

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

LEONARDO VIEIRA POLLI

**Análise do perfil leucocitário como elemento prognóstico na
resposta à terapia neo-adjuvante no câncer do reto**

JOINVILLE
2014

LEONARDO VIEIRA POLLI

**Análise do perfil leucocitário como elemento prognóstico na
resposta à terapia neo-adjuvante no câncer do reto**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, na Universidade da Região de Joinville. Orientador: Prof. Drº Mauro de Souza Leite Pinho.

JOINVILLE

2014

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

Polli, Leonardo Vieira

P774a Análise do perfil leucocitário como elemento prognóstico na resposta à terapia neo-adjuvante no
câncer do reto / Leonardo Vieira Polli ; orientador Dr. Mauro de Souza Leite Pinho – Joinville:
UNIVILLE, 2014.

40 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. Linfócitos. 2. Leucócitos. 3. Neoplasia do reto. 4. Neo-adjuvância. I. Pinho, Mauro de Souza Leite. (orient.). II. Título.

CDD 616.99435

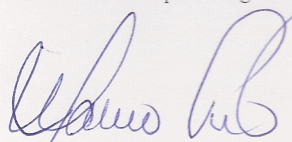
Termo de Aprovação

“Análise do Perfil Leucocitário como Elemento Prognóstico na Resposta à Terapia Neo-Adjuvante no Câncer do Reto”

por

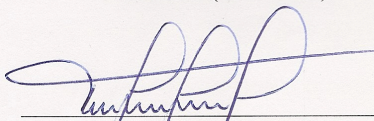
Leonardo Vieira Polli

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dr. Mauro de Souza Leite Pinho

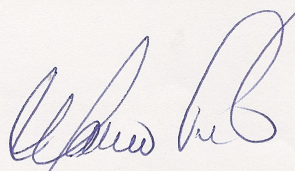
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira

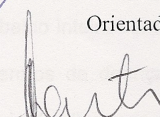
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:

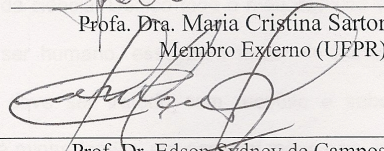


Prof. Dr. Mauro de Souza Leite Pinho

Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Maria Cristina Sartor
Membro Externo (UFPR)



Prof. Dr. Edson Sydney de Campos
(UNIVILLE)

Joinville, 05 de setembro de 2014

Dedico este trabalho inteiramente aos meus pacientes ainda que, enfermos da doença, contribuíram para o avanço da ciência. Dedico todo o meu trabalho voltado para o ser humano, esse bem maior do mundo que sempre deve ser tratado com respeito e sabedoria. Dedico à minha família, em especial meus pais, irmãos e sobrinhos, com agradecimento em especial ao meu avô Pedro, que sempre apoiou e estimulou na medicina, in memoriam.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Professor Dr. Mauro de Souza Leite Pinho , que sempre presente me auxiliou com sabedoria na minha inserção na ciência e pesquisa, com este projeto e na criação de linha de pesquisa em câncer colo retal.

Agradeço ao Hospital Municipal São José e ao Hospital e Maternidade São José pelo apoio e disponibilidade dos dados para minha pesquisa. Agradeço aos funcionários do Setor de Oncologia dos hospitais em questão, que sempre me ajudaram na coleta de dados e na incansável procura de informações e prontuários.

Agradeço aos meus professores e colegas de mestrado que, sempre com calma, souberam ser cordiais e companheiros nestes momentos difíceis e alegres desta caminhada.

Agradeço ao meu pai, meu mestre que me ensinou a nunca desistir, a despeito das dificuldades; a minha mãe, que me passou calma e tranquilidade nas horas difíceis e aas minhas irmãs que sempre foram amigas e ofereceram um ombro amigo durante esta caminhada com minhas frustrações e conquistas. Um agradecimento em especial a meus amigos de mestrado, Lorenza, Graziela, William e Giselle, sempre presentes nas horas difíceis. Antonio Armando meu amigo, nessa hora lembro-me das nossas conversas e o quanto aprendi com elas e pude colocar em prática neste projeto.

RESUMO

Objetivo: Avaliar se existe associação entre a relação neutrófilo-linfócito e o número de linfócitos com a resposta ao tratamento radio-quimioterápico neo-adjuvante na neoplasia de reto. **Método:** Estudo retrospectivo realizado com 35 pacientes atendidos no Serviço de Oncologia do Hospital São José e Hospital Municipal São José. Hemograma completo, obtidos previamente ao tratamento radio-quimioterápico e foram analisados o número total de leucócitos, linfócitos a relação destes correlacionados com a resposta ao tratamento neo-adjuvante. **Resultados:** Houve resposta completa em 11 casos (31,4%). A média de linfócitos nos pacientes que obtiveram resposta completa foi de 31,2%, enquanto que naqueles com resposta incompleta foi de 27,6% ($p=0,193$). A relação neutrófilo/linfócito (N/L) foi de 3,79 nas respostas completas e 3,55 nas incompletas. **Conclusões:** Não foi possível demonstrar, no presente estudo, relação significativa entre a resposta completa tumoral à terapia neo-adjuvante nos parâmetros analisados do perfil leucocitário, incluindo o número total prévio de leucócitos, os números absoluto e relativo de linfócitos e a relação neutrófilos divididos por linfócitos.

PALAVRAS-CHAVE: linfócitos, leucócitos, neoplasia de reto, neo-adjuvância.

ABSTRACT

Objective: To evaluate whether there is an association between the neutrophil-lymphocyte ratio and the number of lymphocytes with response to neoadjuvant radio-chemotherapy in cancer of the rectum. **Methods:** A retrospective study of 35 patients treated at the Oncology department at Hospital Municipal Sao Jose and Hospital Sao Jose , previously obtained by radio-chemotherapy and the total number of leukocytes were analyzed, the relationship of these lymphocytes correlated with the response on neoadjuvant treatment. **Results:** There was complete response in 11 cases (31.4%). The average of lymphocytes in patients who achieved complete response was 31.2%, while those with incomplete response was 27.6% (p = 0.193). The relationship neutrophil / lymphocyte (N / L) was 3.79 and 3.55 in complete responses and incomplete, respectively. **Conclusions:** It was not possible to demonstrate in the present study, significant relationship between complete tumor response to neoadjuvant therapy in parameters analyzed leukocyte profile, including total number of leukocytes, the absolute and relative numbers of lymphocytes and neutrophils compared divided by lymphocytes.

KEYWORDS: lymphocytes, leukocytes, rectal cancer, neoadjuvant

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	–	Número total de leucócitos.....	31
Quadro 2	– Expressão de linfócitos.....		31
Quadro 3	–	Relação de Neutrófilos/Linfócito (N/L).....	32
Quadro 4	–	Dose de radioterapia.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PCR	“Polimerase Chain Reaction”
MSI	“Microsatellite instability “
CEA	Antígeno Carcinoembrionário.
OS	“Overall Survival “ – Sobrevida Global
N/L	Relação Neutrófilo divididos pelos Linfócitos
HMSJ	Hospital Municipal São José de Joinville
HSJ	Hospital e Maternidade São José de Jaraguá do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2- OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral	
2.2 Objetivos específicos.....	
3. REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 – Aspectos históricos do tratamento cirúrgico do câncer de reto	13
3.2 – Aspectos históricos da radioterapia no câncer de reto	14
3.3- Princípios básicos de imunologia	16
3.4 - Resposta imunológica tumoral no câncer colorretal	17
3.4.1- Infiltração linfocitária tumoral.....	17
3.4.2- Resposta inflamatória sistêmica	18
3.4.3- Relação entre a respostas inflamatória sistêmica e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal.....	18
3.4.4- Relação entre a infiltração linfocitária e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 - Pacientes	21
4.2-Métodos.....	21
4.3 - Procedimento dos dados e análise estatística	21
4.4 - Aspectos Éticos.....	23
5. RESULTADOS:.....	25
6 REFERÊNCIAS	39
7 ANEXOS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A neoplasia do reto é a doença cuja incidência apresenta-se em constante crescimento na população em geral, representando hoje, no Brasil, a segunda causa de incidência de câncer em mulheres e a terceira entre os homens. Conforme dados de estimativas do Instituto Nacional do Câncer, estimam-se, para 2014, no Brasil, 15.070 casos novos de câncer do cólon e reto em homens e 17.530 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 15,44 casos novos a cada 100 mil homens e 17,24 a cada 100 mil mulheres (INCA, 2014).

Estudo prévios comprovaram o benefício do tratamento radio quimioterápico neo-adjuvante, realizado antes da cirurgia (Habr-Gama e cols, 2010) quando comparado ao tratamento adjuvante, este realizado após a cirurgia. Apesar de todos os esforços buscando definir critérios rígidos para a indicação de tratamento neo-adjuvante ou adjuvante, ainda não sabemos quais são os fatores capazes de predizer os pacientes que apresentarão boa resposta a neo-adjuvância, de forma a evitar uma agressão terapêutica desnecessária. Para alcançar esta definição, diversos estudos tem sido realizados analisando os diferentes aspectos biológicos relacionados ao paciente e à doença tumoral. Dentre esses, destaca-se a resposta imunológica, a qual é cada vez melhor caracterizada como fator importante e intrínseco na resposta aos tratamento oncológicos(SAUER e cols.,2004).

Vários aspectos da imunologia têm sido tema de estudos, sendo considerados os fatores relacionados ao tumor, ao hospedeiro e à sua interação. Dentre esses, resultados mais consistentes têm sido obtidos na avaliação da resposta linfocitária local e sistêmica, caracterizada pela infiltração de linfócitos dentro do tecido tumoral e pela maior presença de linfócitos circulantes no sangue periférico. O valor prognóstico dessa maior expressão sistêmica de linfócitos tem sido demonstrado por meio de estudos que sugerem melhor resposta tumoral à neoadjuvância em pacientes que apresentem maior número de linfócitos proporcionalmente a todos os neutrófilos, sendo essa relação sintetizada através pela equação neutrófilos/linfócitos (YASUDA e cols.,2011).

2- OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Correlacionar o perfil leucocitário e linfocitário dos pacientes portadores de câncer do reto, tratados com qualidade da resposta tumoral obtida pela neo-adjuvância .

2.2 Objetivos específicos

Correlacionar o número total prévio de leucócitos com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante.

Correlacionar o número absoluto e relativo de linfócitos com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante.

Correlacionar a relação neutrófilos divididos pelos linfócitos prévia com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 – Aspectos históricos do tratamento cirúrgico do câncer do reto

O tratamento cirúrgico moderno do câncer retal iniciou-se em 1908, após os trabalhos pioneiros de Miles, o qual, pela primeira vez, associou a linfadenectomia mesentérica inferior à ressecção retal completa, com realização de colostomia definitiva. Essa contribuição possibilitou a obtenção de melhores resultados oncológicos, que ainda são similares àqueles obtidos nos dias de hoje, mais de um século depois. O procedimento descrito por Miles permanece como a operação de escolha para tumores situados no terço inferior do reto, nos quais ocorra o comprometimento do anel anorretal(MILES e cols.,1944).

Na década de 30 os estudos de anatomia patológica de Dukes foram de fundamental importância para a melhor compreensão da disseminação linfática das neoplasias retais, ao demonstrar a drenagem prioritária no sentido ascendente, assim como a menor relevância da disseminação intramural peri-tumoral, à qual restringe-se usualmente até um centímetro de sua borda inferior(DUKES e cols., 1932).

Esses achados permitiram a realização de técnicas cirúrgicas visando a preservação esfinteriana por meio de anastomoses colorretais baixas ou coloanais, favorecidas posteriormente pelo desenvolvimento de sofisticados equipamentos de sutura mecânica, superando os obstáculos representados pela dificuldade anatômica da pelve profunda. Progressivamente, a partir da década de 80 a cirurgia com preservação esfinteriana tornou-se o procedimento mais realizado no tratamento do câncer do reto, restringindo hoje a indicação da ressecção abdominoperineal com colostomia definitiva para cerca de 10 a 20% dos casos(SIMMANG e cols., 1999).

Outra contribuição importante para a obtenção de menores índices de recidiva pélvica foi a demonstração da necessidade de excisão completa e íntegra do mesorreto, tendo esse procedimento se tornado hoje padrão em todo o mundo (HEALD, HUSVAND, RYALL e cols., 1982).

3.2 – Aspectos históricos da radioterapia no câncer de reto

A dificuldade de melhora nos resultados oncológicos a longo prazo sempre estimulou os esforços no sentido de associar a radioterapia ao tratamento cirúrgico. Entretanto, os resultados iniciais, utilizando esquemas terapêuticos pré ou pós-operatórios em doses restritas a cerca de 25 Gy mostraram-se insuficientes para a obtenção de resultados satisfatórios (FOLKESSON e cols., 2005).

A utilização de rotina da radioterapia no tratamento do câncer do reto veio a se consolidar somente na década de 90, após a demonstração de respostas tumorais consistentes com a utilização de doses acima de 45 Gy e associadas à quimioterapia concomitante. Além disto, o desenvolvimento de novos equipamentos e técnicas radioterápicas viabilizou importante redução das complicações e efeitos colaterais, além de otimizar os benefícios das doses administradas (HABR-GAMA e cols., 1998 e 2010).

O emprego desses novos conceitos logrou a obtenção de resultados mais favoráveis, com significativa redução dos índices de recidiva local, porém sem a demonstração de benefícios significativos quanto ao impacto na sobrevida global. Além disto, observamos ao longo deste período na literatura a existência de importante controvérsia referente a dois aspectos em relação à radioterapia no câncer de reto, quais sejam o momento de indicação em relação ao tratamento cirúrgico e o período de administração (SEBAG-MONTEFIORE e cols., 2009). Desde o início das tentativas de utilização da radioterapia no tratamento do câncer de reto destacaram-se as discussões quanto a sua utilização no pós-operatório, de forma a otimizar os resultados do tratamento cirúrgico ou, ao contrário, realizar uma administração prévia à cirurgia, visando a obtenção da redução da massa tumoral (SEBAG-MONTEFIORE e cols., 2009).

Em relação aos prós e contras de cada uma dessas duas abordagens, a administração pós-operatória tem a seu favor a possibilidade de indicação mais seletiva, baseada nos aspectos anatomopatológicos do espécime ressecado e

reduzindo as indicações desnecessárias devido a doença precoce ou muito avançada. Por outro lado, apresenta as desvantagens do freqüente retardo em consequência de complicações cirúrgicas, além de estar associada à evidente possibilidade de maior disseminação local de células tumorais decorrentes da manipulação operatória de um grande volume tumoral. A atuação sobre um campo pós-operatório é portanto em piores condições de oxigenação. Já a radioterapia pré-operatória, se por um lado se torna muito dependente de recursos diagnósticos pré-operatórios, nem sempre disponíveis, no sentido de obtenção de estadiamento tumoral capaz de selecionar os casos mais adequados, por outro apresenta a vantagem de promover redução acentuada do volume de células tumorais, contribuindo para menor disseminação pela manipulação local. Além disto, sua comprovada capacidade de reduzir o grau de estadiamento tumoral (*downstaging*) apresenta o efeito benéfico de facilitar o ato cirúrgico, contribuindo para uma operação mais radical e adequada (GERARD e cols., 2006) .

Após um período no qual foram comparadas séries utilizando os diferentes esquemas, podemos dizer que os benefícios da radioterapia pré-operatória parecem ter obtido maior consenso quanto à possibilidade de obtenção de melhores resultados, sendo hoje o procedimento adotado pela maior parte dos autores em todo o mundo (BOSSET e cols., 2006).

No que diz respeito ao período de administração, podemos distinguir dois conceitos distintos, descritos como de curta ou longa duração. No primeiro tipo, popularizado em especial a partir dos trabalhos de curta duração (hipofracionamento), doses totais de cerca de 25 Gy são administrados em um período de cinco dias consecutivos, tendo como principal vantagem a redução dos efeitos colaterais e complicações (BUJIKO e cols., 2006).

O outro esquema terapêutico, de maior duração, compreende a administração de doses acima de 45 Gy fracionadas ao longo de 30 dias, sendo os primeiros e últimos dias concomitantes à quimioterapia. Essa forma de tratamento, adotada pela maioria dos autores, embora associada a maior morbidade, mostrou-se capaz de produzir redução tumoral mais efetiva, chegando mesmo nos dias de hoje a atingir índices

consistentes de resposta completa entre 20 a 30%. Estes resultados levaram Habr-Gama e cols. a sugerir, ao longo da década de 2000, a adoção seletiva de conduta conservadora não-cirúrgica, em casos de comprovação de resposta completa. Tal sugestão, inicialmente refutada, vem logrando obter progressiva aceitação internacional, sendo tema de diversos estudos prospectivos (HABR-GAMA, SOUZA, RIBEIRO e cols., 1998, 2010).

3.3- Princípios básicos de imunologia

A imunologia estuda as células, órgãos e componentes químicos do sistema imune, responsável pela resposta inata ou adaptativa. A resposta inata ou adquirida que vem passada de gerações pelas espécies sendo que a resposta adaptativa é característica de seres vertebrados, desenvolvida após o contato com os patógenos. Esse sistema requer um balanço e sua desorganização traz malefícios de ambos os lados, sendo deficiente ou hiperativo. A principal teoria, a da seleção clonal, consiste na formação da resposta imune pela formação de uma reação do antígeno com o anticorpo, sendo selecionado o melhor anticorpo para determinado antígeno, linfócito B, surgindo então uma proliferação de clones específicos (PEAKMAN, VERGANI, 2011).

O sistema imunológico humano é composto por linfócitos, linfoblastos, plasmócitos, monócitos, macrófagos, células endoteliais, raros eosinófilos e mastócitos. O linfócito é o principal componente dessas células e constitui 1% do peso corporal nos seres humanos, encontrando-se em equilíbrio entre os tecidos e o sistema sangüíneo, porém a maior parte encontra-se no baço, gânglios linfáticos e placas de Peyer no íleo. Sua característica morfológica consiste em uma célula ovóide de 8-12 micron, dividido em linfócitos T e B, que são diferenciados somente pela microscopia eletrônica. Sendo o tipo T mais freqüente no sangue periférico e o tipo B na medula óssea (PEAKMAN, VERGANI, 2011).

A resposta imune pode se constituir em dois tipos, após a penetração do antígeno no organismo. A primeira constitui-se em resposta humoral com a liberação de anticorpo circulante no sangue e outros fluidos orgânicos, favorecendo a fagocitose. A segunda pela produção de linfócitos sensibilizadores, que já apresentam os anticorpos na sua

superfície. (PEAKMAN, VERGANI, 2011).

3.4 - Resposta imunológica tumoral no câncer colorretal

3.4.1- Infiltração linfocitária tumoral

A resposta antiinflamatória tumoral apresenta importante papel na evolução de tumores, entre eles as neoplasias colorretais. Conforme Yasuda e cols. a infiltração tumoral por linfócitos T CD8+, quando ativados, apresenta valor prognóstico e boa correlação com o estadiamento da doença, sugerindo possível ação, que induz a apoptose de células tumorais. Essa ativação linfocitária pode ser demonstrada pela expressão local de elementos como granzimas B, CD69 + ou CD107+ . Conforme Koch e cols., o número de linfócitos CD4T foi observado aumentado na mucosa de células tumorais em comparação com mucosa de tecidos normais, sugerindo resposta imune aumentada nos tumores colorretais . O valor prognóstico também foi observado por Naito e cols., analisando 131 casos de câncer colorretal e correlacionado a localização das células CD8 +, as quais, quando presentes próximo ao ninho de células cancerígenas, apresentaram melhor sobrevida (NAITO e cols., 1998; KOCH e cols., 2006; NOSHO e cols., 2010).

Dados de um estudo belga observaram a infiltração tumoral por linfócitos CD3+ e CD8+ em 215 casos com instabilidade de micro satélites, usualmente associada a melhor prognóstico, apontando para maior atividade auto-imune antitumoral (DESCHOOLMEESTER e cols., 2010). Por outro lado, Dahlin e cols. (2011) ao analisar 484 casos, observou que a concentração peritumoral de linfócitos CD3+ apresentou uma melhor correlação prognóstica comparada à instabilidade de microssatélite.

Mc Cullen e cols. (2010) analisaram a composição dos nódulos linfóides na submucosa retal, observando aumento da sobrevida e controle tumoral nos casos que foi identificada uma maior infiltração de células dendríticas e linfócitos T.

3.4.2- Resposta inflamatória sistêmica

Yasuda e cols. e cols. têm demonstrado que o número de linfócitos circulantes, em especial pela análise da relação neutrófilos/linfócitos (N/L), apresenta valor prognóstico no câncer colorretal. Liu e cols. observaram relação significativa entre o valor de N/L e a sobrevida de pacientes submetidos ao tratamento de câncer retal.

Hung e cols. (2011) analisaram 1.040 pacientes portadores de câncer de cólon estágio II, dos quais 785 (75,5%) tiveram relação N/L normal e 255 (24,5%) apresentavam relação N/L elevada. Pacientes com N/L elevada tiveram menores índices de sobrevida global e intervalo livre de doença quando comparados a pacientes com N/L normal.

Chiang e cols. (2012) avaliaram 3857 pacientes portadores de câncer colorretal estágio I,II e III e observaram que uma relação N/L acima de 3 foi associada a uma maior sensibilidade e especificidade e menor sobrevida de cinco anos tanto no câncer de cólon (66,3% x 78,9%; $p < 0,001$) como no câncer retal (60,5% x 66,2%) quando comparada a pacientes com relação N/L abaixo desse valor. Além disto, pacientes com N/L acima desse nível apresentaram ainda a ocorrência de tumores maiores (5 cm) e doenças localmente mais avançadas.

Chua e cols. (2011) analisaram 349 pacientes em duas coortes independentes de pacientes recebendo primeira linha de quimioterapia paliativa e observaram a relação N/L como fator prognóstico positivo.

3.4.3- Relação entre a respostas inflamatória sistêmica e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal

Uma vez detectado o valor prognóstico da resposta inflamatória sistêmica, alguns autores têm buscado demonstrar sua possível influência nos resultados da radio-quimioterapia realizada nos tumor do reto. Kitayama e cols. (2010) ao analisar 73 pacientes operados para o tratamento de câncer do reto após a radio-quimioterapia

neo-adjuvante e obtiveram uma resposta tumoral completa em 10 pacientes (14%), nos quais observaram uma contagem periférica de linfócitos significativamente maior ($p=0,02$) e relação neutrófilos/linfócitos com tendência a ser menor ($p=0,099$). A partir desses achados, sugeriram que a completa erradicação das células tumorais seja dependente de uma reação imune mediada pelos linfócitos e que a manutenção do número de linfócitos circulantes seja importante nessa resposta à neo-adjuvância. Kitayama e cols.(2011) em trabalho subsequente, analisaram amostras de sangue colhidas antes e depois da radioterapia e confirmaram que os pacientes que obtiveram resposta completa (15/179) apresentavam elevada contagem de linfócitos periféricos e baixa relação neutrófilos/linfócitos.

Yasuda e cols. (2011) analisando a resposta tumoral à radio-quimioterapia por enema baritado, observaram também associação entre esta e a percentagem de linfócitos em leucócitos. Carruthers e cols. (2012) relacionaram os resultados obtidos no tratamento do câncer do reto em 115 pacientes submetidos a neo-adjuvância com radio-quimioterapia com a relação neutrófilos/linfócitos (RNL) obtidos em seu sangue periférico e observaram que uma $RNL > 5$ estava associada a menor sobrevida geral, menor tempo para recorrência local, menor intervalo livre de doença e apresentaram sobrevida mediana de 18,8 meses quando comparada à sobrevida mediana de 54,4 meses dos pacientes com $RNL < 5$ ($p<0,001$).

Em um interessante desdobramento destes achados acima referidos, Ishiara e cols. (2012) realizaram um estudo no qual buscavam correlacionar a resposta tumoral à neo-adjuvância no câncer retal com o índice apoptótico obtido na irradiação *in vitro* de linfócitos obtidos do sangue periférico dos pacientes. Obtiveram como resultado uma significativa correlação entre a apoptose dos linfócitos e a regressão histológica, concluindo que a radio sensibilidade tumoral pode ser estimada pelo índice apoptótico dos linfócitos *in vitro*.

3.4.4- Relação entre a infiltração linfocitária e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal

Yasuda e cols. (2011) analisaram por imunoistoquímica o grau de infiltração tumoral (TIL) por linfócitos CD4(+) e CD8(+) em biópsias de 48 casos de câncer retal avançado antes da realização de radio-quimioterapia neo-adjuvante e relacionaram com a redução tumoral avaliada por enema baritado e biópsia após a neo-adjuvância. Os números de ambos CD4 (+) e CD8 (+) em biópsias pré radio-quimioterapia foram fortemente correlacionados com a redução do tumor avaliado por enema baritado. Além disso, as densidades de CD4 (+) e CD8 (+) TIL foram significativamente associadas com o grau histológico após a neo-adjuvância. A densidade de CD8 (+) TIL foi ainda um fator prognóstico independente para alcançar resposta completa.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1 - Pacientes

Serão avaliados através de estudo retrospectivo pacientes portadores de neoplasia de reto distal submetidos a radioterapia e quimioterapia neo-adjuvantes para o tratamento do câncer do reto nos Serviços de Radioterapia do Hospital Municipal São José (HMSJ), em Joinville e no Hospital São José (HSJ), em Jaraguá do Sul.

Critérios de inclusão e exclusão:

Os critérios de inclusão para participação do estudo foram:

- Pacientes com diagnóstico de neoplasia do reto submetidos a tratamento neo-adjuvante radioterápico e quimioterápico em aparelho de acelerador linear (LINAC) e quimioterapia com 5-Fu / Lv ou Capecitabina Oral de uso contínuo .

Os critérios de exclusão adotados foram:

- Pacientes com dados incompletos nos prontuários que não permitam avaliação dos desfechos;
- Ausência de hemograma disponível para avaliação
- Pacientes que não terminaram o tratamento radio e quimioterápico;
- Pacientes não operados que perderam o seguimento oncológico .

4.2 – Métodos

Foram revisado prontuários de pacientes portadores de câncer retal (CID C-20) do serviços de Oncologia do HMSJ- Joinville e HSJ – Jaraguá do Sul selecionados a partir de 2009. Dentre esses, foram selecionados os casos submetidos ao tratamento

neo-adjuvante com radio e quimioterapia.

Foram revisados prontuários pelo pesquisador principal, seguido de coleta e tabulação dos dados em software (EXCEL v 10.0).

4.2.1 – Tratamento radioterápico

O tratamento radioterápico foi realizado utilizando a técnica de radioterapia bidimensional, com simulação realizada com radiografias contrastadas do reto e bexiga ou técnica tridimensional com simulação realizada com tomografia computadorizada e contraste endovenoso, sendo os volumes de tratamento o tumor primário e suas drenagens linfáticas loco regionais (peri retais, ilíacos e obturatórios). As doses de tratamento foram de 45 Gy a 50,40 Gy, administradas por 25 a 28 dias de segunda a sexta feira, com reforço de dose quando indicado (doença residual inoperável). Tratamento com quatro campos, paciente em decúbito ventral, com técnica com “belly-board” (para retirada das alças intestinais e redução na toxicidade). Os casos com tratamento tridimensional foram avaliados conforme histograma dose volume(HDV), e os casos de tratamento bidimensional foram avaliado com curvas de tratamento.

4.2.2 – Tratamento quimioterápico

O tratamento quimioterápico padrão consistiu em quimioterapia infusional de 5 Fluoro Uracil (5Fu) e Leucovorin (Lv) nos primeiros cinco dias do tratamento radioterápico e nos cinco dias finais ou, alternativamente, com Capecitabina oral contínua durante o tratamento radioterápico.

4.2.3 – Avaliação da Resposta ao tratamento

A resposta ao tratamento neo-adjuvante foi avaliada por meio de exame clínico e retossigmoidoscopia com biópsia, se lesão residual suspeita no período pós tratamento em 30 dias, 90 dias, 180 dias e semestral.

Nos pacientes submetidos a tratamento cirúrgico pós radioterapia e quimioterapia neo adjuvantes foi avaliado o grau de resposta patológica completa conforme critério do TROG-Dworak/Rodel, onde grau 0 se refere aos pacientes que não obtiveram resposta completa na análise da peça operatória (DWORAK e cols., 1997; RODEL e cols., 2005).

4.2.5- Análise do perfil leucocitário

Foi identificado o número de total de leucócitos e a expressão de linfócitos por meio de revisão de hemograma completo realizado antes do início do tratamento radioterápico e quimioterápico. A relação de leucócitos por linfócitos foi obtida com o cálculo da relação de número de leucócitos totais dividida pelo número de linfócitos totais (relação neutrófilos/linfócitos).

$$\text{N/L} = \frac{\text{Número total de neutrófilos}}{\text{Número total de linfócitos}}$$

4.3 - Procedimento dos dados e análise estatística

Os dados foram armazenados em banco de dados criado no programa Excel da Microsoft Office 2003, e analisados no programa Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 17.0.

4.4 - Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE). A pesquisa teve início após a aprovação do Comitê de Ética .

Foram seguidas as recomendações das “Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo Seres Humanos” (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) (BRASIL, 1996).

5. RESULTADOS:

Conforme as normas do Programa de Pós Graduação em Mestrado em Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE, este capítulo será apresentado na forma de artigo científico que será encaminhado para publicação em periódico.

Análise da relação neutrófilo-linfócito como elemento prognóstico na resposta à terapia neo-adjuvante no câncer do reto

Leonardo Vieira Polli ^{1,2}, Mauro Pinho ^{1,3}

¹*Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE*

²*Serviço de Oncologia/Radioterapia, Hospital Municipal São José, Joinville*

³*Departamento de Cirurgia, Hospital Municipal São José, Joinville*

Palavras chaves: neoplasia de reto , linfócitos ,Radio Quimioterapia

INTRODUÇÃO: A neo-adjuvância radioquimioterápica apresenta papel de grande relevância no tratamento do câncer de reto, representando hoje no Brasil a segunda causa de incidência por câncer em mulheres e a terceira entre os homens. O tratamento consiste na preservação funcional do órgão, este sendo realizado com terapia radio-quimioterápica prévia à cirurgia. A resposta inflamatória tem papel importante nesse tratamento. **OBJETIVO:** O objetivo desse trabalho foi correlacionar o número de linfócitos periféricos com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante, correlacionar a relação neutrófilos/linfócitos em sangue periférico com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante. **MÉTODOS:** Revisão de prontuários dos pacientes portadores de câncer retal dos serviços de Oncologia do Hospital Municipal São José e Hospital São José, desde 2009, selecionados os casos submetidos ao tratamento neo-adjuvante com radio-quimioterapia. **RESULTADOS:** Dentre um total de 96 pacientes portadores de câncer retal submetidos ao tratamento neo-adjuvante com radioterapia e quimioterapia foram elegíveis para este estudo 35 pacientes, nos quais observou-se a resposta completa tumoral em 11 casos (31%), sendo que destes, nove foram submetidos ao tratamento cirúrgico. Na comparação dos parâmetros leucocitários entre os pacientes com resposta completa (RC) e resposta incompleta (RI) foram observados os seguintes valores: número total de leucócitos (média) RC 7390,9 x RI 7220,4 ($p=0,8$); linfócitos totais RC 2103 x RI 1960,9 ($p=0,4$); relação neutrófilo/linfócito RC 3,55 x RI 3,79 ($p=0,5$). A dose de tratamento radioterápico média foi de 49.1Gy, sendo RC 47,3 x RI 50,0 ($p=0,06$). **Conclusão:** Não foi possível demonstrar no presente estudo uma relação significativa entre a resposta completa tumoral à terapia neo-adjuvante nos parâmetros analisados do perfil leucocitário, incluindo o número total prévio de leucócitos, os número absoluto e relativo de linfócitos e a relação neutrófilos/linfócitos.

Endereço para correspondência: Universidade da Região de Joinville – Cx. Postal 246, 89201-972 Joinville, SC, Brasil. +55-47-34619197; Fax +554734338580 e-mail: Leonardo.Polli@univille.br

INTRODUÇÃO

Os bons resultados obtidos com a associação da quimioterapia à radioterapia levaram à adoção da terapia neo-adjuvante no tratamento do câncer de reto com o objetivo de promover redução do tamanho do tumor, possibilitando melhores condições de ressecabilidade e de preservação esfinteriana, levando alguns autores a sugerir um tratamento não operatório em casos de resposta completa à terapia neo-adjuvante^(11,12). Não foi possível ainda identificar fatores prognósticos capazes de contribuir para prever com elevados índices de acerto a ocorrência de regressão tumoral em resposta à terapia neo-adjuvante.

Por outro lado, diversos estudos têm sugerido que a resposta imunológica pelo hospedeiro desempenha papel bastante relevante nessa resposta^(2,5). Vários aspectos da imunologia têm sido tema de estudos, sendo considerados os fatores relacionados ao tumor, ao hospedeiro e à sua interação. Dentre esses, resultados mais consistentes têm sido obtidos na avaliação da resposta linfocitária local e sistêmica, caracterizada pela infiltração de linfócitos dentro do tecido tumoral e pela maior presença de linfócitos circulantes no sangue periférico^(7,9). O valor prognóstico dessa maior expressão sistêmica de linfócitos têm sido demonstrado por estudos que sugerem melhor resposta tumoral à neo-adjuvância em pacientes que apresentem maior número de linfócitos proporcionalmente a todos os neutrófilos, sendo essa relação sintetizada através da equação neutrófilos/linfócitos⁽¹⁾

Assim sendo, o objetivo do presente estudo será analisar o valor prognóstico do perfil leucocitário no sangue periférico com a resposta tumoral à terapia neo-adjuvante, observada em um grupo de pacientes portadores de câncer retal.

MÉTODOS

Pacientes

Foram revisados prontuários de 96 pacientes portadores de câncer retal atendidos nos Serviços de Radioterapia do Hospital Municipal São José (HMSJ), em Joinville e no Hospital São José (HSJ), em Jaraguá do Sul, os quais foram submetidos ao tratamento neo-adjuvante com radioterapia e quimioterapia.

Dentre esses, foram excluídos pacientes com dados incompletos nos prontuários que não permitam avaliação dos respectivos desfechos, aqueles sem hemograma disponível para avaliação, pacientes que não terminaram o tratamento radio quimioterápico ou que perderam o seguimento oncológico .

Foram então avaliados 35 pacientes, sendo 14 do sexo masculino, apresentando média de idade de 55 anos.

A terapia neo-adjuvante foi indicada em pacientes portadores de adenocarcinoma do reto situados nos terços médio e inferior, cujo estadiamento sugeriu invasão parietal com estadiamento T3 ou T4, ou pela presença de possível linfadenopatia perirretal. Todos os pacientes foram submetidos a exame proctológico, avaliação e biópsia endoscópica por colonoscopia ou retossigmoidoscopia e exame de imagem (tomografia computadorizada ou ressonância magnética), além de radiografia do tórax para excluir lesões metastáticas.

Técnica de neo-adjuvância

Todos os pacientes foram submetidos a tratamento radioterápico pelas técnicas bidimensional, com simulação realizada com radiografias contrastadas do reto e bexiga, ou tridimensional, com simulação realizada com tomografia computadorizada e contraste endovenoso. Os volumes de tratamento foram o tumor primário e suas drenagens linfáticas loco regionais (perirretais, ilíacas e obturatórias) sobre os quais utilizou-se dose de tratamento de 45 Gy a 50.40Gy, administrados em 25 a 28 dias, de segunda a sexta feira. Foi realizado tratamento com quatro campos, sendo o paciente colocado em decúbito ventral com técnica com “belly-board” para retirada das alças intestinais e redução na toxicidade. Os casos com tratamento tridimensional foram avaliados conforme histograma dose volume, e os casos de tratamento bidimensional foram avaliados por curvas de tratamento.

O tratamento quimioterápico consistiu de quimioterapia infusional incluindo o 5-Fluoro-Uracil (5-FU) e Leucovorin (Lv) nos primeiros e últimos cinco dias do tratamento radioterápico ou, alternativamente, pela ingestão oral de capecitabina, de forma contínua, ao longo de todo o tratamento radioterápico.

A conduta terapêutica quanto à realização ou não de tratamento cirúrgico foi definida pelos cirurgiões responsáveis por cada caso.

Pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico tiveram a resposta tumoral definida pela análise anatomopatológica do espécime cirúrgico, sendo essa classificada como completa ou incompleta.

Análise do perfil leucocitário

Foi identificado o número de total de leucócitos e a expressão de linfócitos por meio de revisão do hemograma completo realizado antes do início do tratamento radioterápico e quimioterápico. A relação entre neutrófilos divididos por linfócitos foi obtida pelo cálculo da relação do número de neutrófilos totais dividida pelo número de linfócitos totais (relação neutrófilos/linfócitos).

Procedimento dos dados e análise estatística

Os dados foram armazenados em banco de dados criado no programa Excel da Microsoft Office 2003, e analisados no programa Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 17.0.

Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE). A pesquisa teve início após a aprovação do Comitê de Ética.

RESULTADOS

Dos 35 pacientes analisados, foram observadas respostas completas clínicas ou patológicas em 11 casos (31,4%). Em dois pacientes, optou-se pela observação com revisões freqüentes (resposta clínica), enquanto que em nove casos foi realizado o tratamento cirúrgico (resposta patológica).

Pacientes com resposta completa não operados

Os dois pacientes não submetidos ao tratamento cirúrgico devido à observação de uma resposta tumoral completa pela da avaliação por meio do toque retal e retossigmoidoscopia foram seguidos por um período mediano de 24 meses.

A média de idade nesse grupo foi de 82,5 anos e um pacientes era do sexo masculino.

Não houve sinais de recidiva tumoral em qualquer um destes pacientes no período observado.

Pacientes operados

Dos 32 pacientes submetidos a ressecção cirúrgica após a neoadjuvância, observou-se resposta completa patológica em nove (28%). A média de idade desse grupo foi de 51,9 anos, sendo de 48,8 anos entre aqueles que tiveram resposta completa e 55 em caso de persistência tumoral.

Pacientes não operados

Um paciente apresentou doença e não pôde ser operado por condições clínicas. Esse paciente foi considerado como não respondedor e dados incluídos na análise .

Análise do perfil leucocitário

Considerando-se o número total de pacientes que apresentaram respostas completa ou incompleta à neo-adjuvância, observamos os perfis leucocitários respectivos a cada grupo da seguinte forma:

Número total de leucócitos

Conforme demonstrado no quadro 1, não foi observada diferença estatística em relação ao número total de leucócitos no hemograma prévio à neo-adjuvância entre os pacientes com ou sem resposta completa.

Resposta completa	N	Média	DP	p
Ausente	24	7220	1999,2	0,838
Presente	11	7390	2788,5	

Quadro 1. Número total de leucócitos

Expressão de linfócitos

Conforme demonstrado no quadro 2, não foi observada diferença estatística em relação ao número absoluto ou relativo de linfócitos no hemograma prévio à neo-adjuvância entre os pacientes com ou sem resposta completa.

	Resposta Completa	N	Média	DP	p
Linfócitos totais					
	Ausente	24	1960	608,3	0,474
	Presente	11	2103	338,9	
% Linfócitos					
	Ausente	24	27	6,0	0,193
	Presente	11	31	9,8	

Quadro 2. Expressão de linfócitos

Relação neutrófilo/linfócito (N/L)

Conforme demonstrado no quadro 3, não foi observada diferença estatística na relação à relação neutrófilos/linfócitos no hemograma prévio à neo-adjuvância entre os pacientes com ou sem resposta completa.

	Resposta completa	N	Média	DP	p
Relação N/L					
	Ausente	24	3,7	0,88	0,502
	Presente	11	3,5	1,21	

Quadro 3. Relação neutrófilo/linfócitos

Dose de tratamento

Embora a dose de tratamento radioterápico administrado não estivesse entre as variáveis inicialmente definidas para análise neste estudo, a diferença de médias observada retrospectivamente entre os grupos de resposta completa e incompleta (50 x 47 Gy) nos levou a avaliar seu possível valor prognóstico. Como demonstrado no quadro 4, foi observada uma diferença limítrofe para a significância ($p=0.06$).

Resposta completa	N	Média	DP	p
Ausente	24	50	4,4	0,065
Presente	11	47	2,6	

Quadro 4. Dose de radioterapia

Paciente excluídos

Apos selecionados 96 pacientes, 35 destes do centro de Joinville e 61 destes do centro de Jaraguá do Sul, foram excluídos 61 casos que não preencheram os critérios para seleção.

DISCUSSÃO

A resposta antiinflamatória tumoral apresenta importante papel na resposta na evolução de tumores, entre eles as neoplasias colorretais. Vários trabalhos relatam que a infiltração tumoral por linfócitos T CD8+, quando ativados, apresenta valor prognóstico e boa correlação com o estadiamento da doença, sugerindo uma possível ação que induza apoptose de células tumorais. Essa ativação linfocitária pode ser demonstrada pela expressão local de elementos como granzimas B, CD69 + ou CD107+. Conforme Koch et. al, o número de linfócitos CD4T foi observado aumentado na mucosa de células tumorais em comparação com a mucosa de tecidos normais, sugerindo resposta imune aumentada nos tumores colorretais. O valor prognóstico também foi observado por Naito e cols., analisando 131 casos de câncer colorretal e correlacionando a localização das células CD8 +, as quais quando presentes próximo ao ninho de células cancerígenas, apresentaram melhor sobrevida. ^(2,3,4).

Além da resposta tumoral, existe forte evidência da relação entre a resposta sistêmica e o prognóstico. Diversos autores têm demonstrado que o número de linfócitos circulantes, em especial pela análise da relação neutrófilos/linfócitos (N/L), apresenta valor prognóstico no câncer colorretal. Liu et al. observaram uma relação significativa entre o valor de N/L e a sobrevida de pacientes submetidos ao tratamento de câncer retal. Hung et al. analisaram 1.040 pacientes portadores de câncer de cólon estágio II, dos quais 785 (75,5%) tiveram uma relação N/L normal e 255 (24,5%) apresentavam uma relação N/L elevada. Pacientes com N/L elevada tiveram menores índices de sobrevida global e intervalo livre de doença quando comparados a pacientes com N/L normal. ^(5,6)

Chiang et al. (2012) avaliaram 3857 pacientes portadores de câncer colorretal estágio I, II e III e observaram que a relação N/L acima de 3 foi associada a maior sensibilidade e especificidade e menor sobrevida em cinco anos, tanto no câncer do cólon (66,3% x 78,9%; $p < 0,001$) como no câncer retal (60,5% x 66,2%), quando comparada a pacientes com relação N/L abaixo deste valor. Além disto, pacientes com N/L acima desse nível apresentaram ainda tumores maiores (5 cm) e doenças localmente mais avançadas ⁽⁷⁾.

Chua et al analisaram 349 pacientes em duas coortes independentes de pacientes recebendo primeira linha de quimioterapia paliativa e observaram a relação N/L como fator prognóstico positivo ⁽⁸⁾.

Relação entre a respostas inflamatória sistêmica e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal

Uma vez detectado o valor prognóstico da resposta inflamatória sistêmica, alguns autores têm buscado demonstrar sua possível influência nos resultados da radio-quimioterapia realizada nos tumores do reto. Num estudo que analisou 73 pacientes operados para o tratamento de câncer do reto após radio-quimioterapia neo-adjuvante, obteve se resposta tumoral completa em 10 pacientes (14%), nos quais observou se contagem periférica de linfócitos significativamente maior ($p=0,02$) e relação neutrófilos/linfócitos com tendência a ser menor ($p=0,099$). A partir desses achados, os autores sugeriram que a completa erradicação das células tumorais seja dependente de reação imune mediada pelos linfócitos e que a manutenção do numero de linfócitos circulantes seja importante nessa resposta à neo-adjuvância. Os mesmos autores, em trabalho subsequente, analisaram amostras de sangue colhidas antes e depois da radioterapia e confirmaram que os pacientes que obtiveram resposta completa com desaparecimento das células tumorais (15/179) apresentavam elevada contagem de linfócitos periféricos e baixa relação neutrófilos/linfócitos ⁽⁸⁾.

Yasuda e cols analisaram a resposta tumoral à radio-quimioterapia por meio de enema baritado, observaram também associação entre esta e a percentagem de linfócitos em leucócitos. Caruthers e cols. relacionaram os resultados obtidos no tratamento do câncer de reto em 115 pacientes submetidos a neo-adjuvância com radio-quimioterapia com a relação neutrófilos/linfócitos (RNL) obtidos em seu sangue periférico e observaram que a $RNL > 5$ estava associada a menor sobrevida geral, menor tempo para recorrência local, menor intervalo livre de doença e apresentaram sobrevida mediana de 18,8 meses quando comparada à sobrevida mediana de 54,4 meses dos pacientes com $RNL < 5$ ($p<0,001$). ^(1,10)

Em um interessante desdobramento dos achados, o estudo no qual buscou correlacionar a resposta tumoral à neo-adjuvância no câncer retal com o índice

apoptótico obtido na irradiação *in vitro* de linfócitos obtidos do sangue periférico dos pacientes. Obtiveram como resultado uma significativa correlação entre a apoptose dos linfócitos e a regressão histológica, concluindo que a radio sensibilidade tumoral pode ser estimada pelo índice apoptótico dos linfócitos *in vitro*⁽¹⁰⁾.

Relação entre a infiltração linfocitária e a resposta à terapia neo-adjuvante no câncer retal

Yasuda et al (2011) analisaram por meio de imunoistoquímica o grau de infiltração tumoral (TIL) por linfócitos CD4(+) e CD8(+) em biópsias de 48 casos de câncer retal avançado antes da realização de radio-quimioterapia neo-adjuvante e relacionaram com a redução tumoral avaliada por enema baritado e biópsia após a neo-adjuvância. Os números de ambos CD4 (+) e CD8 (+) em amostras de pré-CRT de biópsia foram fortemente correlacionados com relação de redução do tumor avaliado por enema baritado. Além disso, as densidades de CD4 (+) e CD8 (+) TIL foram significativamente associadas com o grau histológico após a neo-adjuvância. A densidade de CD8 (+) TIL foi ainda um fator prognóstico independente para alcançar resposta completa.⁽¹⁾

No presente estudo, foi observado ocorrência de resposta completa tumoral após a terapia neo-adjuvante para o tratamento do câncer de reto em 31,4% dos casos, compatível com aqueles observados na literatura. Entretanto, não foi possível observar relação entre essa e os elementos analisados no perfil leucocitário incluindo o número totais de leucócitos, linfócitos e a relação neutrófilo/linfócito. Acreditamos que o reduzido número de casos incluídos no estudo possam ter contribuído para esse achado, em decorrência de fatores inerentes ao estudo retrospectivo.

Por outro lado, uma tendência à correlação significativa entre a resposta e a dose radioterápica administrada nos chamou a atenção para a necessidade de maior controle de técnicas no sentido de reduzir a variabilidade entre os tratamentos, estabelecendo protocolos mais rígidos para a otimização dos resultados na neo-adjuvância. Esperava-se uma relação neutrófilo linfócito no pacientes respondedores acima de 3 e com diferença estatisticamente significativa em relação aos pacientes não respondedores.

CONCLUSÕES

Não foi possível demonstrar, no presente estudo, relação significativa entre a resposta completa tumoral à terapia neo-adjuvante nos parâmetros analisados do perfil leucocitário, incluindo o número total prévio de leucócitos, os número absoluto e relativo de linfócitos e a relação neutrófilos/linfócitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. YASUDA K. et al. **Density of CD4(+) and CD8(+) T lymphocytes in biopsy samples can be a predictor of pathological response to chemoradiotherapy(CPT) for rectal cancer** . Radiation Oncology .2011;6:49
2. Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H, *et al.*: **CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer**. *Cancer Res* 1998, **58**:3491-4
3. Koch M, Beckhove P, Op den Winkel J, Autenrieth D, Wagner P, Nummer D, *et al.*: **Tumor infiltrating T lymphocytes in colorectal cancer: Tumor-selective activation and cytotoxic activity in situ**. *Ann Surg* 2006, **244**:986-992.
4. Nosho K, Baba Y, Tanaka N, Shima K, Hayashi M, Meyerhardt JA, Giovannucci E, Dranoff G, Fuchs CS, Ogino S: **Tumour-infiltrating T-cell subsets, molecular changes in colorectal cancer and prognosis: cohort study and literature review**. *J Pathol* 2010, **222**:350–366.
5. LIU H. et al . **The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in rectal carcinoma** .*Journal Gastrointestinal Câncer*. June 2010. **41**:2 :116-120.
6. HUNG HY. et al . **Effect of preoperative neutrophil – lymphocyte ratio on the surgical outcomes of stage II colon câncer patients who do not receive adjuvant chemotherapy** . *International Journal Colorectal Disease* ; v.28 n.8 p.1059-1065 . April 2011.
7. CHIANG SF. et al . **Can neutrophil –to-lymphocyte ratio predict the survival of colorectal cancer patients Who have received curative surgery electively?** *International Journal of Colorectal disease*, 2012 Mar 31.
8. CHUA W. et al , **Neutrophil/lymphocyte ratio predicts chemotherapy outcomes in patients with advanced colorectal cancer** . *British Journal of Cancer*, 2011;104: 1288-95.
9. KITAYAMA J. et al . **Circulating lymphocyte number has a positive association with tumor response in neoadjuvant chemoradiotherapy for advanced rectal cancer** . *Radiation Oncology* 2010;5: 47.

10. CARRUTHERS R. et al . **Systemic Inflammatory Response is a Predictor of Outcome in Patients Undergoing Pre-operative Chemoradiation for Locally Advanced Rectal Cancer** . Colorectal Disease ; 2012 Jun 25.
11. HABR-GAMA A, et al. **Low Rectal Cancer: Impact of Radiation and Chemotherapy on Surgical Treatment.** Dis Colon Rectum, 1998 ;41:1087
12. HABR-GAMA A, et al. **Complete Clinical Response after neoadjuvant chemoradiation for distal rectal cancer** . Sug Oncol Clin North Am,2010:19:829

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER K, et al. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. **Cancer** v 98, n7, p1521-30, 2003.

BOSSET, JF et al. EORTC Radiotherapy Group Trial 2292. **N Engl J Med** v355, p 1114-23, 2006.

BUJIKO, K. et al. Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer **British Journal of Surgery** v 93, p 1215-23, 2006.

CARRUTHERS R. et al . Systemic Inflammatory Response is a Predictor of Outcome in Patients Undergoing Pre-operative Chemoradiation for Locally Advanced Rectal Cancer . **Colorectal Disease** ; 2012 Jun 25.

CHIANG SF. et al . Can neutrophil –to-lymphocyte ratio predict the survival of colorectal cancer patients Who have received curative surgery electively? **International Journal of Colorectal disease**, 2012 Mar 31.

CHUA W. et al , Neutrophil/lymphocyte ratio predicts chemotherapy outcomes in patients with advanced colorectal cancer . **British Journal of Cancer**, v104, p1288-95, 2011.

DAHLIN AM. et al . Colorectal cancer prognosis depends on T-cell infiltration and molecular characteristics of the tumor. **Modern Pathology** ; v.24 n.5 p.671-682 , January 2011.

DAHLIN AM. et al . Colorectal cancer prognosis depends on T-cell infiltration and molecular characteristics of the tumor . **Modern Pathology** ; v.24 n.5 p.671-682 , January 2011.

DESCHOLMEESTER V. et al . Tumor Infiltrating lymphocytes : an intriguing player in the survival of colorectal cancer patients ; **BMC Immunology**, v11 n 19 2010.

DUKES, CE. The classification of cancer of the rectum. **J Pathol Bact**, v35, p323-32, 1932.

DWORAK O, KEILHOLZ L, HOFFMANN A. Pathological features of rectal cancer after preoperative radiochemotherapy. **Int J Colorectal Dis** v12, n1,p19-23,1997.

FOLKESSON et al, Swedish Rectal Cancer Trial: Long Lasting Benefits From Radiotherapy on Survival and Local Recurrence Rate, **J Clin Oncol**, v23, p 5644-50, 2005.

GERARD, JP et al. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers: results of FFCD 9203. **J Clin Oncol** v 24, p 4620-25, 2006.

HABR-GAMA A, et al. Low Rectal Cancer: Impact of Radiation and Chemotherapy on Surgical Treatment. **Dis Colon Rectum**, v41, p1087-96, 1998.

HABR-GAMA A, et al. Complete Clinical Response after neoadjuvant chemoradiation for distal

rectal cancer . **Sug Oncol Clin North Am** V19 p829-45,2010

HEALD RJ, HUSBAND EM, RYALL RD. The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence? **Br J Surg**. v 69(10), p613-6, 1982.

HUNG HY. et al . Effect of preoperative neutrophil – lymphocyte ratio on the surgical outcomes of stage II colon câncer patients who do not receive adjuvant chemotherapy . **International Journal Colorectal Disease** ; v.28 n.8 p.1059-1065 . April 2011.

INCA- **Incidência de Câncer no Brasil** - Estimativa 2014, Rio de Janeiro (RJ), INCA, 2014.

ISHIHARA.et al Radiation-induced apoptosis of peripheral blood lymphocytes is correlated with histological regression of rectal cancer in response to preoperative chemoradiotherapy. **Annals of Surgical Oncology** ; v.19 n.4 p1192-82012 . April 2012.

ISHIZUKA M. et al . Insufficient lymph node dissection is an independent risk factor for postoperative cancer death in patients undergoing surgery for stage II colorectal cancer . **European Surgical Search** ; v.46 n.2 p.57-64. 2011.

KITAYAMA J. et al . Circulating lymphocyte is an important determinant of the effectiveness of preoperative radiotherapy in advanced rectal cancer . **BMC Cancer** v11, p64, 2011.

KITAYAMA J. et al . Circulating lymphocyte number has a positive association with tumor response in neoadjuvant chemoradiotherapy for advanced rectal cancer . **Radiation Oncology** v5, p47, 2010.

KOCH, M. et al .Tumor Infiltrating T Lymphocytes in Colorectal Câncer :Tumor Selective Activation and Cytotoxic Activity In Situ . **Annals of Surgery**; v 244 n.6 p.986-993, 2006.

LIU H. et al . The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in rectal carcinoma .**Journal Gastrointestinal Câncer** v.41 n.2 p.116-120 . June 2010.

MANDARD AM Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. **Clinic pathologic correlations**. v73, n11, p 2680-6, 1994.

MCCULLEN TP. Et al . Survival in rectal cancer is predicted by T cell infiltration of tumor – associated lymphoid nodules . **Clinical Experimental Immunology** ; v.161 n.1 p.81-86 . July 2010.

MILES, W.E. Rectal Surgery. London: Cassel and Company, Ltda, 2ª ed. 1944.

NAITO Y. et al . CD8+ Cells Infiltrate within Cancer Cells Nest as a Prognostic Factor in Human Colorectal Cancer . **Cancer Research** ; v.58 p.3491-3494 , August 1998.

NOSHO K. et al . Tumour – infiltrating T cell subsets , molecular changes in colorectal cancer , and prognosis : cohort study and literature review . **Journal Pathology** ; v.222 n.4 p.350-366 , December 2010.

PAHLMAN L et al. Improved survival with preoperative radiotherapy in resect able rectal cancer: Swedish Rectal Cancer Trial. **N Engl J Med**, v 336, p980-87, 1997.

PEAKMAN, M; VERGANI, D. **Imunologia: básica e clínica**. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara

Koogan, 1999, 327p.

PEEPLES, C. et al . Predictive factors affecting survival in stage II colorectal cancer: is lymph node harvesting relevant? **Disease of the Colon and Rectum** v.53 n.11 p1517-1523. November 2010.

RÖDEL C, et al. Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. **J Clin Oncol** v23, n34, p8688-96, 2005.

SATO H. et al . High-risk stage II colon cancer after curative resection. **Journal of Surgical Oncology** ; v.104 n.1 p.45-52. Jul 2011.

SAUER R, Becker H, HOHENBERGER W, RÖDEL C, WITTEKIND C, FIETKAU R, MARTUS P, TSCHMELITSCH J, HAGER E, HESS CF, KARSTENS JH, LIERSCH T, SCHMIDBERGER H, RAAB R; German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. **The New England Journal of Medicine**. Estados Unidos, v 351, p1731-40,2004.

SEBAG-MONTEFIORE et al. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial. **Lancet**, v373, p 811 20, 2009.

SHANMUGAM, C et al . Evaluation of lymph node numbers for adequate staging of Stage II and III colon cancer. **Journal of Hematology & Oncology** v4, p 25 , 2011.

SHAO, XL et al . Impact of number of retrieved lymph nodes and lymph node ratio on the prognosis in patients with stage II and III colorectal cancer. Chinese **Journal of gastrointestinal surgery** ; v.14 n.4 p.249-253. April 2011.

SIMMANG, CL et al. Practice parameters for detection of colorectal neoplasms. The Standards Committee, the American Society of Colon and Rectal Surgeons. **Dis Colon Rectum**,v 42, p1123-9, 1999.

STOCCHI L. et al . Individual surgeon, pathologist, and other factors affecting lymph node harvest in stage II colon carcinoma. is a minimum of 12 examined lymph nodes sufficient? **Annals of Surgical Oncology** ; v.18 n.2 p.405-412. February 2011 .

WEXNER SD, ROTHOLTZ N. Surgeon influenced variables in resectional rectal cancer surgery. **Dis Colon Rectum** v43, p1606-27, 2000.

YASUDA K. et al . Density of CD4(+) and CD8(+) T lymphocytes in biopsy samples can be a predictor of pathological response to chemoradiotherapy(CPT) for rectal cancer . **Radiation Oncology**. v6, p49,2011.

7 ANEXOS

ANEXO - Tabela de Graduação a Resposta Patológica

Dwoark et. aL.	Rodel et. al.
0. Sem Regressão	0.Sem regressão
1. Predominância de tumor Com fibrose e/ou vasculopatia	1.Regressão menor que 25%
2.Predominância de fibrose com tumores esparsos (reconhecidos histologicamente)	2.Regressão de 25-50% da lesão
3 .Células tumorais esparsas em meio a fibrose com ou sem mucina	3.Regressão maior que 50% da
4.Sem células tumorais detectáveis	4.Regressão completa