em estágio II (pN0) que se

comportam como estagio III (pN1) e é possível que esses pacientes não tenham sido estadiados adequadamente.

Buscando essas respostas encontrei na literatura descrições de técnicas que propõem facilitar e melhorar a avaliação do *status* dos LN com o uso de métodos químicos, como soluções clareadoras de gorduras à base de álcool ou combinações de álcool, xilol, éter e acetona, métodos imunohistoquímicos para pesquisa de micrometástases e técnicas de mapeamento linfático per-operatórias para detecção de LN sentinela. Todavia, existem poucos estudos de análise comparativa dos resultados obtidos com o uso desses métodos e a dissecação convencional. Assim, embora seja evidente que métodos complementares aumentam a probabilidade de detecção de LN com metástases, os dados sobre modificações no estadiamento desses pacientes são poucos e por vezes questionáveis.

2. Revisão da literatura

2.1. Situação global e nacional

O CCR está entre os tumores viscerais malignos mais comuns da população mundial, é o terceiro câncer mais comum em mulheres e o quarto em homens e constitui importante causa de morbidade e mortalidade (WHO - globocan – 2002). Em estimativas do Instituto Nacional do Câncer do Brasil para o ano de 2006, o CCR seria o quarto tumor maligno mais freqüente para os homens e o segundo em mulheres na região sudeste do Brasil (INCA - Estimativa Incidência de câncer no Brasil - 2006 - <http://www.inca.gov.br>).

.

2.2. Estadiamento

O estadiamento de uma neoplasia maligna requer, por parte do médico, conhecimentos básicos sobre o comportamento biológico do tumor que se estadia e sobre o sistema de estadiamento adotado. O estágio de um tumor reflete não apenas a taxa de crescimento e a extensão da doença, mas também o tipo de tumor e sua relação com o hospedeiro. A indicação terapêutica do câncer depende do estadiamento e assim, um estadiamento bem conduzido leva à condutas terapêuticas corretamente aplicadas.

O estadiamento do CCR proposto inicialmente por Lockhart-Mummery em 1927 considerava apenas a extensão do tumor. Dukes em 1932 propôs uma classificação inicialmente de três estágios A, B e C e, posteriormente incluiu o estágio D (Quadro

1 – Anexos), em que considerou que a avaliação dos LN regionais era o fator de maior importância em relação à recorrência e sobrevida no CCR. Esta classificação foi ainda modificada por Asther & Coller em 1954, acrescentando estágios intermediários. A partir da década de 80 o uso do sistema TNM (“Tumor, **N**odes, **M**etastasis”) (SOBIN & WITTEKIND, 2002), tornou-se padrão e é internacionalmente aceito como o marcador de prognóstico mais consistente para o CCR (COMPTON, 2004). Em 2002 houve a unificação dos parâmetros estabelecidos pela International Union Against Cancer (UICC) e American Joint Committee on Cancer (AJCC) (COMPTON, 2004).

O TNM baseia-se na extensão anatômica do tumor, levando em conta as características do tumor primário (T), o *status* dos linfonodos regionais (N), e a presença ou ausência de metástases à distância (M). Estes parâmetros, no caso dos CCR recebem graduações, de T0 a T4, de N0 a N2 e de M0 a M1, respectivamente (Quadros 2 a 4 – Anexos).

Quando as categorias T, N e M são agrupadas em combinações pré-estabelecidas, ficam distribuídas em estádios que variam de I a IV. Estes estádios podem ser subclassificados em A e B, para expressar o nível de evolução da doença (Quadro 5 – Anexos). O estadiamento pode ser clínico e patológico. O estadiamento clínico é estabelecido a partir dos dados do exame físico e dos exames complementares pertinentes ao caso. O estadiamento patológico baseia-se nos achados cirúrgicos e no exame anátomopatológico da peça operatória.

Para determinar que a classificação foi baseada em dados do exame anatomopatológico acrescenta-se a letra “p” antes das categorias T, N e M, ficando grafado da seguinte forma: “pT, pN e pM”. Neste estudo abordamos somente o estadiamento patológico.

2.3. Fatores prognósticos e preditivos

Um grupo multidisciplinar composto de oncologistas, cirurgiões, rádio-oncologistas, patologistas e estatísticos, todos especialistas em CCR, se reuniu em 1999 sobre a tutela do Colégio Americano de Patologistas, com o objetivo de estabelecer um consenso em relação aos fatores prognósticos e preditivos do CCR (COMPTON *et al.*, 2000). Este grupo definiu os fatores prognóstico e preditivos como:

Fatores prognósticos - São as características clínicas, patológicas e biológicas do tumor, que permitem predizer a evolução clínica, isto é, a sobrevida do paciente.

Fatores preditivos - São as características clínicas, patológicas e biológicas usadas para estimar a possibilidade de resposta a um tipo particular de terapêutica, em suma, a resposta ao tratamento.

Os fatores prognósticos e preditivos foram classificados em quatro categorias pelo seu grau de importância (Quadro 6). De acordo com este consenso o *status* dos LN regionais foi classificado na categoria I, a mais importante.

Quadro 6 – Fatores prognósticos em câncer colorretal estabelecidos em 1999 pelo consenso do Colégio Americano de Patologistas (COMPTON *et al.*, 2000).

Categoria I	Fatores com comprovada importância prognóstica por múltiplos estudos estatisticamente robustos e geralmente usados no manejo dos pacientes.	<ul style="list-style-type: none"> - Extensão local do tumor (pT). - Metástases em linfonodos regionais (pN). - Invasão vascular linfática e/ou sanguínea. - Tumor residual. - *CEA elevado no pré-operatório.
Categoria IIA	Fatores extensivamente estudados biológica e/ou clinicamente e que têm mostrado repetidamente valor prognóstico para a evolução e/ou valor preditivo para terapia, suficientemente importantes para serem incluídos no laudo anatomopatológico, mas que devem ainda ser validados por estudos estatisticamente robustos.	<ul style="list-style-type: none"> - Grau de diferenciação tumoral. - Comprometimento da margem radial. - Tumor residual em ressecção de espécimes após terapia neoadjuvante.
Categoria IIB	Fatores que se mostram promissores em múltiplos estudos, mas que não têm dados suficientes para sua inclusão nas categorias I ou IIA.	<ul style="list-style-type: none"> - Tipo histológico do tumor. - Características histológicas associadas a *IMS (resposta linfóide e tipos histológicos medular e mucinoso). - Alta *IMS. - Perda da heterozigose em 18q (<i>DDC</i>). - Bordas tumorais (Infiltrativa vs expansiva).
Categoria III	Fatores não suficientemente estudados para determinar o seu valor prognóstico.	<ul style="list-style-type: none"> - Conteúdo de DNA. - Marcadores moleculares exceto os da categoria IIB. - Invasão perineural. - Densidade microvascular. - Expressão tumoral de proteínas e/ou carboidratos. - Fibrose peritumoral. - Resposta inflamatória peritumoral. - Diferenciação neuroendócrina focal. - Índices proliferativos.
Categoria IV	Fatores bem estudados e que não têm significância prognóstica.	<ul style="list-style-type: none"> - Tamanho do tumor. - Configuração macroscópica do tumor.

*CEA = Antígeno carcinoembrionário, IMS = Instabilidade de microssatélites.

De acordo com Compton (2003) as características do tumor estabelecidas pelo exame anatomopatológico do espécime cirúrgico são os mais poderosos fatores preditivos para avaliar a evolução pós-cirúrgica no CCR.

2.4. Análise dos linfonodos no CCR

A importância do *status* dos LN no estadiamento, prognóstico e tratamento dos CCR já está bem estabelecida na literatura. No entanto, existem ainda algumas questões em discussão:

1 – O número de LN dissecados depende do quê? (Quais fatores podem prever o número de LN dissecados?)

O número de LN dissecados em um espécime cirúrgico de CCR varia amplamente e depende de vários fatores (COMPTON, 2004), tais como, características dos pacientes, do tumor, experiência e qualidade técnica do cirurgião e do patologista.

Prandi *et al.* (2002) observaram associação inversa entre o número de LN e a idade dos pacientes. De acordo com os autores o número de LN era significativamente menor em pacientes acima de 65 anos. Observaram associação do gênero e grau de diferenciação tumoral com número de LN comprometidos, mas não houve associação com número total de LN. Há, ainda, características intrínsecas dos pacientes pouco esclarecidas, como o grau de resposta imunológica (CSERNI, 2002) e variações anatômicas.

Características do tumor como topografia correlaciona-se com o número de linfonodos comprometidos (PEREIRA Jr *et al.*, 2006). A distribuição linfonodal não é igual em todos os segmentos do intestino grosso, portanto a localização do tumor (ceco, ascendente, flexura hepática, transversa, flexura esplênica, descendente ou reto/sigmóide) é importante. Dados do nosso grupo evidenciaram essa diferença, quando observamos em nossa casuística uma variação de até 89,1% nas médias de

LN segundo a região, com a maior média de LN nos tumores do colon ascendente (28,8 por caso) e a menor naqueles da flexura esplênica (14,7 por caso)(PEREIRA Jr *et al.*, 2006). Igualmente a extensão do segmento ressecado também altera o resultado. Em espécimes de ressecções menores tende-se a encontrar menos linfonodos (PRANDI *et al.*, 2002; COMPTON, 2004).

A técnica e experiência do cirurgião são importantes e influenciam a qualidade do espécime e há registros que cirurgiões gerais tendem a ressecar segmentos menores e abordar menos agressivamente as cadeias linfáticas, que os cirurgiões especialistas (HERMANEK, 1999; PRANDI *et al.*, 2002; COMPTON, 2004).

A qualidade da análise do patologista é fundamental, pois é necessário um exame diligente e demorado na busca de LN, principalmente dos pequenos que são a maioria. Há evidências que muitas das metástases linfonodais encontram-se em LN com menos que 5mm de diâmetro (CSERNI, 2002; COMPTON, 2004). Alguns autores como Herrera-Ornelas *et al.* (1987) chegam a afirmar que as metástases em CCR ocorrem mais freqüentemente em LN menores que 5mm.

2 - Existe um número mínimo de LN a examinar para que se possa ter segurança no estadiamento do paciente?

Este tema tem sido abordado na literatura durante décadas e vários trabalhos têm sugerido números que variam de 6 a 18 LN por espécime cirúrgico (SCOTT e GRACE, 1989; HERNANZ *et al.*, 1994; CAPLIN *et al.*, 1998; TEPPER *et al.*, 2001; GOLDSTEIN, 2002; CIANCHI *et al.*, 2002). O grupo de trabalho de consenso no Congresso Mundial de Gastroenterologia em 1990 em Sydney, Austrália, recomendou um mínimo de 12 LN (FIELDING *et al.*, 1991), sendo este número

posteriormente adotado pela AJCC/UICC no sistema de estadiamento TNM. É de salientar que anteriormente Scott e Grace (1989) observaram que 94% dos pacientes Dukes C (com LN positivos) só foram identificados após terem sido examinados 13 LN. Hernanz *et al.* (1994) através de uma distribuição binomial estimaram um mínimo de seis LN a ser examinados para um estadiamento correto em casos de Dukes B (LN negativos). No entanto, Caplin *et al.* (1998) demonstraram que o exame de seis ou menos LN em pacientes Dukes B estava associado com pior sobrevida. Goldstein *et al.* (1996) e Maurel *et al.* (1998) observaram que a probabilidade de estadiar um tumor como TNM estágio III (LN comprometidos) tem relação direta com o número de LN examinados, atingindo um platô em 17 e 18 LN, respectivamente. Em um trabalho posterior, avaliando retrospectivamente 2437 pacientes pT3, Goldstein (2002) com base em um modelo de probabilidades preditivas, observou que a probabilidade preditiva de se encontrar um LN positivo aumenta com o número de LN examinados sugerindo que não existe um número mínimo a ser alcançado para obter um estadiamento correto ou acurado de todos os pacientes. De acordo com as categorias descritas pelo autor, a análise de 12 LN permite apenas 25% de probabilidade preditiva de se encontrar um único LN com metástases, quando este existir (Tabela 1).

Tabela 1 – Probabilidade preditiva de se identificar linfonodos comprometidos de acordo com o número de linfonodos dissecados (GOLDSTEIN, 2002).

Número de linfonodos dissecados	Probabilidade preditiva de se indentificar um linfonodo com metástases caso este exista.
12 linfonodos	0.250
15 linfonodos	0.348
18 linfonodos	0.461
21 linfonodos	0.578
24 linfonodos	0.686
30 linfonodos	0.848
38 linfonodos	0.951

**Reproduzido de Goldstein NS, Am J Surg Pathol 26(2): 179-189, 2002*

Cianchi *et al.* (2002) em análise multivarida de 140 pacientes Dukes B, observaram que, entre outros fatores clinicopatológicos, apenas o número de LN dissecados afetava a sobrevida isoladamente. Os pacientes com oito ou menos LN examinados tinham pior sobrevida em relação aos pacientes com nove ou mais LN examinados. Além disso, os autores observaram que os pacientes Dukes B (TNM estágio II) com oito ou menos LN tinham sobrevida em 5 anos semelhante à de pacientes Dukes C (TNM estágio III) (54,9% e 51,8%, respectivamente).

Joseph *et al.* (2003), através de um modelo matemático criado para estimar a probabilidade de um resultado verdadeiramente negativo com base no número de LN dissecados, observaram que o grau de infiltração do tumor (pT) e o número de LN dissecados influenciam na acurácia da determinação do *status* linfonodal no CCR (Tabela 2). Os autores sugeriram que muitos pacientes em estágio II poderiam ter

sido sub-estadiados com conseqüências no tratamento. Estudos têm demonstrado que mais de 20% de pacientes em estágio II morrem de recorrência local ou metástases à distância após tratamento cirúrgico curativo (COHEN *et al.*, 1998).

Tabela 2 – Relação entre o número mínimo de linfonodos e a probabilidade para prever a ausência de metástases linfonodais, de acordo com a localização e o estágio do tumor (JOSEPH *et al.*, 2003).

Estágio do tumor		Probabilidade		
		85%	50%	25%
T1 / T2	Colon direito	42	36	25
	Colon esquerdo	44	39	30
T3	Colon direito	40	29	13
	Colon esquerdo	40	23	<10
T4	Colon direito	31	<10	<10
	Colon esquerdo	29	<10	<10

**Reproduzido de Joseph et al. Ann Surg Oncol 10:213-8, 2003.*

3 – O que é mais importante: número de linfonodos ou o pN?

Há dois pontos de vista em relação ao papel da linfadenectomia na sobrevida. Questiona-se se uma linfadenectomia adequadamente realizada por si só pode produzir um benefício terapêutico, ou se simplesmente permite um estadiamento mais acurado (LE VOYER *et al.*, 2003). Em estudos com grandes casuísticas, como o de Le Voyer *et al.* (2003) (3.759 pacientes), observou-se que a sobrevida piora com o aumento de LN positivos e que após controlar o número de LN positivos, a sobrevida melhora com o aumento do número de LN examinados. Entretanto, mesmo nos casos onde não havia envolvimento linfonodal (LN negativos) a sobrevida relacionou-se diretamente com o número de LN examinados. Neste

mesmo estudo, comparando-se a sobrevida e o número de LN examinados em pacientes pN1 (de 1 a 3 LN positivos) observou-se melhor sobrevida nos pacientes que tinham mais LN examinados: 93% de sobrevida em 5 anos quando mais de 40 LN eram examinados contra 67% quando 10 ou menos LN eram examinados. Entre os pacientes pN2 (4 ou mais LN positivos), 71% tinham sobrevida em 5 anos quando mais de 35 LN eram examinados e 49% quando menos de 35 LN eram examinados. Prandi *et al.* (2002) (3.648 pacientes) também observaram que o número de LN dissecados alterava significativamente a sobrevida geral (SG) e a sobrevida livre de doença (SLD) dos pacientes. Em pacientes Dukes B (TNM estágio II) houve piora da SG e SLD quando menos LN eram examinados. No entanto, os autores não observaram alterações significativas no grupo de pacientes Dukes C (TNM estágio III), apesar de terem encontrado correlação significativa entre o estágio da doença e o número de LN examinados. Em um estudo envolvendo 20.702 pacientes (Base de dados do *National Cancer Institute* - Bethesda, MD) Johnson *et al.* (2006) observaram que o número de LN negativos se correlacionou com melhor sobrevida depois de controlado o número de LN comprometidos (Tabela 3).

Tabela 3 - Mortalidade em 5 anos em pacientes com carcinoma colorretal estágio III (JOHNSON *et al.*, 2006).

	Número de LN examinados		Valor de P
	> 13 LN	< 13 LN	
Estágio IIIA	14,0%	14,5%	NS
Estágio IIIB	27,0%	45%	<0,0001
Estágio IIIC	42,0%	65,0%	<0,0001

*Reproduzido de Johnson *et al.* *J Clin Oncol* 24:3570-5, 2006.

Swanson *et al.* (2003) também usando dados de 35.758 pacientes da base nacional de câncer (Bethesda, MD) avaliaram o prognóstico em pacientes T3 N0 e observaram que esse dependia do número de LN examinados, sendo 13 no mínimo. A sobrevivência em 5 anos foi maior nos pacientes com mais LN examinados (64% quando um a dois LN eram examinados e 86% quando mais de 25 LN eram examinados).

4 - Todos os LN são iguais? (Avaliação quantitativa Vs qualitativa dos LN)

Apesar de todos os sistemas de estadiamento atualmente aceitos e a maioria dos trabalhos que objetivaram acurácia no estadiamento dos LN se basearem apenas no número de LN, partindo do princípio que todos os LN são iguais, existem trabalhos como o de Cserni (2002) questionando esta lógica. O autor avaliou qualitativamente tamanho dos LN e sua distância em relação ao tumor em casos de CCR. Concluiu que o estadiamento dos CCR seria dependente não somente do número dos LN estudados, mas também de características qualitativas do LN, incluído o seu tamanho, bastando examinar apenas os sete maiores LN. É de salientar que em seu estudo, baseado apenas no método convencional de dissecação de LN, ele obteve uma média apenas de 12 LN/caso, 70% de todos os LN avaliados (n=1072) e aproximadamente metade dos LN comprometidos mediam até 5mm de diâmetro. Além disso, em um terço dos casos com metástases linfonodais o maior LN comprometido não ultrapassava 5mm. Dados do nosso serviço, corroborando os observados por Cserni (2002), mostram que a maioria das metástases linfonodais são observadas em LN situados na proximidade do tumor (LN peri-tumorais) (PEREIRA Jr *et al.*, 2006). No entanto, na casuística de nosso serviço em três casos observaram-se metástases apenas nos linfonodos não peritumorais.

2.5. Métodos de dissecação de linfonodos

2.5.1. Método convencional

A dissecação de LN no colon/reto é realizada tradicionalmente recortando-se o tecido adiposo peri-colônico/peri-retal em fatias finas, procurando-se os LN inicialmente por visão direta (LN grandes) e por percepção táctil, palpando-se o tecido adiposo (para os LN menores). Na prática diária, observamos que nesta segunda etapa é muito difícil a percepção de linfonodos menores de 4mm, considerando-se que uma boa dissecação é aquela em que se obtêm muitos LN pequenos. Apesar de ser possível encontrar linfonodos bem pequenos (1 a 2 milímetros), isso ocorre provavelmente por acaso.

2.5.2. Métodos de clareamento de gorduras

Há décadas a literatura registra estudos de dissecação de LN com utilização de métodos químicos de clareamento de gorduras. A maioria absoluta concorda que existe um ganho no número de linfonodos dissecados, porém há controvérsias se o tempo e recursos extras consumidos por estes processos justificam o seu emprego na rotina e mesmo se este ganho numérico significa algum benefício para os pacientes.

Schmitz-Moorman *et al.* (1982) usando acetona quente e xilol através de um dispositivo específico conseguiram triplicar o número de LN obtidos em comparação com o método convencional (MC) (média de 3,12 LN/caso para 10,64 LN/caso após o clareamento), em particular LN pequenos (menores que 5mm) e praticamente dobrar o número de LN comprometidos detectados (média de 0,75 LN

comprometidos/caso para 1,41 LN comprometidos/caso após o clareamento). Este método é seguro e eficiente, porém é dispendioso pois exige dispositivo específico, grau elevado de dedicação da equipe do laboratório, no manuseio deste dispositivo que inclui condensadores, além de exigir manipulação de substâncias tóxicas como acetona e xilol.

Herrera-Ornelas *et al.* (1987) usaram álcool em concentrações progressivas e aquecimento do espécime em óleo de cedro na avaliação de 52 pacientes com CCR nos quais obtiveram uma excelente média de 52 LN dissecados por caso. Porém, apesar de bastante eficaz, essa técnica é demorada e dispendiosa gastando-se em torno de duas semanas e consumindo vários litros de álcool.

Scott e Grace (1989) observaram aumento do número de LN dissecados (média de LN 6,1 com o MC para 18,9 após o clareamento) e de metástases encontradas (2,1 para 3,9 LN acometidos por espécime) usando uma combinação de xilol e álcool. Observaram ainda mudanças de estadiamento de cinco casos (8,6%) de Dukes B para C. Todavia, esse método é bastante demorado (mais de três semanas) e dispendioso com o gasto de vários litros de álcool absoluto e xilol por um único espécime.

Cohen *et al.* (1994) também usando álcool e xilol em um processo um pouco menos demorado (aproximadamente uma semana), compararam 41 casos dissecados pelo método convencional e 41 casos submetidos ao processo de clareamento, após dissecação convencional. Observaram uma média de 21 LN por caso (1-98 LN) no primeiro grupo e um acréscimo médio de 4 LN por caso (0-12 LN) em relação ao

número inicial de LN dissecados nos casos submetidos a clareamento. Havia seis LN com metástases no material submetido a clareamento, dos quais apenas dois foram responsáveis pela mudança de estadiamento em um caso. Concluíram que o método oferece pouca vantagem sobre MC, é demorado (uma semana ou mais) e por isso seria injustificável o seu uso.

Hida *et al.* (1994) aplicando um método de clareamento em 322 casos de CCR conseguiram aumentar em quatro vezes a média de LN dissecados de 18,1 por caso para 76,4 por caso, juntamente com um expressivo aumento da percentagem de pacientes com LN comprometidos, evoluindo de 42,1% para 61,4%. No entanto, sua técnica é muito demorada e pouco prática, pois emprega uma mistura de formalina e azul de metileno com prolongada imersão em vários banhos de álcool, acetona e xilol e exige ainda o uso de transiluminação.

Koren *et al.* (1997) usando uma SC a base de álcool (65%), éter dietílico (20%), ácido acético glacial (5%) e formalina tamponada (10%) em 30 casos selecionados (casos em que não conseguiram dissecar mais de 10 LN ou encontraram menos de três LN comprometidos pelo MC de dissecação), aumentaram de 88 LN (2,94 LN/caso – 0 a 10) para 346 LN (11,5 LN/caso – 1 a 25). Todos os LN adicionais eram pequenos com maior diâmetro variando de 0,5 a 7,0mm. Após o uso da SC houve mudança de estadiamento em 10 casos, sendo quatro casos de pNX para pN1, quatro casos de pN0 para pN1 e dois casos de pN1 para pN2. Essa SC é altamente eficiente, factível na rotina do laboratório, pouco dispendiosa monetária e temporalmente.

3. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é avaliar o impacto do uso de uma solução clareadora de gorduras na detecção de LN e no estadiamento de CCR.

São objetivos específicos:

- Testar o uso de uma solução clareadora de gorduras na dissecação de LN em casos de CCR.
- Identificar fatores que se correlacionem com a detecção de LN e de metástases.
- Avaliar os custos do novo método em relação o método convencional.

4. Material e Métodos

4.1. Material

O presente estudo foi realizado no Serviço de Patologia Gastrointestinal do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (protocolo número 108/05 - Anexos).

Estudaram-se prospectivamente 74 peças cirúrgicas de pacientes operados por CCR no Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, no período de novembro de 2002 a setembro de 2005. Todos os pacientes foram operados pela mesma equipe cirúrgica de acordo com a rotina do serviço. Foram excluídos todos os casos de pacientes submetidos à rádio ou quimioterapia.

Os dados dos pacientes como gênero, idade e número de registro, sede do tumor e ocorrência de tratamento neoadjuvante (rádio ou quimioterapia) foram obtidos a partir das requisições de exame. Os dados relativos ao tipo histológico do tumor e o estadiamento patológico (Dukes, Astler-Coller e TMN) foram obtidos do laudo anatomopatológico, e quando necessário, as lâminas foram revistas.

4.2. Processamento dos espécimes

Todos os espécimes cirúrgicos seguiram os procedimentos rotineiros de exame no serviço, de acordo com protocolo padronizado (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2005):

1. Fixação em solução de formol a 10% por 24h;
2. Exame macroscópico do espécime e amostragem para estudo histológico com dissecação dos linfonodos;
3. Processamento histopatológico rotineiro;
4. Exame microscópico e confecção do laudo anatomo-patológico;

Os restos do tecido adiposo do mesocólon obtidos após a dissecação dos linfonodos pelo método convencional, que seriam descartados junto com o espécime cirúrgico, foram submetidos a tratamento com SC (*mistura composta por 65% de Álcool etílico comercial a 95%, 20% de Éter dietílico, 5% de Ácido acético glacial e 10% de formol a 10%*) (KOREN *et al.*, 1997) como descrito adiante, seguindo-se nova dissecação dos LN.

O material foi mergulhado em três banhos na solução por 12 horas cada, usando-se volume suficiente para cobri-lo. Em média consumiu-se um litro de SC para cada dois espécimes, representando um custo adicional de R\$ 2,90 por espécime (Quadro 7 – Anexos). Após 36 horas os LN destacaram-se como nódulos ou pontos brancos em meio a tecido amarelo-transparente (Figura1). Seguiu-se nova dissecação dos LN, agora essencialmente visual, mesmo para linfonodos muito pequenos (medindo 1 a 2mm). Os LN dissecados foram submetidos a processamento histopatológico rotineiro.

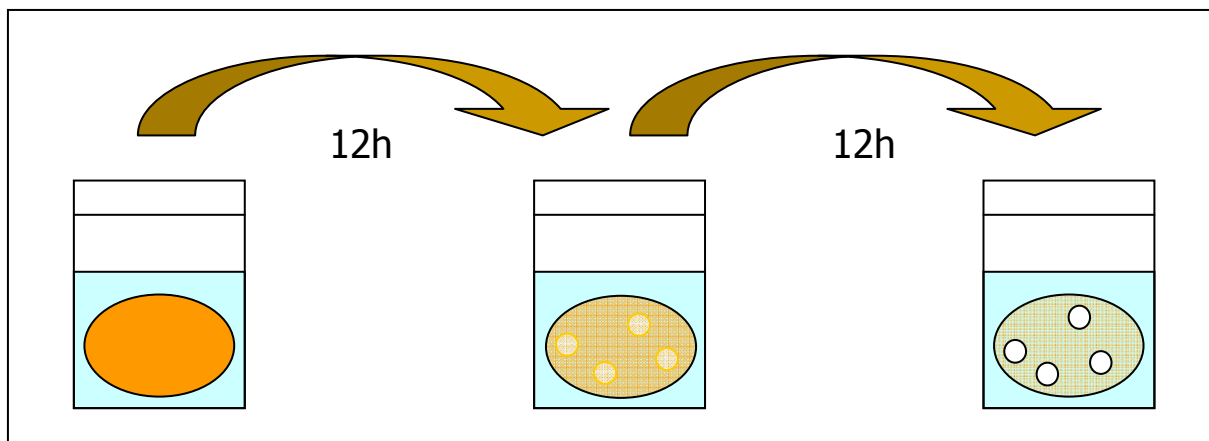


Figura 1 – Processo de revelação usando-se a solução.

4.3. Análise histológica e estadiamento

Após o exame histopatológico dos novos LN dissecados, os casos foram re-estadiados quanto ao pN, de acordo com o número total de LN dissecados (número de LN dissecados pelo método convencional + número de LN dissecados após o uso da SC). Os casos foram re-estadiados também pelos critérios de Dukes e Astler-Coller (DUKES, 1932; ASTLER e COLLER, 1954; SOBIN e WITTEKIND, 2002).

4.4. Dimensões dos linfonodos

Mediu-se o maior eixo dos LN usando-se uma lupa acoplada a régua de precisão (0,2mm) em casos de LN maiores que 2mm e através de morfometria computadorizada (Carl Zeiss – KS400, Alemanha) para LN menores. Determinou-se o número de LN maiores e menores que 4mm dissecados pelos dois métodos e a medida em milímetros do menor e maior LN dissecado, nos grupos com e sem metástases.

4.5. Imunohistoquímica

Para determinarmos se o uso da solução interfere ou não na imunomarcação, realizou-se imunohistoquímica em sete LN aleatórios de seis casos (23%) que apresentavam metástases após o uso da SC, pelo método da estreptavidina-biotina (LSAB) de acordo com o descrito por HSU *et al.* (1981), utilizando *kit* comercial Ultravision Large Volume Detection System, (Labvision Corporation, Fremont, CA, USA). Testou-se o anti-soro monoclonal anti-citoqueratina AE1/AE3 (DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) (Tabela 4), o anti-soro geralmente usado na pesquisa de micrometástases.

Tabela 4 - Anti-soro utilizado no estudo imunohistoquímico.

Anti-soro	Clone	Diluição	Citoqueratinas identificadas
CKT	AE1/AE3	1:30	CK10, CK15, CK16 e CK19 (AE1 → básicas – tipo I) CK 1 a CK8 (AE3 → ácidas – tipo II)

4.6. Análise estatística

Os dados foram compilados em protocolo individual desenvolvido especificamente para o estudo (anexos), posteriormente informatizados e analisados em pacote estatístico SPSS. Utilizaram-se os testes de Wilcoxon, teste do χ^2 , test-T pareado, test-T independente e coeficientes de correlação de Pearson e Spearman para comparar os resultados pré e pós clareamento. A avaliação dos fatores determinantes (preditivos ou relacionados) com o número de LN dissecados, número de metástases e mudanças de estadiamento foi feita por análise linear discriminante e regressão linear múltipla.

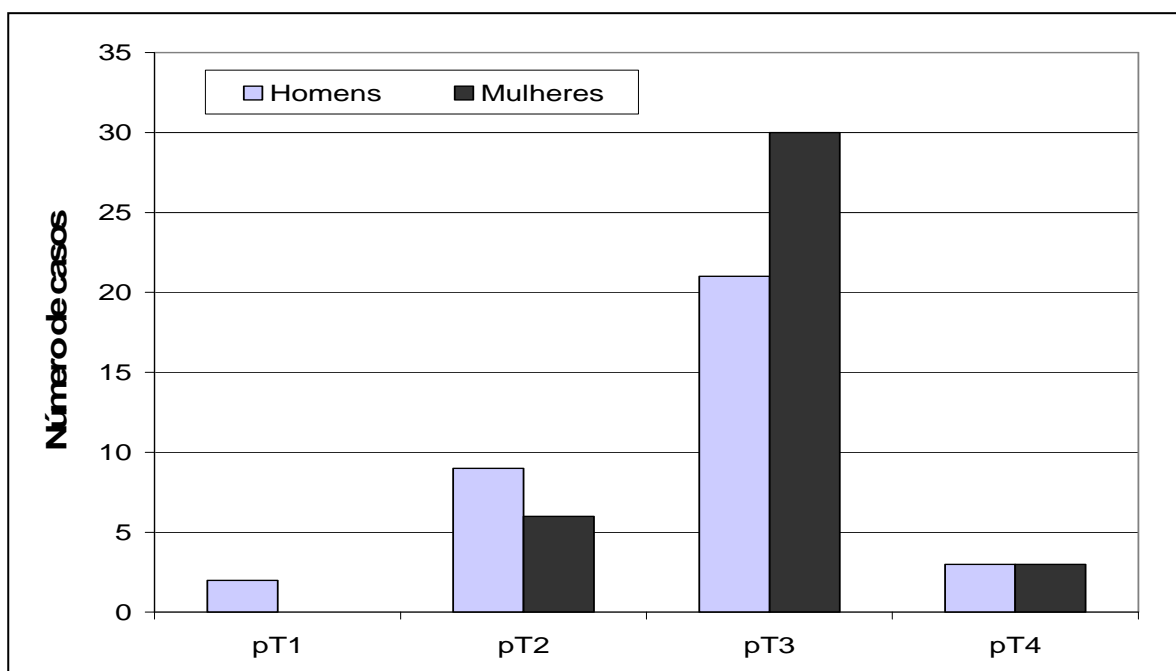
5.Resultados

5.1. Casuística

A casuística foi equilibrada em relação ao gênero, constando de 35 homens (47,3%) e 39 mulheres (52,7%) e não houve diferenças significativas quanto à média de idade (homens $64 \pm 12,7$ anos, mulheres $61 \pm 15,9$ anos; $p=0,5$).

Todos os CCR eram adenocarcinomas. Predominaram os tumores moderadamente diferenciados ($n=60$; 81,1%) e sete casos (9,5%) eram adenocarcinomas mucinosos. Na maioria dos casos ($n=51$; 68,9%) os tumores foram estadiados em pT3, sem diferenças significativas entres os sexos ($p=0,1$)(Gráfico 1).

Gráfico 1 – Distribuição dos casos de carcinoma colorretal quanto ao pT.



Em média os tumores tinham $76,5\text{cm}^3 (\pm 100,7\text{cm}^3)$ de volume; $5,1\text{cm} (\pm 2,4\text{cm})$ de dimensão longitudinal; $4,6\text{cm} (\pm 2,1\text{cm})$ de dimensão transversal e $2,4\text{cm} (\pm 2,3\text{cm})$ de profundidade, não se observando diferenças significativas entre os gêneros ($p \geq 0,23$).

5.2. Análise dos linfonodos

Após os banhos na SC os LN eram facilmente visualizados, mesmo os muito pequenos (até 1mm), destacando-se como pontos ou pequenos nódulos brancos sob o tecido adiposo amarelo-transparente (Figura 2).

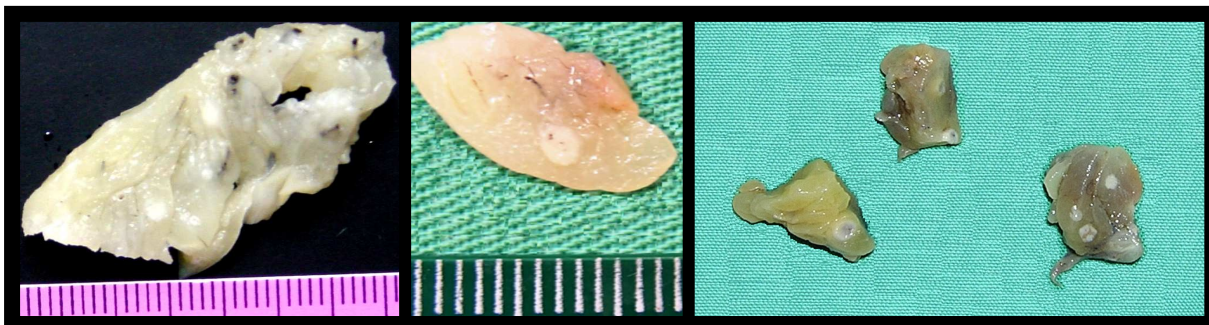


Figura 2 – Linfonodos destacados como pequenos nódulos brancos na gordura pericólica após processo de clareamento.

Não observamos alterações cromáticas nas colorações de rotina (HE) ou na imunomarcagem no material submetido ao processo de clareamento. Os sete LN com metastases dissecados após o uso da solução clareadora submetidos ao estudo imunohistoquímico, mostraram imunomarcagem fortemente positiva pelo anticorpo anti-citoqueratina clone AE1/AE3 da Dako (Figura3).

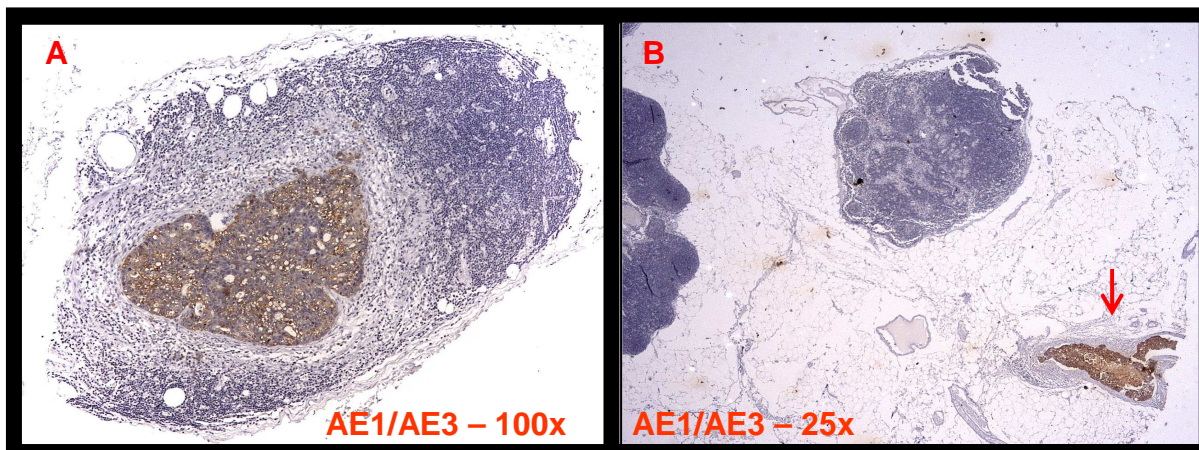


Figura 3 – Imuno-marcação por pan-citoqueratina (Antisoro AE1/AE3): **A** - metástases de adenocarcinoma colônico; **B** – Êmbolo neoplásico venoso (seta) e linfonodo sem metástases negativo.

Dissecaram-se 1.814 LN pelo MC (24,5 LN/caso) e 1.355 LN com o uso da SC (18,3 LN/caso), perfazendo um total de 3.167 LN (42,8 LN/caso). Cento e noventa e seis LN tinham metástases, dos quais 170 (86,7%) foram obtidos pelo MC e 26 (13,2%) após o tratamento com a SC.

Considerando os LN obtidos pelo MC, 1.068 (58,8% - 14,4 LN/caso) tinham até 4mm de diâmetro. Em média, o maior LN dissecado pelo MC tinha 8,87mm (\pm 4,07mm; 3 a 23mm) e o menor 1,41mm (\pm 0,76mm; 0,4 a 5,0mm).

Considerando os LN dissecados após o tratamento com a SC, 1.261 (93% - 17 LN/caso) mediam até 4mm de diâmetro. Em média, o maior linfonodo dissecado usando-se a SC tinha 4,55mm (\pm 1,67mm; 2,2 a 11,0mm) e o menor 1,05mm (\pm 0,57mm; 0,2 a 3,2mm).

Entre os 170 LN comprometidos obtidos pelo MC, 39 (22,9%) mediam até 4mm e 19 dos 26 LN comprometidos (73%) obtidos após uso da SC mediam até 4mm

($p=0.000$). A média de diâmetro do menor LN com metástases encontrado após o uso da SC foi 3,16mm ($\pm 1,75$ mm; 1,4 a 7,0mm). Estes resultados estão demonstrados na Tabela 5.

5.3. Impacto do uso da solução clareadora

5.3.1 Número de linfonodos

Após o uso da SC houve um acréscimo de 74,7% no número de LN dissecados ($p=0,000$), um aumento de 118,1% na capacidade de dissecar LN pequenos ($p=0,000$) e de 15,3% na capacidade de se encontrar metástases ($p=0,003$)(Tabela 5). Os menores LN foram aqueles dissecados após o uso da SC. A média dos diâmetros dos menores LN dissecados após a SC foi significativamente menor (1,04mm) que daqueles dissecados pelo MC (1,4mm) ($p=0.000$).

Tabela 5 – Número de linfonodos obtidos pelo método convencional e após o clareamento.

		Número total de linfonodos dissecados				
		Total	Metástases	Livres	< 4mm	< 4mm com metástases
MC		1.814	170	1.644	1.068	39
	media	24,51	2,3	22,21	14,43	1,34
SC		1.355	26	1.329	1.261	19
	Media	18,31	0,35	17,96	17,04	1,26
MC + SC		3.167	196	2.973	2.329	58
	Media	42,80	2,65	40,17	31,47	1,75
Aumento		74,70%	15,30%	80,86%	118%	48,71%

MC = Método convencional, SC = Solução clareadora de gorduras.

$p < 0,05$

Houve correlação positiva entre o número total de LN dissecados pelo MC e o número de LN dissecados após o processo de clareamento ($r=0,334$; $p=0,004$).

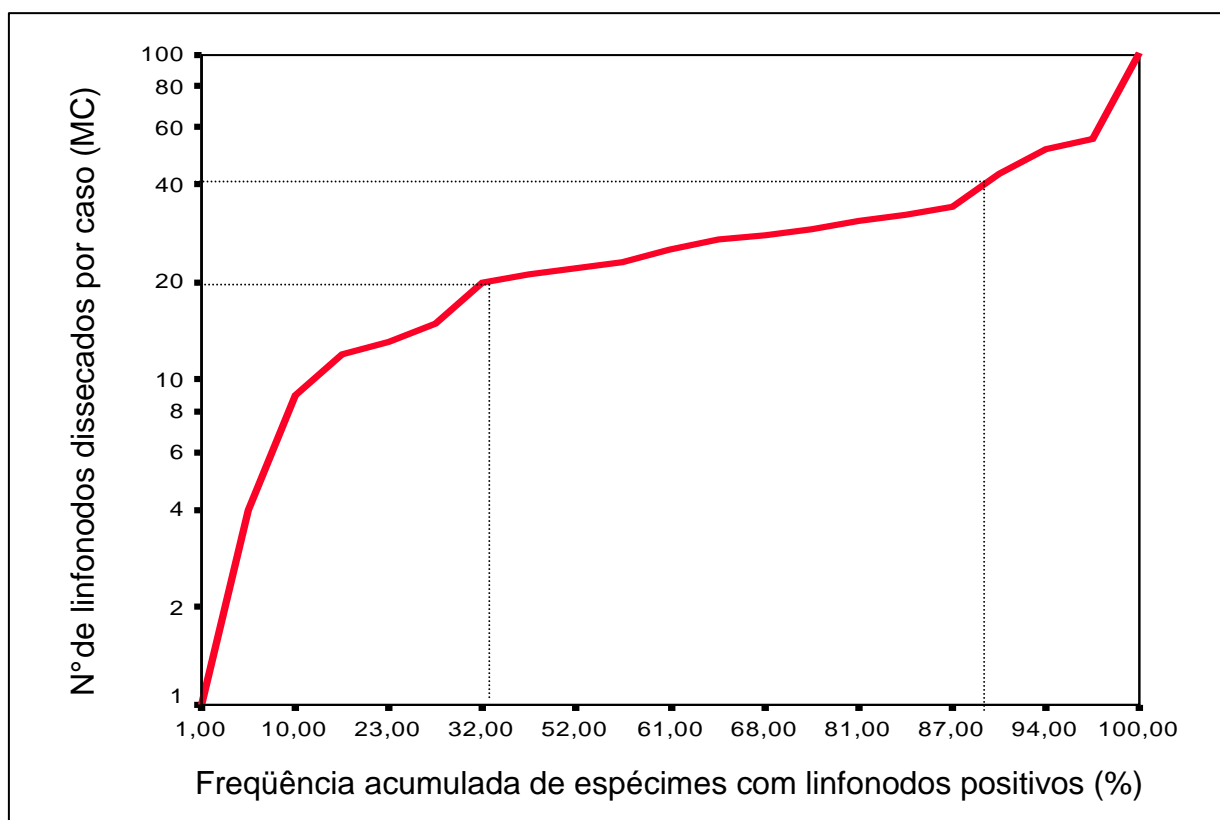
O número de metástases linfonodais encontradas usando-se a SC foi maior quando havia metástases no MC (pelo menos um LN positivo identificado pelo método convencional) ($p=0,007$) (Tabela 6).

Tabela 6 – Correlação do número de LN após o uso da SC e a detecção de metástases linfonodais no MC.

		Total de LN positivos após a SC				Total (N° de casos)
		1	2	3	6	
Metastases Método convencional (N° de casos)	Não	2	2			4
	Sim	7	2	1	1	11
Total (N° de casos)		9	4	1	1	15

Como pode ser observado no Gráfico 2, somente após a dissecação de 40 LN foram identificados 90% de todos os casos em que havia metástases linfonodais.

Gráfico 2 – Relação entre o número de linfonodos dissecados pelo método convencional e a frequência acumulada de casos com metástases.



5.3.2. Estadiamento

Usando-se apenas o MC seis (14,0%) dos 43 casos estadiados como pN0 não haviam atingido o mínimo de 12 LN dissecados, como recomendado pelo sistema TNM. Após o uso da SC apenas um caso (2,3%) permaneceu nessa situação ($p=0,008$) (Tabela 7).

Tabela 7 – Mudança de grupos de estadiamento do pN em relação ao ponto de corte (12 linfonodos), após o uso da solução clareadora nos 43 cânceres colorretais inicialmente estadiados como pN0.

		Após re-dissecção (Solução clareadora)		Total
		<12 linfonodos	>12 linfonodos	
Dissecção Método convencional	<12 linfonodos	1 16,7%	5 83,3%	6 14,0%
	>12 linfonodos		37 100%	37 86,0%
Total		1 2,3%	42 97,7%	43 100%

p=0,025 – Wilcoxon

Como podemos observar na Tabela 8, após a dissecção com o uso da SC, quatro casos (9,3%) inicialmente pN0 foram re-estadiados como pN1 e um caso (6,7%) inicialmente pN1 foi re-estadiado como pN2. No total, o estadiamento foi alterado em cinco casos (6,8%) (p=0,025) e quatro deles (5,4%) mudaram de estagio II para estagio III, ou seja, Dukes B para Dukes C.

Tabela 8 – Mudanças de estadiamento detectadas após o uso da solução clareadora, em 74 casos de câncer colorretal.

		Estadiamento após redissecação (Solução clareadora)			Total
		pN0	pN1	pN2	
Estadiamento Método convencional	pN0	39 casos (90,7%)	4 casos (9,3%)		43 casos (100%)
	pN1		14 casos (93,3%)	1 caso (6,7%)	15 casos (100%)
	pN2			16 casos (100%)	16 casos (100%)
Total		39 casos (52,7%)	18 casos (24,3%)	17 casos (23,0%)	74 casos (100%)

p = 0,025 (todos os casos).

p = 0,046 (mudanças de pN0 → pN1).

Analisando-se apenas os 43 casos inicialmente estadiados como pN0, houve progressão significativa para pN1 ($p=0,046$) após tratamento pela SC.

As mudanças de estadiamento ocorreram em casos em que haviam sido dissecados de 12 a 20 LN (Gráfico 3 e Tabela 9).

Gráfico 3 – Mudança de estadiamento após o uso da solução reveladora em relação ao número de linfonodos dissecados pelo método convencional.

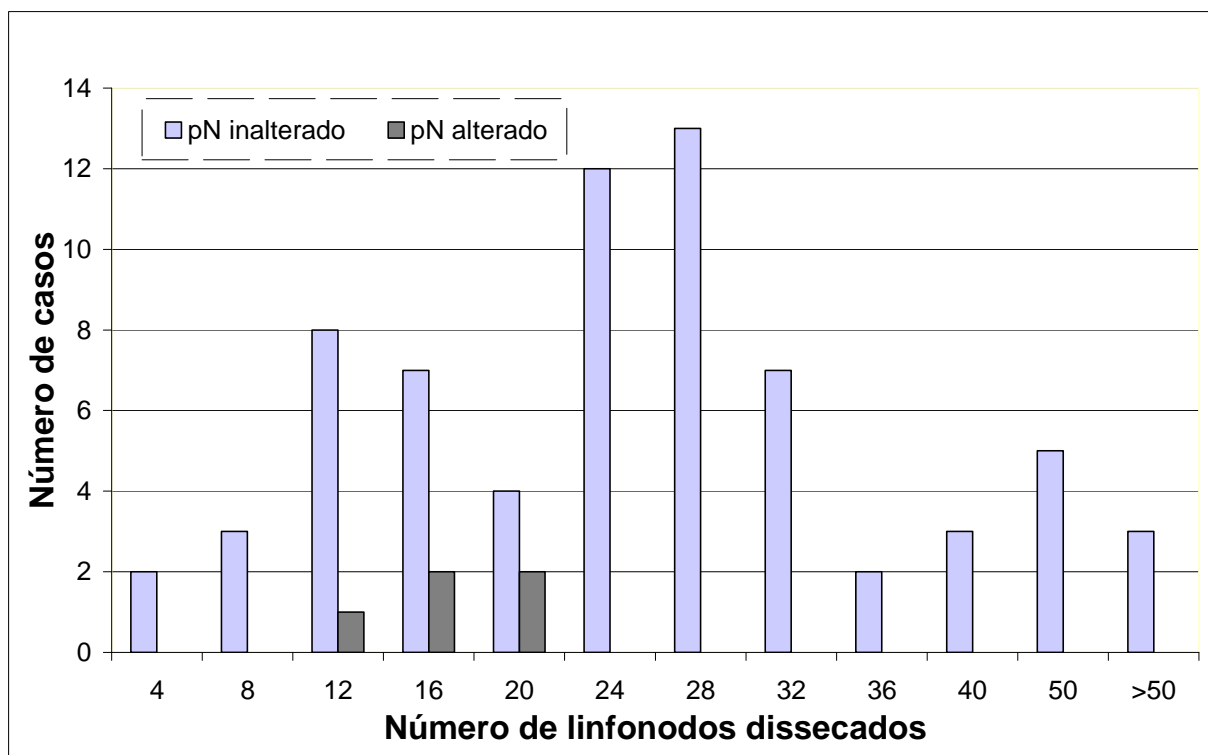


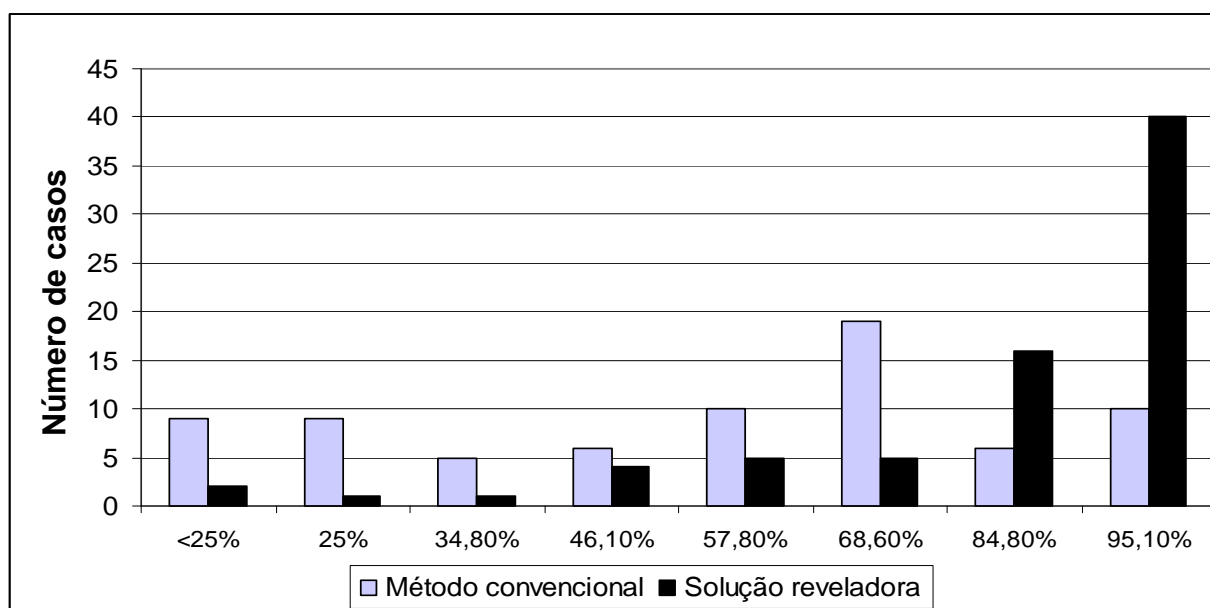
Tabela 9 – Mudanças de estadiamento em relação ao número de linfonodos dissecados antes e após o uso da solução clareadora.

	Nº de linfonodos após o uso da solução clareadora					Nº de casos
	16	24	25	36	40	
	12	pN0 → pN1				1
Nº de linfonodos dissecados pelo método convencional	13			pN0 → pN1		1
	16		pN0 → pN1			1
	20		pN1 → pN2		pN0 → pN1	2
Nº de casos	1	1	1	1	1	5

p = 0,008

Aplicando-se a nossos dados às categorias descritas por Goldstein (2002), observamos que com o uso apenas do MC, 35 casos (47,3%) apresentavam probabilidade preditiva igual ou superior a 68,6% de se detectar um único LN com metástases, caso este existisse. Após a re-dissecção 61 casos (82,4%) apresentavam probabilidade preditiva de se detectar metástases igual ou superior a 68,6% ($p=0,000$)(Gráfico 4).

Gráfico 4 – Probabilidade de encontrar um único linfonodo com metástases caso ele exista segundo o número total de linfonodos dissecados usando-se apenas o método convencional de dissecção e após o uso da solução reveladora (Goldstein – 2002).



*Categorias descritas por Goldstein (2002). Goldstein NS, Am J Surg Pathol 26(2): 179-189, 2002.

Os quatro casos que mudaram de estadiamento de pN0 para pN1 tinham menos de 50% de probabilidade preditiva de se detectar metástases quando analisados apenas os LN dissecados pelo MC (no máximo 20 LN dissecados)(Tabela 9).

5.4. Fatores correlacionados ou preditores do número de linfonodos

O número final de LN, ou seja, a soma dos LN dissecados pelo MC mais os LN dissecados após o uso da SC, foi analisado em relação a características dos pacientes, do tumor e tamanho dos LN. Como podemos observar na Tabela 10, o número final de LN correlacionou-se positivamente com a média do diâmetro do maior LN dissecado e com o número de LN menores de 4mm e negativamente com a idade do paciente e a média do diâmetro do menor LN. Não observamos correlação com o gênero, dimensões longitudinal, transversal, espessura e volume do tumor e o grau de invasibilidade do tumor (pT).

Tabela 10 – Fatores associados ao número final de linfonodos dissecados (linfonodos dissecados pelo método convencional mais linfonodos dissecados após o uso da solução clareadora).

Fatores	Nº final de linfonodos
	Valor de p (r)
Idade	0,044 (-0,235)
Gênero	0,614 (0,060)
Dimensão longitudinal do tumor	0,265 (0,131)
Dimensão transversal do tumor	0,108 (0,188)
Espessura do tumor	0,451 (0,089)
Volume do tumor	0,176 (0,159)
pT	0,807 (0,029)
Diâmetro do menor linfonodo (MC+SC)	0,010 (-0,298)
Diâmetro do maior linfonodo (MC+SC)	0,004 (0,331)
Nº de linfonodos < 4mm (MC+SC)	0,000 (0,915)

O número final de LN comprometidos, ou seja, a soma dos LN comprometidos dissecados pelo MC mais os LN comprometidos dissecados após o uso da SC, foi analisado em relação a características dos pacientes, do tumor, e do tamanho e número dos LN. Como podemos observar na Tabela 11, o número final de LN comprometidos correlacionou-se positivamente com o grau de invasibilidade do tumor (pT) e a média do diâmetro do maior LN dissecado. Não observamos correlação com a idade, gênero, dimensões longitudinal, transversal e espessura do tumor, bem como com o volume, média do diâmetro do menor LN, número de LN menores de 4mm e número final de LN dissecados.

Tabela 11 – Fatores associados ao número final de linfonodos comprometidos (linfonodos comprometidos dissecados pelo método convencional mais linfonodos comprometidos dissecados após o uso da solução clareadora).

Fatores	Nº final de linfonodos comprometidos
	Valor de p (r)
Idade	0,326 (-0,171)
Gênero	0,442 (-0,091)
Dimensão longitudinal do tumor	0,446 (-0,133)
Dimensão transversal do tumor	0,509 (-0,116)
Espessura do tumor	0,949 (-0,011)
Volume do tumor	0,681 (-0,072)
pT	0,031 (0,252)
Diâmetro do menor linfonodo (MC+SC)	0,482 (0,123)
Diâmetro do maior linfonodo (MC+SC)	0,039 (0,351)
Nº de linfonodos < 4mm (MC+SC)	0,357 (-0,160)
Nº final de linfonodos dissecados	0,886 (0,025)

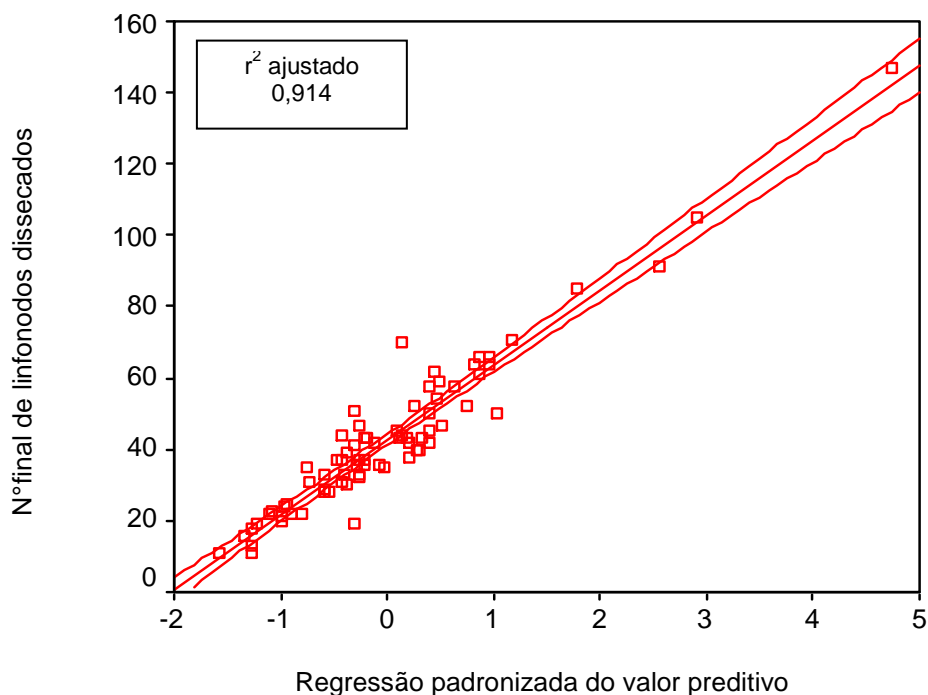
A Tabela 12 mostra os fatores que se correlacionaram com o número final de LN e com o número de LN com metástases.

Tabela 12 – Fatores correacionados com o número de linfonodos final e linfonodos comprometidos.

Fatores	Nº final de linfonodos	Nº final de linfonodos comprometidos
	Valor de p (r)	Valor de p (r)
Idade	0,044 (-0,235)	0,326 (-0,171)
pT	0,807 (0,029)	0,031 (0,252)
Diâmetro do menor linfonodo (MC+SC)	0,010 (-0,298)	0,482 (0,123)
Diâmetro do maior linfonodo (MC+SC)	0,004 (0,331)	0,039 (0,351)
Nº de linfonodos < 4mm (MC+SC)	0,000 (0,915)	0,357 (-0,160)

Através de regressão linear múltipla observamos que o grau de invasibilidade do tumor (pT), o número de LN menores que 4mm e o diâmetro do maior LN dissecado mostraram ser fatores independentes determinantes do número final de LN dissecados, de acordo com a seguinte fórmula (Gráfico 5):

$$N^{\circ} \text{ final de LN dissecados} = -20,190 + 1,093(n^{\circ} \text{ de LN} < 4\text{mm}) + 1,459(\text{diâmetro do maior LN}) + 3,320(pT).$$

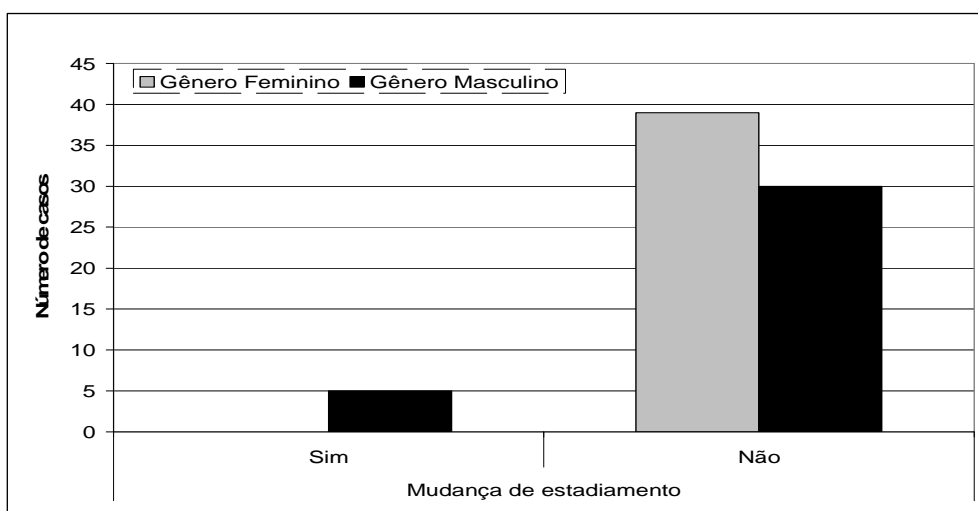
Gráfico 5 – Modelo preditivo do número final de linfonodos dissecados.**Regressão linear múltipla****Vaiável dependente:** N°final de linfonodos dissecados.

Não conseguimos estabelecer um modelo que explicasse razoavelmente o número final de LN com metástases a partir das variáveis disponíveis. No entanto, em análise linear discriminante, observamos que após analisarmos os fatores do paciente, do tumor e medidas dos LN, apenas o *status* do pT e a medida do diâmetro do maior LN dissecado predizia se pelo menos uma metástase linfonodal seria encontrada ($p=0,047$ e $p=0,005$, respectivamente).

5.4.1. Fatores correlacionados à mudança de estadiamento (pN)

Considerando os pacientes que mudaram de estadiamento, observaram-se diferenças quanto ao gênero, idade e profundidade do tumor. Os pacientes que mudaram de estadiamento eram homens ($p=0,01$) (Gráfico 6), significativamente mais velhos ($p=0,002$) e tinham tumores mais espessos ($p=0,045$).

Gráfico 6 – Mudança de estadiamento após o uso da solução clareadora em relação ao gênero.



6. Discussão

A literatura registra múltiplos estudos estatisticamente robustos que mostram que o pT e o pN, juntamente com a invasão vascular linfática e/ou sanguínea e a presença de tumor residual são fatores com comprovada importância prognóstica, geralmente usados no manejo dos pacientes portadores de CCR (COMPTON, 2000). Mais ainda, a presença de metástases em LN regionais é, isoladamente, o fator prognóstico mais importante do CCR (JOSEPH, 2003) e tem efeito direto no tratamento, ou seja, é o principal determinante no uso de quimioterapia (COHEN, 1998; JOSEPH, 2003). Portanto, a adequada avaliação dos LN regionais é fundamental para o correto estadiamento e tratamento desses pacientes. Idealmente, todos os linfonodos deveriam ser retirados pelos cirurgiões, dissecados e examinados pelos patologistas. No entanto, não é essa a realidade. Seria necessário que o cirurgião retirasse todo o tecido adiposo peri-cólico e respectiva drenagem linfática mesentérica e que esse tecido fosse completamente processado e avaliado microscopicamente pelo patologista, o que em termos práticos é impossível até mesmo em protocolos de pesquisa, uma vez que um único espécime poderia gerar centenas de lâminas.

O método padrão atualmente usado para dissecação de LN em CCR, o qual referimos no presente trabalho como convencional (MC), é baseado principalmente na percepção táctil, através de cortes finos do tecido adiposo e sua palpação sistemática em busca dos nódulos. Este método é demasiadamente demorado e ineficaz na dissecação de LN pequenos. A ampla variação no número de LN dissecados registrada na literatura, demonstra claramente que este método é

inadequado (BILCHIK, 2003). Além disso, alguns autores afirmam que a maioria dos LN contendo metástases têm menos que 5mm de maior diâmetro e por isso seriam facilmente perdidos na dissecação convencional (HERRERA-ORNELAS, 1987; CSERNI, 2002; BILCHIK, 2003).

Há décadas se debate na literatura a utilização de novos métodos de dissecação de LN, com destaque para os métodos químicos como as SC, ao ponto de alguns autores como Schimitz-Moorman *et al.* (1982) sugerirem que uma avaliação quantitativa sobre o envolvimento metastático de LN somente seria possível usando-se técnicas de clareamento de gorduras.

Foi testada a SC descrita por Koren *et al.* (1997) com pequenas adaptações nos tempos dos banhos visando economia e otimização do tempo para adequação às rotinas no nosso serviço. Devemos salientar que todos os casos foram operados pela mesma equipe de cirurgiões especialistas, minimizando o viés da técnica cirúrgica e do cirurgião. Todos os casos foram convencionalmente dissecados pela mesma equipe de residentes de patologia sob supervisão de uma única especialista, sendo redissecados após o uso da SC por um único patologista, garantindo a homogeneidade da técnica de dissecação (viés do patologista). Para avaliarmos o impacto da SC no estudo anatomopatológico dos espécimes de CCR, abordamos o seu efeito em relação a custo, disponibilidade e segurança, dissecação, número de LN, número de metástases e estadiamento (pN).

A SC mostrou-se segura, pois não tem como componentes produtos altamente tóxicos como xilol, empregados nas SC usadas por outros autores (SCHIMITZ-

MOORMAN, 1982; SCOTT e GRACE, 1989; COHEN *et al.*, 1994; HIDA *et al.*, 1994). É de fácil utilização, pois não necessita de nenhum dispositivo específico como àquela usada por Schimitz-Moorman *et al.* (1982). É pouco dispendiosa, sendo composta de insumos presentes ou facilmente adquiríveis em um laboratório de patologia. Apesar de representar um custo adicional de dois reais e noventa centavos por espécime, este valor é recuperado e com lucro pelo aumento de eficiência e qualidade na dissecação com grande economia de tempo do examinador, o que também representa um custo a menos (Economia de 20 minutos no tempo de dissecação representa um custo a menos de doze reais, levando-se em conta o trabalho do patologista júnior, remuneração básica mais encargos: R\$ 0,60/min)(Quadro 8 – Anexos).

Como observado por outros autores que empregaram variadas técnicas de clareamento, a dissecação é facilitada pelo uso da visão e não mais o tato, o que permite dissecar LN tão pequenos como 1mm, eliminando a perda de LN pequenos (SCHIMITZ-MOORMAN, 1982; SCOTT e GRACE, 1989; COHEN *et al.*, 1994; HIDA *et al.*, 1994). Em relação à SC específica que testamos, confirmamos o observado por Koren *et al.* (1997), que o uso da solução não interfere na qualidade das colorações de rotina e no estudo imunoistoquímico para citoqueratina.

Nossa média de dissecação pelo MC (21 LN/caso) é alta (PEREIRA Jr *et al.*, 2006) e neste trabalho foi 24,5 LN/caso, que é o dobro do mínimo recomendado pelo sistema TNM e está acima das descritas na literatura, que variam de 3,1 a 21 LN/caso (Tabela 13). Mais ainda, após este estudo podemos afirmar com certeza que é uma dissecação minuciosa com boa qualidade dentro das limitações do

método, uma vez que se dissecaram muitos LN pequenos (58,8% dos 1814 LN), valor superior à média da literatura 49% (SCHIMITZ-MOORMAN, 1982; HIDA *et al.*, 1994) e comparável aos 70% relatados por Cserni (2002).

Tabela 13 – Dissecção média de linfonodos pelo método convencional em casos de carcinoma colorretal, registrada na literatura.

Séries	Linfonodos / caso
Presente série (2007)	24,5 LN/caso
Cohen <i>et al.</i> (1994)	21,0 LN/caso
Joseph <i>et al.</i> (2003) - INT0089 – 1585 pacientes	18,5 LN/caso
Goldstein NS (2002) - Base de dados William Beaumont Hospital, Michigan, USA – 2427 pacientes	18,4 LN/caso
Hida <i>et al.</i> (1994)	18,1 LN/caso
Cserni (2002)	12,4 LN/caso
Scott e Grace (1989)	6,1 LN/caso
Schimitz-Moorman <i>et al.</i> (1982)	3,1 LN/caso

Os poucos LN maiores que 4mm dissecados com o uso da SC tinham um eixo longitudinal predominante (forma afilada) e estavam justapostos a vasos sanguíneos, o que provavelmente ocasionou sua perda durante o processo de dissecção convencional, pois durante a palpação os vasos se sobrepuseram. Mesmo assim, com o uso da SC conseguimos quase dobrar esta média, passando

para 42,8 LN/caso, ou seja, um ganho de 74% na eficiência. Além disso, deve-se considerar que a dissecação usando-se a SC é mais fácil e objetiva pelo uso da visão direta e menos demorada. Em números absolutos esse ganho é alto, comparável aos valores mais altos obtidos por outros autores utilizando métodos auxiliares de dissecação (SCOTT e GRACE, 1989; HERRERA-ORNELAS, 1987; COHEN *et al.*, 1994; HIDA *et al.*, 1994). Hida *et al.* (1994) dissecaram 76 LN/caso e Herreras-Ornelas *et al.*(1987) 52 LN/caso, porém estes autores usaram métodos muito complicados, dispendiosos e onerosos em tempo (em torno de duas semanas), atualmente apenas admissíveis em protocolos de pesquisa.

É notório que o ganho no número de LN promovido pela técnica de clareamento de gorduras foi devido ao aumento da capacidade de se encontrar LN pequenos, que eram a maioria. Hida *et al.* (1994) e Schimitz-Moorman *et al.* (1982) relataram que 77% e 73,4% dos LN dissecados após o clareamento tinham até 4mm de diâmetro contra 49% dos LN obtidos pelo MC. Nossos dados mostram predominância de LN pequenos (até 4mm de diâmetro), isto é 93% dos 1355 LN dissecados após o clareamento, o que representou um ganho de 118% em relação ao MC.

Como em outros trabalhos o aumento no número de LN dissecados refletiu-se no aumento (15,3%) de metástases detectadas nesses pacientes. Este percentual é significativo, porém menor do que o observado por outros autores como Scott e Grace (1989) que encontraram metástases adicionais em 73,5%, Cohen *et al.* (1994) que observaram metástases em 17,1% e Schimitz-Moorman *et al.* (1982) que relataram 89,3% de metástases nos LN dissecados por método auxiliar. Essa diferença se deve no entanto ao fato da baixa eficiência da dissecação convencional

demonstrada por estes autores (Tabela 13). Por outro lado, é importante enfatizar que nossos dados corroboram os de outros estudos, os quais demonstraram que mais metástases linfonodais são identificadas quanto mais LN são examinados (GOLDSTEIN *et al.*, 1996). Le Voyer *et al.* (2003) observaram que a análise de mais LN, negativos ou positivos, está associada a maior sobrevida dos pacientes. Segundo alguns autores a dissecação de muitos LN diminuiria a massa residual da neoplasia, podendo assim aumentar a eficácia de terapias adjuvantes (quimioterapia), com conseqüente aumento da sobrevida destes pacientes (TEPPER *et al.*, 2001; JOSEPH *et al.*, 2003). No entanto, para comprovar os benefícios terapêuticos diretos da dissecação de LN teríamos que avaliar dados de sobrevida de nossos pacientes, o que deixamos para estudos futuros, aguardando um mínimo de tempo de acompanhamento destes.

Dos 26 LN comprometidos obtidos após o uso da SC, 19 (73%) tinham até 4mm. Observamos que em 20% de todos os nossos casos que apresentavam metástases linfonodais, o maior LN media até 4mm. Esse índice é ligeiramente inferior ao observado por Cserni (2002) que encontrou um terço dos casos em condição semelhante, porém este autor considerou como ponto de corte 5mm. Além disso, comprovando a importância da dissecação dos LN pequenos (HERRERA-ORNELAS *et al.*, 1987; CSERNI, 2002), nos nossos quatro casos que mudaram o estadiamento de pN0 para pN1 o maior LN comprometido media até 4mm.

O uso da SC permitiu um aumento de 12,9% no número de casos com metástases, dos quais, cinco casos mudaram o estadiamento. Ou seja, dos 43 casos inicialmente estadiados como pN0, quatro casos (9,3%) na verdade eram casos pN1 sub-

estadiados. Nos cinco casos que mudaram de estadiamento um era pT2 e quatro pT3, corroborando Herreras-Ornelas *et al.* (1987), que afirmaram que os tumores confinados à parede (pT1 a pT3) tinham maior risco de ser sub-estadiados, porque frequentemente nestes casos todos os LN comprometidos mediam até 5mm de diâmetro. Além disso, o uso da SC melhorou a qualidade do estadiamento em cinco dos seis casos (83,3%) nos quais se tinham examinados menos de 12 LN. Observamos também que o número de metástases encontradas após o uso da SC foi maior quando havia pelo menos uma metástase no MC.

Não há consenso quanto ao número ideal de LN a dissecar, principalmente em casos pN0, para que se possa considerar o paciente com CCR adequadamente estadiado. Existem sugestões de valores entre sete e 18 linfonodos (HERMANZ *et al.*, 1994; GOLDSTEIN *et al.*, 1996; WONG *et al.*, 1999) e o sistema TNM sugere 12 LN. No entanto, em nosso estudo, todos os casos que mudaram de estadiamento após o uso da SC apresentavam 12 ou mais LN dissecados pelo MC, existindo um caso em que se havia dissecado 20 LN. Além disso, apenas após a análise de 40 LN identificamos 90% dos casos com metástases. Estes resultados se correlacionam com os de Joseph *et al.* (2003) que utilizando um modelo matemático sugeriram que seria necessário analisar em torno de 40 LN para CCR's pT1 - pT3 e 30 para pT4 para estadiar adequadamente estes pacientes. Le Voyer *et al.* (2003) demonstraram que mesmo para os grupos de pacientes pN1 e pN2 a sobrevida geral em 5 anos foi melhor (90% e 71%) naqueles em que se tinham examinado mais de 40 e 35 LN respectivamente, havendo ainda uma melhora contínua com a evolução até 10 anos. Com base nestes resultados, concordamos com Goldstein (2002) quando este afirma que não existe um número mínimo de LN a ser alcançado

para um estadiamento correto ou acurado de todos os pacientes e com a equação de Bilchik (1998): “More (nodes) + more (analysis) = less (mortality)”.

Avaliamos algumas características dos pacientes, do tumor e dos LN (tamanho) com o intuito de identificar fatores que pudessem interferir ou prever o número final de LN dissecados e LN comprometidos. Houve correlação inversa entre o número final de LN e a idade do paciente, o que está de acordo com dados registrados na literatura e pode estar relacionado com a menor ativação do sistema imunitário em pacientes mais velhos (PRANDI *et al.*, 2002). O número final de LN dissecados correlacionou-se significativamente com os diâmetros do maior e menor LN. Assumindo que o diâmetro do LN pode expressar o grau de reatividade do sistema imunitário, os dados sugerem que nesses pacientes haveria maior resposta imune com mais linfonodos reacionais passíveis de ser dissecados. Além disso, maiores LN são mais facilmente identificados e, portanto dissecados. Por outro lado, o número final de LN correlacionou-se negativamente com o diâmetro do menor LN e positiva e fortemente com o número de LN menores que 4mm, confirmando a observação de que os LN pequenos constituem a maioria, particularmente após o uso da SC. Não houve correlação do número final de LN com características do tumor como dimensões de superfície, volume e grau de infiltração da parede (pT). Por outro lado, o número final de LN pode ser predito de forma independente pelo número de LN menores que 4mm, o diâmetro do maior LN dissecado e o grau de infiltração do tumor (pT).

Em relação às metástases, observamos correlações fracas, mas significativas entre o número de LN comprometidos e o pT e o diâmetro do maior LN. Em detrimento

dos demais fatores analisados, somente o status do pT e a medida do diâmetro do maior LN predisseram a presença de pelo menos uma metástase. A correlação de metástases com pT confirma dados anteriores de nosso grupo em dissecação convencional de LN numa série maior (PEREIRA Jr *et al.*, 2006). É provável que pacientes com metástases sejam mais expostos aos antígenos tumorais apresentando assim maior estimulação do sistema imunitário e portanto, LN maiores. Contrariando os achados de Prandi *et al.* (2002) não observamos correlação do número de metástases com o gênero dos pacientes. Embora a probabilidade de achar metástases aumente ao dissecar mais LN, como comprovado neste estudo, não observamos correlação entre o número final de LN dissecados e a presença de metástases, provavelmente porque ambos dependem de outros fatores não avaliados. Apesar de não termos observado correlação das dimensões do tumor, gênero e idade dos pacientes com o número final de LN comprometidos, todos os pacientes que mudaram de estadiamento eram homens, significativamente mais velhos e tinham tumores mais espessos.

7. Conclusões

- ✓ Apesar de não observamos uma relação direta, o exame de muitos LN aumenta a probabilidade de se encontrar metástases e o grau de confiança do estadiamento dos pacientes com CCR.
- ✓ Nosso estudo demonstrou que 20 LN dissecados não eram suficientes para estabelecer com segurança o pN em casos de CCR e apenas após a análise de 40 LN tínhamos os dados corretos em 90% dos casos. Assim, o número de 12 LN dissecados sugeridos pelo sistema TNM não garante um estadiamento adequado em casos de pN0.
- ✓ A baixa eficiência do MC em detectar LN pequenos pode levar ao sub-estadiamento e sub-tratamento dos pacientes com CCR.
- ✓ O número de LN dissecados pode ser predito de forma independente pelo número de LN menores que 4mm, o diâmetro do maior LN dissecado e o grau de infiltração do tumor (pT).
- ✓ O *status* do pT e a medida do diâmetro do maior LN predisseram a presença de pelo menos uma metástase.
- ✓ Os dados sugerem que se deve extrair e examinar o máximo de LN possíveis, principalmente os LN pequenos. O uso de uma SC pode ser muito útil para esse propósito e, ao contrário do que muitos pensam, pode tornar o processo de dissecação mais econômico.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asther, V. B., F. A. Coller. The classification significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Annals of Surgery*, v.139, p.846-51. 1954.

Bembenek, A., U. Schneider, et al. Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and nonsentinel lymph nodes of colon cancer patients. *World J Surg*, v.29, n.9, Sep, p.1172-5. 2005.

Bilchik, A. More (nodes) + more (analysis) = less (mortality): challenging the therapeutic equation for early-stage colon cancer. *Ann Surg Oncol*, v.10, n.3, Apr, p.203-5. 2003.

Bilchik, A. J., A. Giuliano, et al. Universal application of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in solid neoplasms. *Cancer J Sci Am*, v.4, n.6, Nov-Dec, p.351-8. 1998.

Caplin, S., J. P. Cerottini, et al. For patients with Dukes' B (TNM Stage II) colorectal carcinoma, examination of six or fewer lymph nodes is related to poor prognosis. *Cancer*, v.83, n.4, Aug 15, p.666-72. 1998.

Cianchi, F., A. Palomba, et al. Lymph node recovery from colorectal tumor specimens: recommendation for a minimum number of lymph nodes to be examined. *World J Surg*, v.26, n.3, Mar, p.384-9. 2002.

Cohen, A. M., Et Al. Adjuvant therapy for colorectal cancer. Current Problems in Cancer, v.22, n.1, January-february, p.11-77. 1998.

Cohen, S. M., S. D. Wexner, et al. Effect of xylene clearance of mesenteric fat on harvest of lymph nodes after colonic resection. Eur J Surg, v.160, n.12, Dec, p.693-7. 1994.

Compton, C. C. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the colon and rectum, excluding carcinoid tumors, lymphomas, sarcomas, and tumors of the vermiform appendix: a basis for checklists. Cancer Committee. Arch Pathol Lab Med, v.124, n.7, Jul, p.1016-25. 2000.

_____. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. Mod Pathol, v.16, n.4, Apr, p.376-88. 2003.

Compton, C. C. Pathologic Staging of Colorectal Cancer - An Advanced User's Guide. Pathology Case Reviews, v.9, n.4, July/August, p.150-62. 2004.

Compton, C. C., L. P. Fielding, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med, v.124, n.7, Jul, p.979-94. 2000.

Compton, C. C. e F. L. Greene. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. CA Cancer J Clin, v.54, n.6, Nov-Dec, p.295-308. 2004.

Cserni, G. The influence of nodal size on the staging of colorectal carcinomas. *J Clin Pathol*, v.55, n.5, May, p.386-90. 2002.

Cserni, G., V. Vinh-Hung, et al. Is there a minimum number of lymph nodes that should be histologically assessed for a reliable nodal staging of T3N0M0 colorectal carcinomas? *J Surg Oncol*, v.81, n.2, Oct, p.63-9. 2002.

Dukes, C. E. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol Bact*, v.35, p.323-32. 1932.

Fielding, L. P., P. A. Arsenault, et al. Clinicopathological staging for colorectal cancer: an International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J Gastroenterol Hepatol*, v.6, n.4, Jul-Aug, p.325-44. 1991.

Goldstein, N. S. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol*, v.26, n.2, Feb, p.179-89. 2002.

Goldstein, N. S., W. Sanford, et al. Lymph node recovery from colorectal resection specimens removed for adenocarcinoma. Trends over time and a recommendation for a minimum number of lymph nodes to be recovered. *Am J Clin Pathol*, v.106, n.2, Aug, p.209-16. 1996.

Greenson, J. K., C. E. Isenhardt, et al. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Duke's B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Correlation with long-term survival. *Cancer*, v.73, n.3, Feb 1, p.563-9. 1994.

Hammond, M. E., P. L. Fitzgibbons, et al. College of American Pathologists Conference XXXV: solid tumor prognostic factors-which, how and so what? Summary document and recommendations for implementation. Cancer Committee and Conference Participants. *Arch Pathol Lab Med*, v.124, n.7, Jul, p.958-65. 2000.

Hermanek, P. Impact of surgeon's technique on outcome after treatment of rectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*, v.42, n.5, May, p.559-62. 1999.

_____. Tumors of the gastrointestinal tract and the pancreas: histopathology, staging and prognosis. *Anticancer Res*, v.19, n.4A, Jul-Aug, p.2393-6. 1999.

Hernanz, F., S. Revuelta, et al. Colorectal adenocarcinoma: quality of the assessment of lymph node metastases. *Dis Colon Rectum*, v.37, n.4, Apr, p.373-6; discussion 376-7. 1994.

Herrera-Ornelas, L., J. Justiniano, et al. Metastases in small lymph nodes from colon cancer. *Arch Surg*, v.122, n.11, Nov, p.1253-6. 1987.

Hida, J., N. Mori, et al. Metastases from carcinoma of the colon and rectum detected in small lymph nodes by the clearing method. *J Am Coll Surg*, v.178, n.3, Mar, p.223-8. 1994.

Horzic, M. e M. Kopljar. Minimal number of lymph nodes that need to be examined for adequate staging of colorectal cancer--factors influencing lymph node harvest. *Hepatogastroenterology*, v.52, n.61, Jan-Feb, p.86-9. 2005.

Inca. Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer - <http://www.inca.gov.br>. Acesso em 27-Fev-2007

Jass, J. R., K. Miller, *et al.* Fat clearance method versus manual dissection of lymph nodes in specimens of rectal cancer. *Int J Colorectal Dis*, v.1, n.3, Jul, p.155-6. 1986.

Johnson, P. M., G. A. Porter, et al. Increasing negative lymph node count is independently associated with improved long-term survival in stage IIIB and IIIC colon cancer. *J Clin Oncol*, v.24, n.22, Aug 1, p.3570-5. 2006.

Joseph, N. E., E. R. Sigurdson, et al. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. *Ann Surg Oncol*, v.10, n.3, Apr, p.213-8. 2003.

Koren, R., A. Siegal, et al. Lymph node-revealing solution: simple new method for detecting minute lymph nodes in colon carcinoma. *Dis Colon Rectum*, v.40, n.4, Apr, p.407-10. 1997.

Le Voyer, T. E., E. R. Sigurdson, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol*, v.21, n.15, Aug 1, p.2912-9. 2003.

Lindmark, G., B. Gerdin, et al. Prognostic predictors in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*, v.37, n.12, Dec, p.1219-27. 1994.

Lockhart-Mummery, J. P. Two hundred cases of cancer of the rectum treated by perineal excision. *Br J Surg*, v.14, p.110. 1926-1927.

Maurel, J., G. Launoy, et al. Lymph node harvest reporting in patients with carcinoma of the large bowel: a French population-based study. *Cancer*, v.82, n.8, Apr 15, p.1482-6. 1998.

Merrie, A. E., A. M. Van Rij, et al. Prognostic significance of occult metastases in colon cancer. *Dis Colon Rectum*, v.46, n.2, Feb, p.221-31. 2003.

Pereira Júnior, T. A., A.J.C.; Nogueira, A.M.M.F. Câncer colorretal: análise anatomopatológica de 476 colectomias consecutivas em Belo Horizonte (MG). *J Bras Patol Med Lab*, v.41, n.3, Junho, p.175-84. 2005.

Pereira, T., Jr., R. A. Torres, et al. [Lymph node evaluation in colorectal cancer]. *Arq Gastroenterol*, v.43, n.2, Apr-Jun, p.89-93. 2006.

Prandi, M., R. Lionetto, *et al.* Prognostic evaluation of stage B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy: results of a secondary analysis of a large scale adjuvant trial. Ann Surg, v.235, n.4, Apr, p.458-63. 2002.

Rodriguez-Bigas, M. A., S. Maamoun, *et al.* Clinical significance of colorectal cancer: metastases in lymph nodes < 5 mm in size. Ann Surg Oncol, v.3, n.2, Mar, p.124-30. 1996.

Saha, S., D. Nora, *et al.* Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer--a review. Surg Clin North Am, v.80, n.6, Dec, p.1811-9. 2000.

Saha, S., D. Wiese, *et al.* Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. Ann Surg Oncol, v.7, n.2, Mar, p.120-4. 2000.

Salles, P. G. O., Nogueira, Ammf. Câncer colorretal: Preparo e análise de peças cirúrgicas. In: L. P. Castro (Ed.). Tópicos em gastroenterologia. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, v.11, 2001. Câncer colorretal: Preparo e análise de peças cirúrgicas, p.167-74

Schmitz-Moormann, P., C. Thomas, *et al.* Patho-anatomical demonstration of lymph node metastases in a surgical specimen. Pathol Res Pract, v.174, n.4, Oct, p.403-11. 1982.

Scott, K. W. e R. H. Grace. Detection of lymph node metastases in colorectal carcinoma before and after fat clearance. *Br J Surg*, v.76, n.11, Nov, p.1165-7. 1989.

Sobin, L. H., Wittekind, C.H. Colon and rectum. In: Uicc (Ed.). *TNM Cassification of malignant tumors*. New York: Willy-Liss, 2002. Colon and rectum, p.72-6

Swanson, R. S., C. C. Compton, et al. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*, v.10, n.1, Jan-Feb, p.65-71. 2003.

_____. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*, v.10, n.1, Jan-Feb, p.65-71. 2003.

Tepper, J. E., M. J. O'connell, et al. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol*, v.19, n.1, Jan 1, p.157-63. 2001.

_____. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol*, v.19, n.1, Jan 1, p.157-63. 2001.

Who. globocan - 2002: International Agency for Research on Câncer - <http://www-dep.iarc.fr> Acesso em 27- Fev-2007.

Wong, J. H., R. Severino, et al. Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*, v.17, n.9, Sep, p.2896-900. 1999.

ANEXOS

Quadro 1 - Classificação de Dukes

Estádio	Tumor	Metástases em LN regionais	Metástases à distância
A	Tumor infiltra até a muscular própria	Ausente	Ausente
B	Tumor infiltra além da muscular própria, incluindo órgãos ou estruturas e/ou perfura o peritônio visceral.	Ausente	Ausente
C	Qualquer uma das situações anteriores (A ou B).	Presente	Ausente
D	Qualquer uma das situações anteriores (A ou B)	Presente	Presente

Quadro 2 – Avaliação da extensão do tumor no CCR – TNM

T - Tumor Primário	
TX	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Não há evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : intra-epitelial ou invasão da lâmina própria ¹
T1	Tumor que invade a submucosa
T2	Tumor que invade a muscular própria
T3	Tumor que invade além da muscular própria, alcançando a subserosa ou os tecidos peri-cólicos ou peri-retais, não peritonizados
T4	Tumor que invade diretamente outros órgãos ou estruturas ^{2, 3} e/ou que perfura o peritônio visceral

Notas:

1. Tis inclui as células neoplásicas confinadas à membrana basal glandular (intra-epitelial) ou à lâmina própria (intramucoso), sem extensão pela muscularis mucosae e sem alcançar a submucosa.
2. No T4, a invasão direta inclui a invasão de outros segmentos do cólon e reto através da serosa; p. ex: invasão do cólon sigmóide por um carcinoma do ceco.
3. O tumor que é aderente a outros órgãos ou estruturas, macroscopicamente, é classificado como T4. Entretanto, não existe tumor na aderência, microscopicamente, a classificação deve ser pT3.

Quadro 3 - Avaliação do status dos linfonodos no CCR – TNM

N- Linfonodos Regionais		
	NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
	N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais
	N1	Metástase em 1 a 3 linfonodos regionais
	N2	Metástase em 4 ou mais linfonodos regionais

Nota:

1 - Um nódulo tumoral localizado no tecido adiposo peri-retal ou peri-cólico, sem evidência histológica de linfonodo residual no nódulo, é classificado na categoria pN como metástase em linfonodo regional, se o nódulo tem a forma e o contorno liso de um linfonodo. Se o nódulo tem um contorno irregular, ele deve ser classificado na categoria T e também codificado como V1 (invasão venosa microscópica) ou V2, se ele era macroscopicamente evidente, pois existe uma forte probabilidade que represente uma invasão venosa.

2 - O exame histológico do espécime de uma linfadenectomia regional incluirá, geralmente, 12 ou mais linfonodos. Se os linfonodos são negativos, mesmo que o número usualmente examinado seja não encontrado, classifica-se como pN0.

Quadro 4 - Avaliação de metástases a distância no CCR – TNM

M - Metástase à Distância		
	MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada
	M0	Ausência de metástase à distância
	M1	Metástase à distância

*Reproduzidos de Sobin e Wittekind, 6th ed. UICC: 2002.

Quadro 5 - Grupamento por Estádios no CCR – TNM

Estádio	0	Tis N0 M0
Estádio	I	T1, T2 N0 M0
Estádio	IIA	T3 N0 M0
	IIB	T4 N0 M0
Estádio	IIIA	T1, T2 N1 M0
	IIIB	T3, T4 N1 M0
	IIIC	Qualquer T N2 M0
Estádio	IV	Qualquer T Qualquer N M1

*Reproduzidos de Sobin e Wittekind, 6th ed. UICC: 2002.

Quadro 7 – Custos da solução clareadora de gorduras

Substância	Volume	Custo	Preço por litro	Fornecedor
Álcool absoluto	650ml	R\$ 1,82	R\$ 2,80	Enfal
Éter	200ml	R\$ 3,33	R\$ 16,50	Sulfal
Ácido acético glacial	50ml	R\$ 0,04	R\$ 12,50	Sulfal
Formol a 10%	100ml	R\$ 0,63	R\$ 0,40	SOS dos laboratórios
Total	1000ml	R\$ 5,81		

SULFAL

Rua: São Rafael, nº 19 - Floresta – Belo Horizonte - MG

sulfalquimica@ig.com.br

Tel: (31) 3481-3737

S.O.S. LABORATÓRIO LTDA

Rua: Castro Caldas, 677 - Padre Eustáquio – Belo Horizonte – MG

www.soslab.com.br - soslab@soslab.com.br

Tel: (31) 3462-6161

EMFAL

Rua: K, 105 - Jardim Piemonte – Betim – MG

Tel: (31) 3597-1020

Quadro 8 – Estimativa de custo do tempo do patologista júnior

Provento		Custo	Minutos / mês	R\$ / minuto
Salário	40 h semanais	R\$ 4.000,00	10.560	R\$ 0,38
Encargos				
Previdência	1/12	R\$ 1.152,00		
FGTS	1/12	R\$ 320,00		
13 º salário	1/12	R\$ 111,11		
Férias	1/12	R\$ 333,33		
Adicional de férias	1/12	R\$ 111,11		
Aviso	1/12	R\$ 333,33		
Total		R\$ 6.360,88	10.560	R\$ 0,60