

**Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina**

ALEXANDRE GHELLER

**ESTUDO DO PADRÃO DE REGRESSÃO TUMORAL E DA
DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS RESIDUAIS NA PAREDE
RETAL E NO MESORRETO EM INDIVÍDUOS COM CÂNCER DO
RETO TRATADOS COM RADIOQUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE
SEGUIDA DE EXCISÃO TOTAL DO MESORRETO**

Brasília

2024

ALEXANDRE GHELLER

**ESTUDO DO PADRÃO DE REGRESSÃO TUMORAL E DA
DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS RESIDUAIS NA PAREDE
RETAL E NO MESORRETO EM INDIVÍDUOS COM CÂNCER DO
RETO TRATADOS COM RADIOQUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE
SEGUIDA DE EXCIÇÃO TOTAL DO MESORRETO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor

Área de Concentração: Medicina

Orientador: Prof. Dr. João Batista de Sousa

Brasília

2024

Ficha catalográfica a ser elaborada pela biblioteca

ALEXANDRE GHELLER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília com requisito parcial à obtenção do grau de Doutor.

Aprovado em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Batista de Sousa
Instituição: Faculdade de Medicina – Universidade de Brasília - UnB
Presidente

Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez
Membro
Instituição: Faculdade de Ciências Médicas - Universidade de Campinas - Unicamp

Prof. Dr. Hélio Moreira Júnior
Membro
Instituição: Faculdade de Medicina – UFG – Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira
Membro
Instituição: Faculdade de Medicina – UnB - Universidade de Brasília

Prof. Dr. João Nunes de Mattos Neto
Suplente
Instituição: Cetro – Centro de Câncer de Brasília

Aos meus pais, Vera e Fernando, pelo amor, incentivo e dedicação sem limites.

À Danielle, minha esposa, pelo respeito e cumplicidade. O destino nos colocou juntos e o amor assim nos manterá.

Aos meus filhos, Guilherme, Júlia e Beatriz, razões da minha vida, que este projeto sirva de inspiração e modelo para sempre buscarem melhorar.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento especial ao Prof. Dr. João Batista de Sousa, meu orientador, meu professor de graduação, que através de seu exemplo de competência, correção e generosidade, sempre me inspirou.

Ao Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira, com o qual iniciei o desafio da pós-graduação, por toda sua disponibilidade e gentileza comigo.

À equipe de Coloproctologia do Hospital de Base do Distrito Federal pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Às médicas patologistas Dunya Bachour Basílio, Sussen Araújo Tuma e Marília Cristina Rosa da Costa pela ajuda e incentivo no desenvolvimento desta tese.

Ao médico Guilherme Inácio Neiva pela parceria em tantas operações realizadas e apoio irrestrito durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Freitas da Silva, Doutor em Ciências da Saúde e Professor do Departamento de Estatística do Instituto de Ciências Exatas da Universidade de Brasília pela dedicação na realização da análise estatística deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade de Brasília (UnB) pela oportunidade e o privilégio de fazer parte da pós-graduação, transformando minha formação acadêmica.

À Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, onde tudo começou.

*"A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar
novas paisagens, mas em ter novos olhos."*

Marcel Proust

RESUMO

Introdução: o conhecimento do padrão de regressão e da distribuição das células tumorais residuais pode ajudar na seleção de candidatos às estratégias de preservação do reto bem como às operações radicais. **Objetivo:** estudar e identificar fatores relacionados ao padrão de regressão tumoral e de distribuição das células tumorais residuais. **Materiais e Métodos:** estudo prospectivo composto por indivíduos com adenocarcinoma do terço médio e inferior do reto (≤ 10 cm), T3 ou T4 com N0 ou N+, tratados com radioterapia (5X5 Gy) seguida de CAPOX-6 ciclos. O padrão de regressão tumoral foi classificado como sólido ou fragmentado. Extensão intramural microscópica foi medida. Utilizado modelo de distribuição das células tumorais residuais, ainda não aplicado ao câncer do reto, definido assim: tipo I (luminal), tipo II (frente invasiva), tipo III (concêntrico) e tipo IV (aleatório). **Resultados:** estudados 40 pacientes com a idade mediana de 66 anos; 23 (57,5%) eram do sexo masculino. O padrão de regressão fragmentado foi identificado em 18 (45,0%) pacientes e o padrão sólido em 22 (55,0%). A presença de extensão intramural microscópica foi identificada em 25 (62,5%) casos, com variação entre 1 mm a 18 mm, mediana de 4 mm. Houve 14 (35,0%) casos de extensão intramural microscópica ≥ 10 mm. Todos os casos de regressão fragmentada, exceto um, apresentaram extensão intramural microscópica. Em 4 casos de regressão fragmentada a extensão intramural microscópica variou entre 4 e 8 mm, os demais casos apresentaram extensão intramural microscópica ≥ 10 mm. Todos os casos de extensão intramural microscópica ≥ 10 mm apresentaram o padrão de regressão fragmentado. Houve 11 (31,5%) casos com classificação tipo I, 14 (40%) casos tipo II, 10 (28,5%) casos tipo III e nenhum caso tipo IV. As variáveis CEA > 5 ng/ml, *Downsizing* $< 50\%$, lesão residual em mucosa > 20 mm, e comprometimento linfonodal anatomopatológico apresentaram uma associação significativa com a ocorrência de fragmentação ($p < 0,05$). As variáveis entrega completa de 6 ciclos de CAPOX e presença de extensão tumoral intramural microscópica apresentaram uma associação significativa com padrão do tipo I ($p < 0,05$). **Conclusão:** a ocorrência do padrão de regressão fragmentado é comum bem como a presença de extensão intramural microscópica. Foi possível a identificação de fatores clínicos, radiológicos e patológicos associados ao tipo de regressão tumoral e ao modelo de distribuição tipo I.

Palavras-Chave. Câncer; Reto; Padrão; Regressão; Distribuição

ABSTRACT

Background: Knowledge of the pattern of regression and distribution of residual tumor cells may assist in the selection of candidates for rectum-sparing strategies, as well as for radical surgery. **Objective:** To investigate and identify factors associated with the pattern of tumor regression and distribution of residual tumor cells. **Methods:** We conducted a prospective study of patients with T3/T4 N0/N+ adenocarcinoma of the middle and lower third of the rectum (≤ 10 cm) treated with radiotherapy (5×5 Gy) followed by 6 cycles of CAPOX chemotherapy. The pattern of tumor regression was classified as fragmented or solid. Microscopic intramural spread was measured. We used a model of distribution of residual tumor cells not yet applied to rectal cancer, defined as follows: type I (luminal), type II (invasive front), type III (concentric), and type IV (random). **Results:** Forty patients were included with a median age of 66 years; 23 (57.5%) were men. A fragmented pattern was identified in 18 patients (45.0%), and a solid pattern in 22 (55.0%). Microscopic intramural spread was identified in 25 patients (62.5%), extending from 1 to 18 mm (median, 4 mm). There were 14 cases (35.0%) of microscopic intramural spread ≥ 10 mm. All cases of fragmented regression pattern, except one, showed microscopic intramural spread. Within the fragmented pattern, microscopic intramural spread was 4–8 mm in 4 cases and ≥ 10 mm in the remaining cases. All cases of microscopic intramural spread ≥ 10 mm were within the fragmented pattern. Regarding the distribution pattern of residual tumor cells, 11 cases (31.5%) were classified as type I, 14 (40.0%) as type II, 10 (28.5%) as type III, and none as type IV. Carcinoembryonic antigen levels > 5 ng/mL, downsizing $< 50\%$, residual mucosal abnormality > 20 mm, and anatomopathologic lymph node involvement were significantly associated with the occurrence of fragmentation ($P < 0.05$). Having received all 6 cycles of CAPOX chemotherapy and absence of microscopic intramural spread were significantly associated with the type I distribution pattern ($P < 0.05$). **Conclusion:** The occurrence of a fragmented regression pattern is common, as is the presence of microscopic intramural spread. We could identify radiologic and clinicopathologic factors associated with a fragmented pattern of tumor regression and a type I (luminal) distribution pattern.

Rectum.; Pattern.; Regression.; Distribution

Keywords. Rectum; Pattern; Regression; Distribution

Lista de figuras

Figura 1 – Análise macroscópica de peça operatória – retossigmoide	40
Figura 2 – Pintura de peça operatória – retossigmoide	40
Figura 3 – Segmento retal aberto para identificação de morfologia e localização da lesão residual.....	41
Figura 4 – Peça operatória aberta para medida da lesão residual.....	42
Figura 5 – Limites macroscópicos do tumor ou da lesão residual.....	43
Figura 6 – Esquematização para os cortes da área tumoral e peritumoral	44
Figura 7 – Cortes transversais da peça operatória	45
Figura 8 – Cortes finais a serem emblocados	46
Figura 9 – Distribuição linfonodal segundo Classificação Japonesa de Câncer Colorretal – Desenho extraído de OKADA <i>et al.</i> , 2014.	47
Figura 10 – Distribuição linfonodal segundo classificação japonesa, peça operatória (retossigmoide) referente ao paciente 12.....	48
Figura 11 – Tabela criada para verificação da distribuição das células tumorais residuais pelas diferentes camadas retais – paciente 30.....	49
Figura 12 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de linfócitos CD8 +, 400X.....	50
Figura 13 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de linfócitos CD3 +, 400X.....	51
Figura 14 – Ausência de expressão imuno-histoquímica de PD-L1, 400X.	52
Figura 15 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de PD-L1, 400X....	52
Figura 16 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MLH1, 400X.....	53
Figura 17 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MSH2, 400X.....	54

Figura 18 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MSH6, 400X.....	54
Figura 19 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de PMS2, 400X.....	55
Figura 20 – Corte histológico referente ao paciente 36: padrão de regressão tumoral do tipo sólido com ETIM presente (HE, 40X).....	75
Figura 21 – Corte histológico referente ao paciente 2: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado com ETIM presente (HE, 40X).....	76
Figura 22 – Peça operatória aberta referente ao paciente número 40.....	80
Figura 23 – Corte histológico referente ao paciente 40: padrão de regressão tumoral do tipo sólido (HE, 100X).....	81
Figura 24 – Corte histológico referente ao paciente 40: padrão de distribuição das CTR tipo I (HE, 100X).....	82
Figura 25 – Distribuição das CTR pelas diferentes camadas retais de acordo com estágio T.....	83
Figura 26 – Padrão de distribuição das CTR (%).....	83
Figura 27 – Peça operatória aberta de amputação abdominoperineal referente ao paciente número 31.....	84
Figura 28 – Corte histológico referente ao paciente 31: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado (HE, 100X).....	85
Figura 29 – Corte histológico referente ao paciente 31: padrão de distribuição das CTR tipo III (HE, 100X).....	86
Figura 30 – Peça operatória de exenteração pélvica posterior infraelevadora com sacrectomia referente ao paciente 30.....	88
Figura 31 – Corte histológico referente ao paciente 30: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado (HE, 100X).....	89
Figura 32 – Corte histológico referente ao paciente 30: padrão de distribuição das CTR tipo II (HE, 100X).....	90

Lista de tabelas

Tabela 1 –	Dados demográficos dos 40 participantes , localização tumoral no reto, transponibilidade do tumor ao colonoscópio e presença de estenose .	59
Tabela 2 –	Estadiamento clínico pré-neoadjuvância (AJCC 8th) à RM da amostra estudada, estágio T e N	60
Tabela 3 –	Estadiamento clínico pré-neoadjuvância (AJCC 8th) à RM da amostra estudada: fáscia mesorretal, invasão venosa extramural, cadeia linfonodal pélvica lateral, CEA e maior medida tumoral.	61
Tabela 4 –	Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: estadiamento clínico.....	62
Tabela 5 –	Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: estágio ycT e ycN.....	63
Tabela 6 –	Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: fáscia mesorretal, invasão venosa extramural, cadeia linfonodal pélvica lateral.	64
Tabela 7 –	Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: downstaging, maior medida tumoral, downsizing $\geq 50\%$, TRG.	65
Tabela 8 –	Características da terapia neoadjuvante da amostra estudada: ciclos de quimioterapia, tempo entre radioterapia e operação, tempo entre radioterapia e operação ≤ 30 semanas.	66
Tabela 9 –	Operações e complicações intraoperatórias da amostra estudada	67
Tabela 10 –	Complicações pós-operatórias da amostra estudada.....	67
Tabela 11 –	Dados anatomopatológicos da amostra estudada: estadiamento patológico, estágio T	69
Tabela 12 –	Dados anatomopatológicos da amostra estudada: estágio N, amostragem linfonodal e número de linfonodos > 12	70
Tabela 13 –	Dados anatomopatológicos da amostra estudada: grau de diferenciação, invasão angiolinfática, budding tumoral, margem de ressecção distal e margem de ressecção circunferencial.	71

Tabela 14 – Dados anatomopatológicos da amostra estudada: medida da anormalidade residual de mucosa, anormalidade residual de mucosa ≤ 2 cm.	72
Tabela 15 – Distribuição das expressões imuno-histoquímicas das enzimas de reparo, infiltração de CD3-CD8 e PD-L1.	73
Tabela 16 – Padrão de regressão tumoral e extensão tumoral intramural microscópica	74
Tabela 17 – Relações entre padrão de regressão tumoral e extensão intramural microscópica	74
Tabela 18 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Estenose, Transponibilidade Tumoral ao Colonoscópio e Invasão Venosa Extramural no Estádio Inicial.....	77
Tabela 19 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Invasão Angiolinfática, Depósitos Tumoriais no Mesorreto Anatomopatológico (AP) e Extensão Intramural Microscópica.	77
Tabela 20 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Estadio Patológico T, Estadio Patológico N+ e Downsizing..	78
Tabela 21 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis CEA, Infiltração CD3 CD8, Tamanho do Tumor Reestadio à RM, Tamanho da Lesão Residual em Mucosa.	79

Tabela 22 - Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para padrão tipo 1 (n = 35). Analisadas as variáveis TNT Consolidação Capox 6 ciclos, extensão intramural microscópica, Downsizing, Grau de Diferenciação, TRG à RM, TRG patológico..... 87

Lista de abreviaturas

5-FU	5-Fluoruracila
AJCC	American Joint Committee on Cancer
cCR	resposta clínica completa
CD3	Cluster of Differentiation 3
CD8	Cluster of Differentiation 8
CEA	Antígeno Carcinoembrionário
CTR	Células Tumorais Residuais
ETIM	Extensão Tumoral Intramural Microscópica
ETM	Excisão Total do Mesorreto
EVM	Invasão Venosa Extramural
Fig	Figura
HBDF	Hospital de Base do Distrito Federal
INCA	Instituto nacional do câncer
MLH-1	MutL Homólogo 1
MSH-2	MutS Homólogo 2
MSH-6	MutS Homólogo 6
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
pCR	Resposta patológica completa
PD-1	Programmed Cell Death – 1
PD-L1	Programmed Cell Death Ligand – 1
PMS-2	Segregação Pós-Meiose 2
QT	Quimioterapia
RM	Ressonância Magnética
RP	Razão de Prevalência

RT	Radioterapia
TEM	Microcirurgia Endoscópica Transanal
TIL	Linfócitos Infiltrantes Intratumorais
TMA	Tissue Microarray
TNM	Tumor Node Metastasis
TNT	Terapia Neoadjuvante Total
TRG	Grau de Regressão Tumoral
WW	Watch Wait

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	2
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3	OBJETIVOS	32
3.1	OBJETIVO GERAL	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	MÉTODO	34
4.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS	34
4.2	CASUÍSTICA	34
4.3	ESTADIAMENTO ANTES DA NEOADJUVÂNCIA	35
4.4	REESTADIAMENTO APÓS A NEOADJUVÂNCIA	36
4.5	IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA	36
4.6	DEFINIÇÃO DE RESPOSTA CLÍNICA COMPLETA (CCR)	38
4.7	DEFINIÇÃO DE RESPOSTA PATOLÓGICA COMPLETA (PCR)	38
4.8	RADIOTERAPIA E QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE	39
4.9	TRATAMENTO OPERATÓRIO – EXCISÃO TOTAL DO MESORRETO	39
4.10	ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA	39
4.11	IMUNO-HISTOQUÍMICA	49
4.12	AVALIAÇÃO PARA CD8 E CD3	50
4.13	AVALIAÇÃO PARA PDL-1	51
4.14	AVALIAÇÃO PARA EXPRESSÃO DAS ENZIMAS DE REPARO DE DNA	53
4.15	ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
5	RESULTADOS	58
5.1	CASUÍSTICA	58
5.2	DADOS DEMOGRÁFICOS	58

5.3	AVALIAÇÃO E ESTADIAMENTO ANTES DA NEOADJUVÂNCIA.....	59
5.4	REESTADIAMENTO APÓS NEOADJUVÂNCIA.....	61
5.5	CARACTERÍSTICAS DA TERAPIA NEOADJUVANTE	65
5.6	RESULTADOS OPERATÓRIOS	66
5.7	RESULTADOS ANATOMOPATOLÓGICOS	68
5.8	EXPRESSÕES IMUNOHISTOQUÍMICAS DAS ENZIMAS DE REPARO, PD-L1 E INFILTRAÇÃO DE CD3-CD8	72
5.9	PADRÃO DE REGRESSÃO E EXTENSÃO INTRAMURAL MICROSCÓPICA.....	73
5.10	PADRÃO DE DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS RESIDUAIS	82
6	DISCUSSÃO	92
7	CONCLUSÃO	102
	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICE	125
	APÊNDICE A – Peças Operatórias.....	125
	ANEXOS.....	166
	ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP	166
	ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	171
	ANEXO C – Artigo Publicado	173

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal é a terceira malignidade mais comum e a segunda em mortes por ano no mundo. No ano de 2022, foram diagnosticados pouco mais de 1 milhão e novecentos mil casos no mundo com mais de 900 mil mortes. Para o Brasil, no ano de 2024, é estimado que sejam diagnosticados pouco mais de 45 mil casos novos, com aproximadamente um terço destes localizado no reto (Bray *et al.*, 2022; Instituto Nacional do Câncer – INCA, 2023)

Nas últimas décadas, o tratamento do câncer do reto passou por importantes mudanças, como: a padronização da técnica operatória, o emprego da Ressonância Magnética (RM) e a utilização de radioquimioterapia em doses e momentos diferentes.

Entre as décadas de 1970 e 1980, o tratamento do câncer do reto era exclusivamente operatório. Os resultados eram ruins com taxas de recorrência local acima de 50%. Em 1985 é publicado o primeiro estudo fase III, multicêntrico, prospectivo, composto por indivíduos com câncer do reto que foram randomizados para um de 4 grupos: operação exclusiva, operação com radioterapia pós-operatória, operação com quimioterapia pós-operatória ou operação com radioquimioterapia pós-operatória. A maior taxa de recorrência local foi no grupo de operação exclusiva (55%) e a menor foi no grupo de operação radical seguida por radioquimioterapia (33%). Mesmo assim, recorrência local em um terço dos participantes era considerado elevada (GTSG, 1985).

Em 1982, Richard Heald publica a padronização da técnica operatória a ser utilizada no tratamento do câncer do reto. Este autor propunha que o reto, o mesorreto e a fásia mesorretal deveriam ser cuidadosamente dissecados e removidos em bloco, de modo que a peça não apresentasse qualquer defeito. Esta técnica padronizada recebe o nome de Excisão Total do Mesorreto (ETM). Em 1986, Heald e cols. relatam uma série prospectiva de pacientes com câncer do reto distal, tratados por excisão total do mesorreto, e demonstram uma taxa de recorrência local de apenas 3,7% (Heald *et al.* 1982; Heald *et al.* 1986).

À época, a busca por melhores resultados permaneceu e é iniciado a pesquisa sobre o uso da radioterapia isolada no pré-operatório. O raciocínio baseava-se na

premissa de que as células tumorais estariam com melhor suprimento sanguíneo e maior oxigenação antes da operação, o que facilitaria a ação da radioterapia.

Em 2001, são publicados os resultados do *Dutch Trial* com nítido benefício da radioterapia neoadjuvante de curso curto no tratamento do câncer do reto. Trata-se de estudo multicêntrico, prospectivo e randomizado, onde indivíduos com câncer do reto ressecável foram alocados em um de 2 grupos: ETM exclusivo ou radioterapia de curso curto seguido por ETM. O grupo com radioterapia apresentou menor taxa de recorrência local (2,4% X 8,2%), mas sem impacto na sobrevida global (Kapiteijn *et al.*, 2001).

Por sua vez, o *German Trial* representou o grande divisor de águas no tratamento do câncer do reto localmente avançado. Trata-se de trabalho multicêntrico, prospectivo, onde pacientes com câncer do reto estadio II ou III foram randomizados para tratamento complementar pré-operatório versus pós-operatório com radioterapia, na dose de 5040 cGy (curso longo), associada à fluorouracil (5-FU) na forma de infusão contínua. Todos os pacientes foram submetidos à excisão total do mesorreto. Houve claro benefício para o tratamento pré-operatório em relação ao pós-operatório. As taxas de recorrência local e toxicidade aguda foram menores no grupo pré-operatório, sem impacto em sobrevida global (Sauer *et al.*, 2004).

A utilização da radioterapia e radioquimioterapia neoadjuvante seguida pela ETM têm diminuído substancialmente a recorrência local. Entretanto, a taxa de doença metastática permanece entre 25 e 30%. É conhecido que até 40% dos pacientes não toleram a quimioterapia adjuvante e que esta tem por objetivo o tratamento da possível doença micrometastática. Portanto, na tentativa de maior tolerância à quimioterapia e de uma possível melhor resposta do tumor primário, a dose adjuvante quimioterápica tem sido entregue no período neoadjuvante. Essa estratégia é conhecida como terapia neoadjuvante total (TNT) e pode ser considerada como de indução (antes da radio-radioquimioterapia) ou de consolidação (após a radio-radioquimioterapia) (Bosset *et al.*, 2014; Hong *et al.*, 2014).

O estudo Prodiges-23 avaliou a TNT de indução. Este foi formado por 461 pacientes (T3-T4 ou N+) que foram randomizados para tratamento experimental ou padrão. O primeiro foi composto por quimioterapia de indução (mFOLFIRINOX – 12 semanas) seguido por radioquimioterapia de longo curso, ETM e quimioterapia adjuvante (FOLFOX ou Capecitabina – 3 meses). O segundo foi composto por

radioquimioterapia de longo curso seguido por ETM e quimioterapia adjuvante (6 meses). O objetivo primário foi sobrevida livre de doença. Os objetivos secundários foram toxicidade, resposta patológica completa, sobrevida livre de metástases, sobrevida global e qualidade de vida. Foi encontrado o objetivo primário com a sobrevida livre de doença maior para os pacientes do grupo TNT (76% vs 69%, $p=0.034$). O braço experimental também obteve maior sobrevida livre de metástases e maior taxa de resposta patológica completa (27.8% vs 12.1%, $p < 0.001$). Quanto à aceitação à quimioterapia, 92% dos pacientes do grupo TNT receberam todos os ciclos planejados de mFOLFIRINOX. A incidência de efeitos adversos grau 3-4 em pacientes do grupo experimental foi semelhante à do grupo padrão. Resultados atualizados, com seguimento mediano de 7 anos, foram publicados recentemente. A sobrevida livre de doença permanece melhor no grupo TNT (67% vs 62%). Além disso, houve melhora nos resultados do grupo experimental em sobrevida livre de metástases, sobrevida específica de câncer e sobrevida global (81,9% vs 76,1%) (Conroy *et al.*, 2021; Etienne *et al.*, 2023).

Não obstante, o estudo RAPIDO investigou a TNT de consolidação. Este foi composto por pacientes de alto risco de recidiva local e à distância. Os critérios de inclusão, identificados à ressonância magnética, foram: cT4a, cT4b, invasão venosa extramural, N2, fásia mesorretal comprometida ou linfonodos laterais aumentados de tamanho. O estudo foi formado por 912 pacientes randomizados para tratamento experimental ou padrão. O primeiro consistia em radioterapia de curso curto seguido por quimioterapia (6 ciclos de CAPOX ou 9 ciclos de FOLFOX) e ETM. O segundo consistia em radioquimioterapia de longo curso seguida por ETM. Para ambos os braços, a quimioterapia adjuvante ficava a critério do oncologista assistente. O objetivo primário foi falha do tratamento relacionado à doença (recorrência local, metástases, morte relacionada ao tratamento). Os objetivos secundários foram resposta patológica completa, recidiva local, sobrevida global e segurança. O braço experimental obteve uma taxa menor de falha do tratamento relacionado à doença (23,7% vs 30,4%, $p = 0.019$). Além de melhores resultados quanto à resposta patológica completa (28,4% vs 14,3%) e taxa de metástases (20,0% vs 26,8%). Entretanto, a taxa de recorrência local foi maior para o braço experimental (8,3% vs 6,0%) mas não atingiu diferença estatisticamente significativa ($p = 0,12$). Quanto à segurança, eventos adversos grau 3-4, durante o período o tratamento neoadjuvante,

ocorreu em 48% dos pacientes do grupo TNT comparado com 25% no grupo de tratamento padrão. Resultados atualizados do estudo têm encontrado maior taxa de recorrência local para o grupo experimental, agora com diferença estatisticamente significativa (12% vs 8%, $p = 0.007$) (Conroy *et al.*, 2021; Dijkstra *et al.*, 2023).

Fato interessante passou a ser observado nos primeiros trabalhos que avaliaram o uso de radioquimioterapia neoadjuvante. Em torno de 10 a 30% dos pacientes não apresentavam células tumorais na análise microscópica da peça operatória. Este fenômeno passa a ser chamado de resposta patológica completa (pCR) e a sua ocorrência mostra-se associada a excelentes resultados, tanto de recorrência local quanto de sobrevida (Maas *et al.*, 2010).

Justamente pela possibilidade da ocorrência de pCR, passa-se a questionar a necessidade de operação radical neste grupo de doentes. Uma vez que, a excisão total do mesorreto configura-se em técnica operatória complexa, associada à elevada morbidade e até mesmo mortalidade. Parte dos pacientes evolui com disfunções anorretais, urinárias e sexuais, além da possibilidade de estomas temporários ou permanentes. Portanto, não parece racional submeter pacientes a uma operação de grande porte sem que nenhuma célula tumoral seja encontrada na peça operatória (Hendren *et al.*, 2005; Juul *et al.*, 2014; Emmertsen *et al.*, 2008)

A partir desse fato, Habr-Gama e cols., em 2004, de forma pioneira, publicam um artigo que significou uma quebra de paradigma. Neste estudo, 265 indivíduos com câncer do reto distal, estadios II e III, foram tratados por radioquimioterapia neoadjuvante padrão de longo curso. Após 8 semanas do término da mesma, eles foram reestadiados. Os participantes (71 indivíduos) nos quais não se identificou mais o tumor, tanto ao exame clínico-endoscópico como nos exames de imagem, foram considerados como respondedores completos, definido como resposta clínica completa – cCR, não foram operados e passaram a serem acompanhados de forma regular e cuidadosa. Os demais participantes, onde se visualizou lesão residual, foram operados pela técnica de excisão total do mesorreto. Dentre os pacientes operados, 22 apresentaram pCR à análise da peça operatória. Partindo-se do pressuposto que os melhores resultados oncológicos são observados em indivíduos que atingiram pCR, a autora comparou os resultados dos participantes que atingiram cCR com os que tiveram pCR. Não houve diferença em termos de sobrevida e recorrência local entre indivíduos que tiveram pCR com os que atingiram cCR. Essa abordagem sem

operação inicialmente em indivíduos que tiveram cCR, com seguimento regular e cuidadoso, recebeu o nome de estratégia *Watch and Wait (WW)* e é considerada uma estratégia de preservação de órgão (Habr-Gama *et al.*, 2004).

A outra estratégia existente de preservação de órgão, para indivíduos altamente selecionados, no tratamento do câncer do reto é a excisão local após o uso de radioquimioterapia. Em princípio possui morbimortalidade menor que a excisão total do mesorreto, e ainda propicia análise histológica para definição do estadió T tumoral (Rullier *et al.*, 2017).

O estudo CARTS (Capecitabine, Radiotherapy, TEM Surgery), holandês, incluiu 47 participantes com câncer do reto (T1-3 N0), os quais foram submetidos à radioquimioterapia neoadjuvante de longo curso seguida por excisão local, através da técnica Microcirurgia Endoscópica Transanal (TEM), 8 semanas após o término da neoadjuvância. Excisão total do mesorreto foi indicada para os tumores ypT2, enquanto os tumores ypT0 e ypT1 foram observados. Somente 4 recorrências locais foram identificadas, sendo 3 delas em participantes ypT2 que não aceitaram a cirurgia radical (Verseveld *et al.*, 2015).

O GRECCAR-2 foi um estudo multicêntrico, prospectivo, randomizado, fase III, que procurou comparar os resultados da excisão local com os de ETM em tumores com uma boa resposta à terapia neoadjuvante. Ele foi composto por casos de adenocarcinoma do terço distal do reto, T2T3, com diâmetro máximo de 4 cm e que tenham apresentado redução do tamanho (≤ 2 cm) após radioquimioterapia de longo curso habitual. No grupo da excisão local, os casos ypT2-T3 deveriam ter o tratamento complementado com a ETM. O objetivo primário era um resultado composto por morte, recorrência, morbidade e efeitos colaterais até 2 anos após as operações, com o intuito de demonstrar a superioridade da excisão local. De um total de 186 pacientes, 145 atingiram os critérios de inclusão e foram randomizados para excisão local (74 participantes) ou ETM (71 participantes). Ao final do trabalho, não foi identificada diferença entre os grupos em termos dos componentes do resultado composto, e a superioridade da excisão local não foi demonstrada. Entretanto, importante ressaltar que 26 (35%) participantes do grupo da excisão local necessitaram de complementação operatória com TME. Estes casos comportaram elevada morbidade e efeitos colaterais que prejudicaram o grupo da excisão local. Provavelmente, uma melhor seleção de pacientes e o cuidado em evitar complementações desnecessárias

com ETM melhorariam os resultados da estratégia de preservação (Rullier *et al.*, 2017).

A grande dificuldade na implantação da estratégia *Watch and Wait* e da Excisão Local é a seleção correta dos indivíduos. Diversas publicações têm sido feito a esse respeito. Entretanto, pesquisa sobre a doença residual neoplásica no reto, do seu padrão de regressão e de distribuição das células tumorais residuais é rara. Vale lembrar que a maioria dos doentes não atingirão pCR e terão doença residual nas peças operatórias. Além disso, a identificação do padrão de regressão tumoral e de distribuição das células tumorais residuais pode facilitar o emprego das estratégias de preservação do reto.

O padrão de regressão tumoral no câncer do reto pode ser classificado como sólido ou fragmentado. O tipo sólido parece ter uma regressão mais homogênea, com as células residuais agrupadas em bloco, circundadas por tecido fibrótico ou normal. O tipo fragmentado é mais desafiador. Frequentemente composto por ampla heterogeneidade celular tumoral, possui áreas de resposta completa intercalado por grupos celulares tumorais (Gosens *et al.*, 2007).

Ao mesmo tempo, até 40% dos tumores do reto antes da neoadjuvância terão extensão tumoral intramural microscópica (ETIM) ou seja, haverá microscopicamente células cancerosas intramurais além dos limites macroscópicos da lesão. Essas extensões tumorais microscópicas podem ter a mais diversa pluralidade de clones neoplásicos e, por conseguinte, diferentes formas de resposta à neoadjuvância (Andreolla *et al.*, 1997).

Para o tratamento do câncer do reto, a identificação do padrão de regressão tumoral e da extensão tumoral intramural microscópica pode ajudar a definir as margens a serem utilizadas em uma excisão local ou em uma operação radical. Tumores retais com padrão de regressão fragmentado, devido ao risco de deixarmos células tumorais residuais, provavelmente devem ter as suas margens de ressecção calculadas a partir dos limites macroscópicos da lesão inicial, antes da terapia neoadjuvante, e não a partir da lesão residual após a neoadjuvância.

O padrão de regressão fragmentado, além de ajudar a definir margens e técnica operatória a serem empregadas, está associado a estádios mais avançados, menor

resposta à neoadjuvância e pior sobrevida (Hav *et al.*, 2015; Fernandez-Acenero *et al.*, 2017).

Concomitantemente, quanto à distribuição das células tumorais residuais (CTR), o sistema de estadiamento que é utilizado no Câncer do Reto é o TNM. Este é baseado na profundidade máxima de invasão tumoral na parede retal (ypT), no envolvimento dos linfonodos regionais e na presença ou não de metástases. Entretanto, essa classificação não informa a distribuição das CTR tampouco permite a formulação de um padrão de distribuição. A compreensão destes pode indicar os pontos onde os exames de imagem devem aumentar a sua resolução, bem como identificar possíveis áreas a serem biopsiadas após a terapia neoadjuvante (Amin *et al.*, 2017).

A distribuição da doença residual deve ser analisada tanto na parede retal como no mesorreto. Neste último, a presença de CTR e a sua distribuição podem orientar o tratamento operatório e a extensão da linfadenectomia. Por exemplo, caso os linfonodos comprometidos estejam restritos ao mesorreto, a ligadura arterial pode ser feita mais baixa, o que está associado a menor chance de lesão neurológica (Leibold *et al.*, 2008).

Portanto, é relevante estudar o padrão de regressão tumoral no câncer do reto e a distribuição da doença residual após à ação da radioquimioterapia. Mas tão importante quanto o estudo é a capacidade de aplicação deste conhecimento na prática clínica. O desafio aqui é a identificação pré-operatória destes aspectos.

A possibilidade de identificar marcadores moleculares associados ao padrão de regressão tumoral e de distribuição das CTR é atraente. Neste cenário, o emprego da técnica de imuno-histoquímica teria a vantagem de já ser amplamente utilizada.

Nos últimos anos, o conhecimento a respeito da interação das células tumorais com o sistema imunológico tem aumentado. Os tumores do reto comumente são constituídos por diversas mutações celulares, o que leva à exposição de novos antígenos e a consequente ativação do sistema imunológico (Schreiber *et al.*, 2011).

A radioterapia ao lesar o DNA tumoral e levar à morte celular induz à exposição de antígenos intracelulares tumorais e a consequente maior ativação do sistema

imunológico. A ativação deste busca controlar e destruir as células tumorais (Baskar *et al.*, 2011).

Entretanto, as células tumorais podem desenvolver mecanismos que inibem à atividade imunológica. Típico exemplo é a expressão de receptores transmembranas com função inibitória sobre as células imunes. É o caso dos receptores PDL-1, expressos em células tumorais, que se ligam a receptores PD-1 encontrados em células T, B e NK. A ligação de PD-1 a PDL-1 leva a um feedback negativo na ativação do sistema imunológico e consequente crescimento tumoral (Iwai *et al.* 2002).

Existem drogas que conseguem inibir a ligação de PD-1 a PDL-1 e apresentam excelentes resultados no tratamento de melanomas e câncer de pulmão. Para o câncer colorretal, o seu emprego é recente e restrito ao tratamento da doença metastática e do câncer do reto primário com critérios de instabilidade de microssatélites (Theelen *et al.*, 2019; André *et al.*, 2020; Cercek *et al.*, 2022).

A infiltração linfocitária peri e intratumoral é outro aspecto a ser estudado na interação entre células tumorais e imunes. Alguns casos de câncer colorretal possuem amplo infiltrado linfocitário, principalmente de células T CD8, e tipicamente parecem possuir melhor prognóstico. Alguns autores têm encontrado que o infiltrado imune aumentado de CD3-CD8 (Imunoscore) está associado a melhores resultados no câncer do reto, tanto em resposta à radioquimioterapia neoadjuvante quanto em sobrevida (Matsutani *et al.*, 2018).

Além da imuno-histoquímica, alguns aspectos identificáveis à Ressonância Magnética (RM) podem estar associados ao padrão de regressão tumoral e de distribuição da doença residual. Este exame faz parte do estadiamento pré e pós-neoadjuvância.

A utilização da RM no estadiamento inicial do câncer do reto está consagrada. Este exame possui elevada acurácia quanto a presença de comprometimento da fásia mesorretal. Além de proporcionar informações quanto a penetração do tumor na parede retal, comprometimento linfonodal em mesorreto e em cadeia lateral pélvica, presença de invasão venosa extramural, entre outras. O conjunto dessas informações é que subsidiará a decisão de fazer ou não radioquimioterapia neoadjuvante (Beets-Tan *et al.*, 2001).

No contexto do estadiamento pós-neoadjuvância, a RM possui papel fundamental. Ela possibilita a identificação de bons e maus respondedores. Parâmetros como variação do volume tumoral, downsizing, downstaging, cálculo do Grau de Regressão Tumoral (TRG), aspectos em T2 ponderado e na difusão pesada facilitam a diferenciação das respostas. Entretanto, há poucas publicações quanto ao uso da RM para identificação do padrão de regressão tumoral e distribuição das CTR (Sclafani *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2010).

Portanto, este trabalho foi delineado para estudar o padrão de regressão tumoral pós-neoadjuvância no câncer do reto, a distribuição das células tumorais residuais na parede retal e no mesorreto, além de identificar fatores relacionados a estes aspectos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Afecções retais são relatadas há milênios. Na antiguidade, egípcios e gregos desenvolveram técnicas para o tratamento das fístulas anais e hemorroidas. Heródoto, no século V a.C., descreve ampla documentação, encontrada na biblioteca de Alexandria, a respeito de doenças retais (Graney *et al.*, 1980).

Entretanto, a primeira tentativa de ressecção retal ocorre somente em 1739. O cirurgião foi Jean Faget e a ressecção é feita para o tratamento de um tumor retal perfurado. O paciente evolui com situação clínica semelhante a um ânus sacral incontrolável e morre das complicações (Graney *et al.*, 1980; Corman *et al.*, 2000).

A primeira descrição de uma ressecção retal com sucesso para o tratamento de um tumor retal é creditada a Jacques Lisfranc em 1826. O autor descreve os seus resultados com 9 pacientes. Sepses e hemorragias volumosas eram frequentes (Graney *et al.*, 1980; Corman *et al.*, 2000).

A introdução da anestesia e da assepsia, a partir da segunda metade do século de XIX, permite o desenvolvimento de técnicas operatórias mais complexas. Há a descrição da técnica de *pull-trough* por Carl Gussenbauer e a ressecção retal com tempo perineal e abdominal por Vincent Czerny (Breen *et al.*, 1985; Graney *et al.*, 1980).

Em 1908, na revista científica *Lancet*, Miles publica uma série de 12 operações para o tratamento do câncer do reto. Estas eram compostas por um tempo abdominal e outro perineal, sempre com a preocupação de ressecar a zona de disseminação cranial do tumor e garantir uma ressecção anatomicamente correta. O produto da ressecção era composto pelo tumor, o retossigmoide e os linfonodos associados, todos em bloco. A mortalidade descrita por Miles era de 42%. Esta técnica é designada como amputação abdominoperineal e utilizada até os dias atuais (Miles, 1908).

Com o desenvolvimento das transfusões sanguíneas e a evolução da anestesiologia a morbidade e mortalidade de grandes operações abdominais diminuem. Em 1923, Miles publica uma série de casos de amputação abdominoperineal com mortalidade de 9% e recorrência tumoral de 29,5%. Com o

controle oncológico alcançado e a queda da mortalidade, a técnica de Miles passa a ser considerada o padrão de tratamento para o câncer do reto (Ruo *et al.*, 1999).

A partir de extensa pesquisa anatomopatológica, em peças de amputação abdominoperineal, Cuthbert Dukes identifica que maioria dos linfonodos comprometidos estavam localizados na altura do tumor ou proximal ao mesmo. Este fato sugeria que a maioria das ressecções distais radicais poderiam ser evitadas (Lange *et al.*, 2009).

Em 1948, Claude Dixon publica seus resultados com o emprego de ressecções anteriores do reto para tratamento de tumores do sigmoide distal e do terço superior do reto. O controle local é bom e a mortalidade aceitável. As ressecções anteriores passam a serem consideradas como o tratamento padrão para os tumores nessas localizações (Dixon, 1948; Lange *et al.*, 2008).

Alan Parks, em 1982, publica sua técnica operatória denominada *Anastomose Peranal*. Esta possibilita a preservação esfinteriana para os tumores do terço distal do reto sem comprometer os resultados oncológicos. Devido ao risco de fístulas anastomóticas e sepse pélvica, a técnica de Parks habitualmente é acompanhada pela confecção de ileostomia de proteção (Parks *et al.*, 1982).

Ainda na década de 80, Richard Heald procura padronizar a técnica operatória a ser utilizada no tratamento do câncer do reto, denominada Excisão Total do Mesorreto. O autor descrevia a necessidade de ressecção do reto e seu mesorreto, em bloco, com obediência aos planos embriológicos. Heald *et al.*, em série publicada em 1986, identificou taxa de recorrência local de 3,6% e sobrevida livre de doença em 5 anos de 80%. Dessa forma, a Excisão Total do Mesorreto passa a ser a técnica padrão a ser empregada no tratamento do câncer do terço médio e distal do reto até os dias atuais (Heald *et al.*, 1982; Heald *et al.*, 1986).

A busca por operações radicais, com margens circunferenciais e distais livres de comprometimento tumoral, associadas à preservação esfinteriana e bons resultados funcionais persistiu. Exemplos de operações desenvolvidas com esses objetivos são as ressecções anteriores ultrabaixas e as ressecções interesfinterianas. Ambas comumente associadas ao emprego de radioterapia ou radioquimioterapia neoadjuvante.

As ressecções anteriores ultrabaixas do reto extirpam todo o reto e mesorreto e a reconstrução intestinal é feita por anastomoses coloanais. Estas operações não afetam a taxa de recorrência ou de sobrevida quando comparadas à amputação abdominoperineal (Nakagoe *et al.*, 2004). Da mesma forma, não há diferença em sobrevida livre e específica de doença entre as técnicas anastomóticas manuais ou mecânicas (Nakagoe *et al.*, 2004).

Após a ressecção anterior ultrabaixa do reto, até 90% dos pacientes evoluem com aumento da frequência evacuatória, urgência, fragmentação e algum grau de incontinência fecal. O conjunto destes sintomas, após uma ressecção anterior do reto, é conhecida como Síndrome da Ressecção Anterior Baixa do Reto (Nacion *et al.*, 2018). Tentativas de amenizar esses sintomas incluem o fechamento precoce das ostomias de proteção; uso racional das terapias radioquimioterápicas neoadjuvantes; orientações alimentares e medicamentosas; variações técnicas na construção das anastomoses coloanais (Sauri *et al.* 2021; Gavaruzzi *et al.*, 2020).

Nas ressecções interesfincterianas há a excisão seletiva do músculo esfíncter anal interno e a preservação da musculatura esfíncteriana externa. A intenção é aumentar a possibilidade da preservação esfíncteriana ao mesmo tempo que se mantém função anal satisfatória. De acordo com a extensão da ressecção do músculo esfíncter anal interno, as ressecções interesfincterianas podem ser divididas em parciais, subtotais ou completas; onde 1/3 a 1/2, 2/3 ou todo o músculo é ressecado, respectivamente (Lyttle *et al.*, 1977; Akagi *et al.*, 2013).

Os potenciais candidatos às ressecções interesfincterianas são os que não possuem comprometimento da musculatura elevadora do ânus nem do esfíncter anal externo e que tenham tumores localizados na porção mais distal do reto. Nesta área tipicamente não há mesorreto e a ressecção do esfíncter anal interno pode aumentar a margem de ressecção circunferencial (Kim *et al.*, 2012; Rullier *et al.*, 2003).

As ressecções interesfincterianas são consideradas oncológica e seguradas, com resultados semelhantes às amputações abdominoperineais. Em estudo de uma coorte composto por ressecções interesfincterianas, Schiessel *et al.* tiveram taxa de recorrência local de 5,3% com seguimento mediano de 94 meses (Schiessel *et al.*, 1994). De forma semelhante, Denost *et al.*, em análise retrospectiva de única instituição, analisaram 303 indivíduos que foram tratados por ressecções interesfincterianas, em um período de 25 anos. A recorrência local em 5 anos foi de

4,3% e a sobrevida livre de doença em 5 anos de 73% (Denost *et al.*, 2020). Os resultados funcionais das ressecções interesfincterianas não são bons. É comum casos de incontinência fecal e perda importante de qualidade de vida (Yamada *et al.*, 2019).

As operações com preservação esfinteriana tornaram-se o padrão de tratamento para o câncer do reto. A limitação para o emprego destas técnicas é basicamente a capacidade de se obter uma ressecção com margens distais e circunferenciais livres de neoplasia.

Na década de 1950, a partir da análise de 1500 peças operatórias de câncer do reto, Dukes, Goligher e Bussey estabeleceram como 5 cm a margem distal de segurança (Goligher *et al.*, 1951). Em 1983, Pollett *et al.* analisaram 334 peças operatórias de câncer do reto com diferentes margens distais. Havia 3 grupos: o primeiro composto por casos com margem distal de até 2 cm, o segundo com margens de 2 a 5 cm e o terceiro com casos de margem maior ou igual a 5 cm. Os grupos foram comparados quanto à sobrevida e recorrência. Não houve diferença de sobrevida em 5 anos. Um total de 23 recorrências foram identificadas e estavam distribuídas homogeneamente entre os grupos (Pollett *et al.*, 1983).

No início dos anos 2000, estudos semelhantes encontraram que, em tumores do terço distal do reto, a extensão neoplásica distal além de 2cm dos limites macroscópicos do tumor, tanto na parede retal como no mesorreto, era extremamente rara. Posteriormente, margem distal de um (1) cm tem sido orientada para casos de câncer do reto que receberam radioquimioterapia neoadjuvante (Guedj *et al.*, 2016).

A preocupação em se obter margem distal livre de neoplasia deve ser acompanhada também pela busca de margem circunferencial livre. Esta quando comprometida aumenta a taxa de recorrência local, de metástases e morte (Wibe *et al.*, 2002). Estudos recentes têm descrito sobrevida livre de doença significativamente pior quando a margem de ressecção circunferencial é < 1 mm comparado com casos ≥ 1 mm (Park *et al.*, 2014). Não obstante, há publicações que sugerem que a margem de ressecção circunferencial deve ser ≥ 2 mm para suprimir a recorrência local em pacientes sem radioquimioterapia neoadjuvante e que, em pacientes com radioquimioterapia neoadjuvante, a margem deve ser ≥ 1 mm (Nagtgaal *et al.*, 2002).

A excisão total do mesorreto é o tratamento padrão para o câncer do reto do terço médio e inferior do reto. Ao mesmo tempo, a dissecação linfonodal lateral pélvica tem sido sugerida como uma tentativa de diminuir ainda mais a recorrência local e melhorar a sobrevida. A elevada incidência de metástases linfonodais pélvicas tem gerado debate a respeito do tratamento do câncer do reto distal. Controvérsias se a doença linfonodal lateral pélvica é locorregional ou metastática permanece (Emile *et al.*, 2021; Nacion *et al.*, 2018).

Na maioria dos centros ocidentais, a doença linfonodal lateral pélvica é tratada inicialmente com radioquimioterapia neoadjuvante padrão seguida por excisão total do mesorreto. As dissecações linfonodais laterais são pouco empregadas, uma vez que se acredita que a terapia neoadjuvante é o suficiente para o tratamento na grande maioria dos casos.

O raciocínio em muitos centros japoneses é o contrário. As diretrizes clínicas japonesas orientam a realização de dissecação linfonodal lateral pélvica em casos de adenocarcinoma do reto extraperitoneal que tenham invadido além da muscular própria do reto (Emile *et al.*, 2021; Nacion *et al.*, 2018, Hashiguchi *et al.*, 2020).

Em estudo multicêntrico, multinacional, Ogura *et al.* relataram taxa de recorrência na parede lateral pélvica de 19,5% em pacientes com linfonodo lateral maior ou igual a 7 mm na ressonância magnética inicial que foram tratados com radioquimioterapia neoadjuvante e excisão total do mesorreto. Entretanto, a adição de linfadenectomia lateral pélvica reduziu significativamente a taxa de recorrência para 5,7%. A partir destes achados, os autores sugerem que radioquimioterapia neoadjuvante seguida por excisão total do mesorreto pode ser insuficiente em pacientes com linfadenopatia lateral pélvica (Ogura *et al.*, 2019).

Uma coorte, multicêntrica internacional, conduzida em 6 centros a partir da Holanda, Estados Unidos e Austrália, encontrou benefício oncológico, em termos de recorrência local, quando a linfadenectomia lateral foi utilizada juntamente com radioquimioterapia neoadjuvante e excisão total do mesorreto em pacientes com linfonodos laterais pélvicos anormais (Kroon *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que a linfadenectomia lateral pélvica está associada a aumento no tempo operatório e na taxa de complicações, especialmente em disfunções

urinárias e sexuais (Emile *et al.*, 2021). Aparentemente, até o momento, não há consenso a respeito de como tratar a doença linfonodal lateral pélvica.

Apesar das operações de preservação esfinteriana serem as mais comumente empregadas, ao menos 20% dos casos de câncer do reto necessitarão de amputação abdominoperineal. Esta operação é habitualmente indicada para tumores com invasão da musculatura elevadora do ânus e ou do esfíncter anal externo. Elevadas taxas de margens de ressecção circunferenciais comprometidas e de perfuração tumoral, em peças de amputação abdominoperineal, tem gerado discussão a respeito da técnica (Eriksen *et al.*, 2004; Nagtgaal *et al.*, 2005). Na tentativa de melhorar esses resultados, Holm e cols. têm proposto a realização de amputação abdominoperineal alargada ou extraelevadora, onde a peça operatória seria mais robusta e com menor chance de comprometimento das margens e de perfuração (Holm *et al.*, 2007). Entretanto, a associação desta variação técnica com melhores resultados oncológicos não é aceita por todos (Asplund *et al.*, 2012).

Ao mesmo tempo que a amputação abdominoperineal extraelevadora proporciona peças operatórias com mais tecido ao redor do tumor, há o custo de gerar feridas pélvicas-perineais maiores. É comum, nestes casos, a confecção de retalhos miocutâneos para preenchimento do defeito perineal, o que pode aumentar a taxa de complicação local (Asplund *et al.*, 2012).

Tanto nas amputações abdominoperineais como nas operações de preservação esfinteriana, a preocupação em minimizar o impacto na qualidade de vida dos pacientes deve ser constante. Neste sentido, Hojo *et al.* descreveram a técnica de preservação da inervação autonômica, a qual está associada à menor disfunção sexual e urinária. Esta técnica facilitou a identificação e isolamento dos nervos hipogástricos, plexo hipogástrico inferior e nervos pélvicos (Hojo *et al.*, 1991).

Ainda no sentido da manutenção da qualidade de vida dos pacientes acometidos pelo câncer do reto, há casos onde uma excisão local transanal pode ser empregada. Esta técnica comporta menor morbimortalidade quando comparada às técnicas radicais. Entretanto, para manutenção da segurança oncológica, os casos dever ser devidamente selecionados.

Atualmente, as indicações mais comuns para excisão local transanal são para adenocarcinomas bem ou moderadamente diferenciados Tis ou T1 sem invasão

angiolinfática, menores de 3 cm em diâmetro, localizados até 8 a 10 cm da margem anal e ocupando menos de 1/3 da circunferência do lúmen retal (Young *et al.*, 2017).

As excisões locais transanais podem ser realizadas por técnica convencional ou através de plataformas minimamente invasivas conhecidas como microcirurgia endoscópica transanal (TEM), operação endoscópica transanal (TEO) e cirurgia minimamente invasiva transanal (TAMIS).

Clancy *et al.*, em meta-análise recente, compararam a técnica convencional com a TEM. Esta última obteve maior taxa de margens negativas, menor chance de fragmentação da peça operatória e taxa reduzida de recorrência local. Não houve diferença em complicações pós-operatórias entre as técnicas (Clancy *et al.*, 2015). As indicações para o emprego da TAMIS são as mesmas da TEM. Entretanto, a TAMIS está associada a menor tempo operatório e de estadia hospitalar (Lee *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, têm ganhado espaço as estratégias de preservação do reto. É o caso da excisão local transanal após terapia radioquimioterápica neoadjuvante para o tratamento de tumores um pouco mais avançados. O ACOSOG Z6041 foi um estudo prospectivo, multicêntrico, braço único, com inclusão de 72 pacientes com adenocarcinoma do reto (até 8 cm da margem anal), estágio T2N0. Os participantes passaram por radioquimioterapia neoadjuvante composta por Capecitabina e radioterapia na dose de 5400 cGY e foram operados por excisão local transanal. O objetivo primário era sobrevida livre de doença em 3 anos. O resultado atingido foi de 88,3% para o objetivo primário. Os autores concluem que essa estratégia de tratamento pode ser empregada em pacientes altamente selecionados (Garcia-Aguilar *et al.*, 2015).

Por sua vez, o UK TREC é o primeiro estudo clínico randomizado a comparar radioterapia neoadjuvante seguida por excisão local transanal com a excisão total do mesorreto para o tratamento do câncer do reto em estadios precoces. Este estudo foi composto por 55 participantes com adenocarcinoma do reto, T1N0 ou T2N0, randomizados 1:1 para excisão total do mesorreto ou radioterapia de curso curto seguida por excisão local 8 a 10 semanas após o término da radioterapia. Aqueles que apresentassem critérios histopatológicos de mal prognóstico estava indicada a excisão total do mesorreto. Entre 27 participantes que passaram pela excisão local, 8 (30%) indivíduos atingiram resposta patológica completa e outros 8 (30%) tiveram critérios histopatológicos de mal prognóstico com indicação de complementação por

excisão total mesorreto. Já no grupo da excisão total do mesorreto, 24 (86%) participantes tiveram critérios histopatológicos de mal prognóstico. A preservação do reto foi possível em 70% dos pacientes randomizados com um bom controle local (Bach *et al.*, 2021).

Ao mesmo tempo que se busca a manutenção da qualidade de vida dos pacientes acometidos pelo câncer do reto através de tratamentos menos invasivos, há situações nas quais ressecções alargadas são necessárias. Pelo menos 15% dos casos de Câncer de Reto possuem invasão de estruturas adjacentes. Nestas situações, existe possibilidade de cura desde que a malignidade e os órgãos adjacentes comprometidos sejam ressecados em bloco e com margens livres. Este é o típico cenário onde serão empregadas as operações de Exenteração Pélvica (Kokelaar *et al.*, 2016).

A principal indicação para o emprego de uma exenteração pélvica é a presença de uma malignidade pélvica, primária ou recorrente, com o comprometimento de estruturas vizinhas. Em raros casos pode-se aplicar a técnica para tratamento de complicações graves da radioterapia, em caráter paliativo (Ferenschild *et al.*, 2009).

A utilização das exenterações pélvicas em caráter paliativo é tema altamente controverso. A princípio seu uso deve ser restrito, utilizando-a em raríssimos casos de fístulas complexas ou de dor intratável. Entretanto, nos últimos anos, tem ganhado espaço a aplicação das exenterações pélvicas para tumores colorretais com doença oligometastática. Em casos bem selecionados, com doença metastática apenas em um sítio, de pequeno volume e facilmente ressecável, o uso da exenteração pélvica combinada com a quimioterapia pode permitir sobrevida acima dos 30 meses (Pawlik *et al.*, 2006).

A existência de doença metastática irressecável é contraindicação clássica para realização de exenteração pélvica. Outras contraindicações existem, como: impossibilidade de atingir uma ressecção pélvica com margens livres, estado nutricional comprometido, comorbidades graves e mal controladas. Pelo caráter mutilador da operação há necessidade de ampla discussão com o paciente e seus familiares. Este último fato merece considerações pois, apesar das exenterações pélvicas poderem possibilitar a cura, elas trazem consigo alterações funcionais,

estéticas e psicológicas. Na imensa maioria dos casos, haverá prejuízo nas funções urinárias, sexuais, anorretais, reprodutoras (Mirnezami *et al.*, 2020).

Atualmente, não existe impossibilidade técnica para uma ressecção pélvica devido à localização anatômica do tumor. É cada vez mais comum a realização de ressecções sacrais altas, extirpações de parede lateral pélvica, reconstruções vasculares complexas. O limite da ressecção pélvica é determinado basicamente por dois fatores: condições gerais do paciente para suportar o insulto operatório e a aceitação da morbidade associada à operação (Mirnezami *et al.*, 2020; Pawlik *et al.*, 2006).

Quando submetidos a operações de exenteração pélvica, os tumores primários do reto possuem taxas de sobrevida diferentes dos tumores recorrentes. É esperada uma sobrevida mediana de 5 anos em 52% dos tumores primários, enquanto a estimativa para os tumores recorrentes é de 18%. Os fatores de mal prognóstico, para os casos de exenteração pélvica, são o comprometimento das margens de ressecção, a existência de comprometimento linfonodal e o tratamento em tumores recorrentes. Isto não significa que as operações de exenteração pélvica não devam ser indicadas para os tumores recorrentes. Muito pelo contrário, tumores recorrentes sem doença metastática se não resgatados cirurgicamente não possuem possibilidade de sobrevida a longo prazo. A única possibilidade de cura é o tratamento operatório (Harris *et al.*, 2016; Platt *et al.*, 2018).

Justamente pelo seu grande porte, as operações de exenteração pélvica estavam associadas a elevados índices de morbidade e mortalidade. Entretanto, com a melhora dos cuidados perioperatórios e o refinamento da técnica, os resultados têm melhorado. As taxas de complicações variam entre 30% até 80% dependendo da série analisada. Coleções abdominais, abscessos, fístulas, necrose de retalhos, eventos tromboembólicos estão entre as complicações mais comuns. O tempo médio de duração de uma exenteração pélvica é de sete horas, com uma estimativa de sangramento em torno de 1,9 litros. A permanência hospitalar mediana é de 17 dias. A mortalidade varia entre 0 e 8% nas séries mais recentes (Brown *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2012).

Para o tratamento do câncer do reto, operações com menor morbidade têm sido propostas. Em alguns casos não é possível diminuir a extensão da operação, mas pode-se escolher uma via de acesso ao abdômen que comporte menor

morbidade. Este é o raciocínio para o emprego da via laparoscópica no tratamento do câncer do reto.

Em 2015, são publicados os resultados do estudo COLOR II (Colorectal Cancer Laparoscopic or Open Resection). Trata-se de estudo multicêntrico, prospectivo, randomizado, composto por 1044 indivíduos com diagnóstico de adenocarcinoma do reto (até 15 cm da margem anal) que foram distribuídos por um de dois grupos: operação aberta ou laparoscópica. O objetivo primário foi recorrência locorregional em 3 anos. Os resultados encontrados não indicaram diferença de recorrência locorregional nem de sobrevida global entre os grupos. O braço laparoscópico apresentou menor tempo de internação hospitalar (Bonjer *et al.*, 2015).

Os resultados do estudo COREAN (The Comparison of Open versus laparoscopic surgery for mid or low **REctal cancer** After Neoadjuvant chemoradiotherapy) são semelhantes aos do COLOR II. O estudo COREAN também foi multicêntrico, prospectivo e randomizado, composto por casos de adenocarcinoma do terço médio e distal do reto que passaram por radioquimioterapia neoadjuvante. Os participantes foram distribuídos entre um grupo de operação aberta e um grupo de operação laparoscópica. Também não encontraram diferença em termos de recorrência locorregional e de sobrevida livre de doença (Jeong *et al.*, 2014).

Entretanto, nem a partir do estudo ACOSOG (American College of Surgeons Oncology Group) Z6051 nem do ALaCaRT (The Australasian Laparoscopic Cancer of the Rectum Trial) foi possível demonstrar equivalência oncológica da ressecção laparoscópica comparada com a aberta (Fleshman *et al.*, 2015; Stevenson *et al.*, 2015). Da mesma forma, a partir de meta-análise composta por 14 estudos randomizados e controlados também não foi possível demonstrar que a taxa de sucesso para uma ressecção oncológica através da via laparoscópica era a mesma ou melhor do que a via aberta. E, ainda, os autores sugeriram que com a via laparoscópica há maior chance de margem de ressecção circunferencial comprometida e de excisão total do mesorreto incompleta (Martinez-Perez *et al.*, 2017).

Com o avanço tecnológico, tem sido possível o emprego de plataformas robóticas para o tratamento operatório do câncer do reto. A promessa é de que o auxílio robótico facilite o manuseio delicado de vasos e nervos e ajude a preservar as funções urinárias e sexuais após operações para o câncer do reto. Yamaguchi *et al.*

analisaram casos de linfadenectomia lateral pélvica e encontraram que o uso da plataforma robótica reduziu a quantidade de sangramento, diminuiu os casos de retenção urinária e esteve associada a menores taxas de recorrência local quando comparada à técnica aberta (Yamaguchi *et al.*, 2018).

Entretanto, os resultados do ROLARR (Effect of Robotic-Assisted vs Conventional Laparoscopic Surgery on Risk of Conversion to Open Laparotomy Among Patients Undergoing Resection for Rectal Cancer), estudo multicêntrico, prospectivo e randomizado, não identificaram a superioridade da cirurgia robótica sobre a laparoscópica em termos de conversão para técnica aberta (Jayne *et al.*, 2017). Uma meta-análise comparou cirurgia robótica com laparoscópica e encontrou menor taxa de conversão para técnica aberta nas operações com assistência robótica. Não houve diferença nos resultados pós-operatórios a curto prazo (Zhang *et al.*, 2024). A utilização das plataformas robóticas para o tratamento do câncer do reto tem aumentado. O fator limitador para expansão da técnica tem sido o custo para aquisição do equipamento e sua manutenção.

A preocupação com a recorrência locorregional associada ao tratamento operatório do câncer do reto levou à adoção da radioterapia como parte da abordagem terapêutica. A utilização da radioterapia adjuvante foi identificada com menor taxa de recorrência local comparada à quimioterapia adjuvante. Entretanto, não teve impacto em sobrevida livre de doença nem em sobrevida global.

Em 1993, Frykholm *et al.* publicam os resultados de um estudo prospectivo e randomizado composto por indivíduos com diagnóstico de adenocarcinoma do reto. Os participantes foram randomizados para um de dois grupos: radioterapia neoadjuvante de curso curto (2500 cGY entregue 5 dias) ou radioterapia adjuvante de curso prolongado (6000 cGY entregue em 8 semanas). Após um seguimento mínimo de 5 anos, a taxa de recorrência locorregional foi menor no grupo de radioterapia neoadjuvante (13% X 22%). Não houve diferença em sobrevida global entre os grupos (Frykholm *et al.*, 1993).

Dois grandes estudos, o *Dutch* e o *Swedish*, compararam 2 grupos de tratamento: o primeiro grupo composto por radioterapia neoadjuvante de curso curto seguida por operação e o segundo grupo composto por operação exclusiva. No *Swedish trial*, a taxa de recorrência local foi quase três vezes maior no grupo de operação exclusiva (26% X 9%). Tanto a sobrevida global como sobrevida específica

de câncer foram significativamente maiores no grupo de radioterapia neoadjuvante seguida por operação (Cedermark *et al.*, 1997; Folkesson *et al.*, 2005). No *Dutch trial* também foi identificado que a radioterapia neoadjuvante seguida por excisão total do mesorreto obteve as menores taxas de recorrência local (11% X 5%) quando comparada à excisão total do mesorreto exclusiva. Com o seguimento de longo prazo, os pacientes tratados com radioterapia neoadjuvante e que eram estadio III com margens ressecção circunferenciais livres na cirurgia tiveram sobrevida em 10 anos melhor do que o grupo com operação exclusiva (Kapiteijn *et al.*, 2001; Van Gijn *et al.*, 2011).

Em 2004, Sauer *et al.* publicam os resultados do estudo alemão CAO/ARO/AIO-94. Este foi um dos primeiros estudos a serem compostos por radioquimioterapia sincronizada baseada na fluorouracila, com esquema de radioterapia de longo curso entregue em 28 sessões. Os autores identificaram para o braço neoadjuvante maior taxa de redução do estadio, menor taxa de recorrência local e menor toxicidade (Sauer *et al.*, 2004). Em outro estudo alemão, o CAO/ARO/AIO-04, foi observado que a adição da oxaliplatina ao esquema radioquimioterápico padrão melhorou significativamente a sobrevida livre de doença em 3 anos (Rodel *et al.*, 2015). Com base nestes estudos, a radioquimioterapia neoadjuvante torna-se o padrão de cuidado.

A utilização da radioterapia ou radioquimioterapia neoadjuvante está associada à menor taxa de recorrência locorregional quando comparada ao contexto adjuvante. Entretanto, não parece impactar a sobrevida global. Da mesma forma, até 25% dos pacientes com câncer do reto tratados com terapia neoadjuvante evoluem com doença metastática e, até o momento, o uso da quimioterapia adjuvante parece não diminuir essa taxa (Breugom *et al.*, 2015). Neste sentido, tem se buscado trazer a dose da quimioterapia adjuvante para o cenário neoadjuvante. O objetivo é tratar a possível doença micrometastática e aumentar a resposta do tumor primário. Esta estratégia é definida como terapia neoadjuvante total (TNT) e tem ganhado grande atenção nos últimos anos. Os esquemas de TNT podem ser compostos por radioterapia de curso curto ou de longo curso, bem como a quimioterapia pode ser entregue antes da radioquimioterapia (indução) ou após a radioquimioterapia (consolidação).

Em relação à utilização da radioterapia de curso curto no contexto de TNT, há 3 estudos multicêntricos, prospectivos e randomizados: Polish II, STELLAR (Short-term radiotherapy plus chemotherapy versus long-term chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer) e RAPIDO (Rectal cancer And Preoperative Induction therapy followed by Dedicated Operation).

No estudo Polish II foi comparada a radioterapia de curso curto (2500cGy entregue em 5 sessões) seguida por 3 ciclos de FOLFOX4 (5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina) no braço TNT com radioquimioterapia de longo curso (5040 cGy em 28 frações combinada com oxaliplatina e 5-FU com leucovorin em bolus) em pacientes com câncer do reto cT3 fixo ou T4. Houve menor toxicidade aguda no braço TNT (75% X 83%, $p=0.006$) e taxa de ressecção R0 semelhante em ambos os braços (77% X 71%, $p=0.007$). As taxas de resposta patológica completa foram comparáveis (16% X 12%, $p=0.17$). Não houve diferença na sobrevida global (49% X 49%, $P=0.38$) nem em sobrevida livre de doença (43% X 41%, $P=0.65$) (Cisel *et al.*, 2019).

No estudo STELLAR foi comparado radioterapia de curso curto (2500 cGy em 5 frações) seguida por 4 ciclos de CAPOX (braço TNT) com radioquimioterapia de longo curso padrão (5000 cGy em 25 frações entregue em 5 semanas com capecitabina associada) em indivíduos com câncer do reto do terço médio ou distal com estágio T3 ou T4. A quimioterapia pós-operatória consistiu em 2 ciclos de CAPOX no braço TNT e 6 ciclos no braço de radioquimioterapia de longo curso. Foi identificado eventos adversos mais comumente no braço TNT (17,6% X 4,1%). Mesmo assim, a taxa de aceitação da quimioterapia neoadjuvante foi de 98%. A taxa combinada de resposta patológica completa e resposta clínica completa sustentada foi significativamente maior no braço TNT (21,8% X 12,3%, $p=0.002$). Não houve diferença na sobrevida livre de metástases ou em recorrência locorregional. Entretanto, o braço TNT obteve sobrevida global melhor (86,5% X 71,5%, $p=0.033$) (Jin *et al.*, 2022).

No estudo RAPIDO foi comparada a radioterapia de curso curto (2500 cGy em 5 frações) seguida por 18 semanas de CAPOX/FOLFOX4 (braço TNT) com radioquimioterapia de longo curso padrão e 24 semanas de CAPOX/FOLFOX4 adjuvante se estipulado pelo centro participante. Este estudo foi composto por participantes com diagnóstico de câncer do reto de alto risco, como: cT4 e ou cN2, fásia mesorretal comprometida e linfadenopatia lateral pélvica. No braço TNT ocorreu

maior taxa de resposta patológica completa (28,4% X 14,3%, $p < 0.0001$), menor taxa de falha do tratamento relacionada à doença (23,7% X 30,4%, $p = 0.019$) e menor taxa de metástases (20% X 26,8%, $p = 0.0048$). Não houve diferença em termos de sobrevida global entre os grupos. A partir dos dados de seguimento a longo prazo foi identificada maior taxa de recorrência local no braço TNT (10,2% X 6,1%) (Bahadoer *et al.*, 2021; Dijkstra *et al.*, 2023).

Um bom exemplo de quimioterapia de indução associada à radioquimioterapia de longo curso como TNT é o estudo PRODIGE-23. Neste foi comparado 12 semanas de indução com FOLFIRINOX (fluorouracil, leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin) seguido por radioquimioterapia de longo curso (5000 cGy em 5 semanas e capecitabina associada) e 3 meses de quimioterapia adjuvante com radioquimioterapia de longo curso e 6 meses de quimioterapia adjuvante, em indivíduos com estágio cT3/4 M0. Houve alta taxa de resposta patológica completa para o braço TNT (27,5% X 11,7%, $p < 0.0001$). A sobrevida livre de doença em 3 anos foi melhor no grupo TNT (75,7% X 68,5%, $p=0,034$). A aceitação completa dos 6 ciclos de FOLFIRINOX foi 92%. Resultados de seguimento a longo prazo identificaram melhora nos resultados de sobrevida para o braço TNT. Houve aumento absoluto de 7,6% na sobrevida livre de doença, 6,9% de aumento absoluto em sobrevida global em 5 anos. Aparentemente, esta é a primeira evidência de aumento na sobrevida global a longo prazo com o uso da TNT (Conroy *et al.*, 2021; Etienne *et al.*, 2023).

Quanto ao uso da TNT com radioquimioterapia de longo curso seguida por quimioterapia de consolidação, há alguns estudos. O CAO/ARO/AIO-12 comparou quimioterapia de consolidação com indução em TNT para câncer do reto. Este foi um estudo multicêntrico, prospectivo e randomizado, com inclusão de indivíduos com tumores cT3-4 and/ou N+ que foram randomizados para dois grupos: quimioterapia de indução (3 ciclos de FOLFOX seguido por radioquimioterapia 5040 cGy com fluorouracil e oxaliplatina) ou quimioterapia de consolidação (3 ciclos de FOLFOX após a radioquimioterapia). O desenho do estudo permitiu que, para o braço da consolidação, houvesse maior intervalo entre o término da radioquimioterapia e o momento da operação (mediana de 90 dias X 45 dias). O grupo da consolidação atingiu maior taxa de resposta patológica completa (25% X 15%). A partir da última atualização do estudo não foi identificada diferença entre os grupos em termos de

sobrevida livre de doença em 3 anos, recorrência locorregional em 3 anos e taxa de metástases (Fokas *et al.*, 2019; Fokas *et al.*, 2022).

No estudo OPRA (Organ Preservation in Rectal Adenocarcinoma), pacientes com câncer do reto, estadio II ou III, foram randomizados para dois braços: quimioterapia de indução (FOLFOX/CAPOX por 16-18 semanas seguido por radioquimioterapia de longo curso) ou quimioterapia de consolidação (radioquimioterapia de longo curso seguida por FOLFOX/CAPOX por 16-18 semanas). Para ambos os braços, os pacientes que tivessem atingido resposta clínica completa ou quase completa era oferecido tratamento não operatório. Não houve diferença em sobrevida livre de doença em 3 anos entre os grupos. Entretanto, o grupo da consolidação obteve vantagem em 2 variáveis: maior sobrevida livre de excisão total do mesorreto em 5 anos (54% X 39%) e menor taxa de recrescimento tumoral local (27% X 40%) (Garcia-Aguilar *et al.*, 2022; Verheij *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, a quimioterapia neoadjuvante exclusiva, sem associação com radioterapia, tem sido empregada no câncer do reto como uma nova estratégia de tratamento. O objetivo é poupar alguns casos da radioterapia e de sua toxicidade. É o caso analisado no estudo PROSPECT, no qual foi investigado se a quimioterapia neoadjuvante (FOLFOX) poderia substituir a radioquimioterapia padrão. No estudo PROSPECT foi avaliada a não-inferioridade da quimioterapia neoadjuvante FOLFOX seguida por radioquimioterapia somente nos não respondedores comparada com a radioquimioterapia neoadjuvante padrão. Os participantes possuíam tumores classificados como estadio II ou III e seus casos eram passíveis de ressecção anterior com preservação esfínteriana. O objetivo primário do estudo era sobrevida livre de doença. O braço experimental foi composto por 585 indivíduos e em 532 (91%) foi possível omitir a radioquimioterapia neoadjuvante. Foi encontrado o critério para não-inferioridade do grupo experimental (Schrag *et al.*, 2023).

Atualmente, está bem estabelecido que uma proporção significativa dos pacientes com câncer do reto que recebem radioquimioterapia neoadjuvante atingem resposta patológica completa. Em torno de 20% dos indivíduos tratados com radioquimioterapia neoadjuvante de longo curso apresentam resposta patológica completa à análise da peça operatória. Este número aumenta ainda mais com as estratégias de TNT. Os pacientes que atingem resposta patológica completa possuem bom prognóstico (Maas *et al.*, 2010; Garcia-Aguilar *et al.*, 2015).

Porém, a excisão total do mesorreto impacta a qualidade de vida dos pacientes. As disfunções intestinais, urinárias e sexuais acometem até 80% desta população (Ho *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2015). Desta forma, graças à elevada taxa de resposta tumoral associada às novas modalidades de terapia neoadjuvante, a necessidade da excisão total do mesorreto para todos os doentes têm sido questionada. Alguns pesquisadores têm sugerido a implementação de estratégias de tratamento não operatórias em indivíduos que tenham atingido resposta clínica completa, ou seja, ausência de tumor macroscópico identificável clinicamente (Habr-Gama *et al.*, 2004).

Watch and Wait é uma estratégia de preservação de órgão, para indivíduos que tenham atingido resposta clínica completa, desenvolvido pela Professora Angelita Habr-Gama. O estudo inicial desta estratégia foi composto por pacientes com adenocarcinoma do reto distal tratados com radioquimioterapia de longo curso padrão. Aqueles que atingiram resposta clínica completa passam para um programa de acompanhamento regular e não foram operados. Estes tiveram sobrevida global em 5 anos de 100% e sobrevida livre de doença em 5 anos de 92%. Enquanto aqueles que tiveram resposta clínica incompleta e foram operados obtiveram sobrevida global e livre doença de 88% e 83%, respectivamente. O seguimento a longo prazo deste estudo identificou 31% de recrescimento local nos casos que atingiram resposta clínica completa e foram seguidos. Somente 2 casos de 28 que apresentaram recrescimento tiveram doença não resgatável operatoricamente (Habr-Gama *et al.*, 2004; Habr-Gama *et al.*, 2014).

Um dos principais desafios para implementação da estratégia Watch and Wait é a seleção correta dos pacientes. Para identificação de possíveis respondedores completos são utilizados 3 exames: exame digital retal, exame endoscópico e Ressonância Magnética (RM). Nenhum destes, de forma isolada, possui acurácia satisfatória. Entretanto, quando os achados dos três exames são consistentes com ausência de tumor residual a acurácia pode chegar a 98% (Maas *et al.*, 2015). Por conseguinte, atualmente a definição de cCR é a ausência de tumor residual identificável aos três métodos. Não obstante, a realização de biópsias em leito tumoral possui valor preditivo negativo muito baixo para presença de células tumorais.

A Ressonância Magnética tem auxiliado na identificação dos respondedores completos. Em tentativas de aumentar a acurácia do método tem sido empregado tecnologia de difusão-pesada, comparações de volumetria tumoral e emprego de

classificações quanto ao grau de regressão tumoral (TRG) com resultados animadores (Lambregets *et al.*, 2011; Martens *et al.*, 2015; Patel *et al.*, 2012).

Os candidatos naturais à estratégia Watch and Wait são aqueles indivíduos com tumores estadios II e III, do terço distal do reto, tratados com radio-quimioterapia neoadjuvante e que atingiram cCR. Entretanto, outro grupo tem sido estudado. Tumores mais precoces, especificamente estadio I, do terço distal do reto, onde estaria contraindicada a ressecção local, mas que existe chance de amputação abdominoperineal. Nesse grupo, o uso de radio-quimioterapia neoadjuvante visa atingir cCR e possibilitar o emprego da estratégia WW, poupando-os da morbidade de uma excisão total do mesorreto e amputação abdominoperineal. Os resultados nesta população são animadores, com taxas de cCR acima de 70% (Habr-Gama *et al.*, 2019). Entretanto, o emprego de terapia radio-quimioterápica em tumores precoces pode não atingir cCR. Isso acarretará à exposição desses indivíduos à morbidade da terapia neoadjuvante desnecessariamente e acabarão sendo operados igualmente. Esse fato deve ser comparado com os excelentes resultados de controle local e sobrevida que a ETM possui para os tumores precoces do terço distal do reto (Taylor *et al.*, 2011).

O recrescimento local do tumor ocorre em aproximadamente 25% dos pacientes que atingiram cCR e estão em programa de preservação WW (Kong *et al.*, 2017). Aparentemente, quanto maior o estágio T pré-neoadjuvância maior a possibilidade de recrescimento local (Chadi *et al.*, 2018). Felizmente, a maioria dos casos de recrescimento local do tumor podem ser resgatados operatoricamente. A operação padrão nesta situação é a ETM e há possibilidade de preservação esfinteriana em mais da metade dos casos. A partir de análises retrospectivas, pacientes resgatados operatoricamente, após recrescimento local do tumor, possuem sobrevida global e livre de doença semelhante aos indivíduos que foram operados radicalmente desde o início por não terem atingido cCR (Habr-Gama *et al.*, 2014). Entretanto, nos últimos anos, alguns estudos encontraram uma taxa ligeiramente maior de doença metastática nos indivíduos que apresentaram recrescimento local quando comparados aos que não tiveram (Smith *et al.*, 2019).

Importante notar que o recrescimento local do tumor, em uma estratégia WW, não deve ser considerado equivalente à recorrência local. Nesta, a terapia definitiva

foi empregada e falhou. A possibilidade de resgate operatório é bem menor e com prognóstico substancialmente pior.

Justamente pela ocorrência de recrescimento tumoral em pelo menos 25% dos pacientes em estratégia WW é fundamental o emprego de políticas de seguimento rigorosas. Não há consenso quanto à frequência das reavaliações e exames a serem realizados. Mas é fato que esses doentes devem ser seguidos cuidadosamente, em especial nos primeiros 3 anos (Fernandez *et al.*, 2021).

O banco de dados internacional Watch and Wait (IWWD) tem proporcionado informações a respeito do seguimento a longo prazo. A partir deste, Van der Valk encontrou que 88% dos recrescimentos ocorrem nos primeiros 2 anos de seguimento e 97% do recrescimento local ocorre na parede retal, o que reforça a necessidade de acompanhamento endoscópico regular (Van Der Valk *et al.*, 2018). Em outro estudo, Fernandez *et al.* encontraram que pacientes sem recrescimento em 2 anos continuaram com baixa probabilidade de recorrência local e sistêmica em 3 a 5 anos, o que sugere que a intensidade de seguimento poderia ser reduzida neste período (Fernandez *et al.*, 2021). Da mesma forma, dados extraídos do IWWD retratam que indivíduos com cCR na primeira reavaliação quando comparados com indivíduos que atingiram cCR somente após a primeira reavaliação não possuem diferença quanto à preservação de órgão em 2 ou 5 anos, tampouco quanto à sobrevida livre de metástases e sobrevida global (Temminck *et al.*, 2023).

Qualidade de vida deve ser levada em consideração no momento da decisão terapêutica para o câncer do reto. Diferentes autores têm chegado à conclusão que a estratégia WW proporciona melhores índices de qualidade de vida quando comparada ao tratamento operatório em indivíduos com pCR. As taxas de sobrevida livre de ostomia são substancialmente maiores no grupo WW. Aparentemente, a satisfação física, emocional e cognitiva de pacientes em estratégia WW também é melhor (Martens *et al.*, 2015).

Entretanto, há crítica à estratégia WW. Essa política foi desenvolvida a partir de análises retrospectivas, onde não há claros critérios da seleção de pacientes, de esquemas neoadjuvantes, do momento do reestadiamento, do padrão a ser encontrado nas RMs, do cronograma de seguimento, entre outros. Mas é fato que, apesar das críticas, essa estratégia de preservação de órgão tem apresentado resultados promissores. Diferentes autores têm encontrado taxas de sobrevida global

em 5 anos acima de 90%. Há ainda um longo caminho a ser percorrido pela pesquisa, mas certamente a estratégia WW já possui espaço no tratamento do câncer do reto.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o padrão de regressão tumoral e a distribuição das células tumorais residuais após radioterapia de curso curto e quimioterapia de consolidação em câncer do reto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar fatores clínico-patológicos associados ao padrão de regressão tumoral e à distribuição das células tumorais residuais;
- Identificar critérios radiológicos pela RM associados ao padrão de regressão tumoral e à distribuição das células tumorais residuais;
- Identificar marcadores imuno-histoquímicas, em biópsias pré-neoadjuvância, associados ao padrão de regressão tumoral e à distribuição das células tumorais residuais.

MÉTODO

4 MÉTODO

4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este trabalho obedece à resolução 196/96 das Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde, tendo sido submetido previamente ao Comitê Nacional de Ética em Pesquisa através da submissão na Plataforma Brasil, parecer CAAE número 57907222.6.0000.8153. Todos os participantes são informados a respeito dos detalhes do estudo e assinam Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O presente estudo foi realizado na Unidade de Coloproctologia do Instituto Hospital de Base do Distrito Federal, de janeiro de 2022 a junho de 2023. As análises anatomopatológicas e imunomarcações foram realizadas na Unidade de Anatomopatologia do Instituto Hospital de Base do Distrito Federal.

4.2 CASUÍSTICA

O estudo incluiu 40 indivíduos consecutivos com diagnóstico histológico de adenocarcinoma do reto extraperitoneal (≤ 10 cm da margem anal) definido à RM, T3 ou T4 com N0 ou N+, tratados com radioquimioterapia neoadjuvante, aos moldes do RAPIDO trial, seguido por excisão total do mesorreto. Pacientes com câncer colorretal sincrônico ou outros cânceres não colorretais, doença estadio IV, câncer do reto em contexto de doença inflamatória intestinal ou polipose adenomatosa familiar, ressecções paliativas, exposição prévia à radioterapia ou quimioterapia, perda da expressão das enzimas de reparo e aqueles que atingiram resposta clínica completa (cCR) foram excluídos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade igual ou acima de 18 anos,
- Adenocarcinoma do reto extraperitoneal (≤ 10 cm da margem anal) definido à RM,
- Estadiamento clínico T3 ou T4 com N0 ou N+ e M0,
- Radioquimioterapia neoadjuvante aos moldes do RAPIDO trial (Bahadoer *et al.*, 2021),
- Tratamento operatório por meio de excisão total do mesorreto.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Câncer colorretal sincrônico ou outros cânceres sincrônicos,
- Câncer do reto em indivíduos com doença inflamatória intestinal,
- Câncer colorretal associado à polipose adenomatosa familiar,
- Exposição prévia à radioterapia ou quimioterapia,
- Operação em caráter paliativo,
- Perda da expressão das enzimas de reparo de DNA,
- Presença de cCR.

4.3 ESTADIAMENTO ANTES DA NEOADJUVÂNCIA

A avaliação e estadiamento iniciais dos participantes deste trabalho consistiram em:

1. História clínica,
2. Palpação abdominal e inguinal,
3. Inspeção perineal e perianal,
4. Toque retal,
5. Anuscopia,

6. Retoscopia rígida com mensuração da distância da margem inferior do tumor à borda anal,
7. Colonoscopia com descrição a respeito da presença ou não de estenose (comprometimento circunferencial da luz retal e consequente diminuição luminal) e a respeito da transponibilidade do tumor ao colonoscópio,
8. Tomografia computadorizada do tórax com contraste endovenoso,
9. Tomografia computadorizada do abdômen e pelve com contraste endovenoso,
10. Ressonância magnética da pelve com protocolo dedicado ao câncer do reto,
11. Dosagem do CEA (Antígeno Carcinoembrionário).

4.4 REESTADIAMENTO APÓS A NEOADJUVÂNCIA

O reestadiamento ocorreu após o término da quimioterapia, de uma a seis semanas antes da operação, e foi composto por exame proctológico completo, retossigmoidoscopia flexível e RM de pelve. Para os pacientes que atingiram critérios de uma cCR foi ofertada a estratégia Watch and Wait.

4.5 IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Os exames de Ressonância Magnética foram realizados através de cortes finos, em alta resolução espacial (1 a 3mm), com técnica em T2 ponderado. As imagens do reto em corte sagital, T2 ponderado, foram obtidas logo no início para localizar o tumor e possibilitar o planejamento do corte axial. Corte axial de 3 mm, T2 ponderado, da pelve foram realizados em um plano perpendicular à parede retal, incluindo o tumor e 5 cm acima. Quando o tumor estava próximo ou envolvendo o canal anal, corte coronal também foi realizado.

No estadiamento inicial, o radiologista descrevia as seguintes informações, conforme as diretrizes clínicas do *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*®:

- 1 Distância da borda inferior do tumor até a margem anal e até o anel anorretal,
- 2 Medidas tumorais,
- 3 Morfologia tumoral,
- 4 Estádio T,
- 5 Estádio N, o número de linfonodos suspeitos e depósitos tumorais no mesorreto. Linfonodos mesorretais foram considerados suspeitos quando maiores de 10 mm e formato arredondado ou quando apresentavam tamanho de 5 a 9 mm com formato irregular e intensidade de sinal heterogêneo. Os mesmos critérios foram utilizados no reestadiamento (Bahadoer *et al.*, 2021),
- 6 Relação do tumor com a fáscia mesorretal e a distância entre estes,
- 7 Avaliação dos linfonodos extramesorretais. No estadiamento inicial, estes foram considerados comprometidos quando seu diâmetro era maior de 10 mm ou com formato irregular e intensidade de sinal heterogêneo. Para o reestadiamento, os linfonodos extramesorretais foram considerados comprometidos com diâmetro ≥ 4 mm (Bahadoer *et al.*, 2021),
- 8 Nos tumores T3 a extensão extramural,
- 9 Presença ou não invasão venosa extramural (EVMl).

Por sua vez, a RM no reestadiamento, após a neoadjuvância, deve relatar as informações anteriores acrescida dos seguintes aspectos:

- 1 Presença ou não de doença residual.
- 2 Presença ou não de fibrose.
- 3 Grau de regressão tumoral de acordo com o sistema de Mandard.
- 4 Presença ou não de *Downsizing* $\geq 50\%$ (diminuição em pelo menos metade da maior medida tumoral).
- 5 Presença ou não de *Downstaging* (regressão do estadio).

O grau de regressão tumoral adotado na avaliação na RM é o descrito por Mandard e segue a seguinte ordem (Mandard *et al.*, 1994; Patel *et al.*, 2011):

- TRG 1 indica ausência de qualquer sinal tumoral,
- TRG2 indica pequena quantidade de tumor residual visível com predomínio de sinal com baixa intensidade sugestivo de fibrose,
- TRG 3 denota área mista com sinal baixo sugestivo de fibrose e sinal intermediário sugestivo de doença residual,
- TRG 4 indicativo de predominância de tumor e mínima fibrose,
- TRG 5 composto apenas por células tumorais.

Pacientes são considerados como respondedores completos pela RM quando há dissolução completa do tumor com uma intensidade de sinal baixa e homogênea em T2, com características de fibrose e nenhum sinal de tumor residual. Além de nenhum envolvimento linfonodal e nenhum sinal de invasão venosa extramural. Intensidade de sinal homogênea e linfonodos com limites precisos foram considerados livres de comprometimento (Stijns *et al.*, 2023; Maas *et al.*, 2015).

4.6 DEFINIÇÃO DE RESPOSTA CLÍNICA COMPLETA (CCR)

Definida como ausência de tumor identificável ao exame físico, endoscópico e por RM. Ao exame endoscópico é permitido a presença de área de palidez ou telangiectasia substituindo a área tumoral (Habr-Gama *et al.*, 2010).

4.7 DEFINIÇÃO DE RESPOSTA PATOLÓGICA COMPLETA (PCR)

Definida como ausência de células cancerosas, à análise microscópica, em qualquer porção da peça operatória (College of American Pathologists. Version 4.2.0.2. June 2022).

4.8 RADIOTERAPIA E QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE

O esquema de radioquimioterapia neoadjuvante foi composto por radioterapia de Curso Curto (5 X 5Gy) seguida por 6 ciclos de quimioterapia com CAPOX (capecitabina 1000 mg /m² duas vezes por dia entre os dias 1-14, oxaliplatina 130 mg/m² intravenosa no dia 1, e um intervalo livre de quimioterapia entre os dias 15-21 (Bahadoer *et al.*, 2021).

4.9 TRATAMENTO OPERATÓRIO – EXCISÃO TOTAL DO MESORRETO

Os pacientes foram operados de 2 a 8 semanas após o término da quimioterapia. A proctectomia foi realizada seguindo os princípios oncológicos preconizados para a excisão total do mesorreto, com ou sem preservação esfinteriana a depender da presença ou não de invasão da musculatura elevadora do ânus e ou estojo esfinteriano. De acordo com esses princípios, o reto é ressecado juntamente com todo o tecido adiposo e linfovascular circundado por sua fáscia própria. Quando o tumor invadia outras estruturas, estas eram removidas em bloco juntamente com reto. Em todos os casos, a ligadura da artéria mesentérica inferior ocorreu na sua origem.

4.10 ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA

Um protocolo foi desenvolvido para análise anatomopatológica das peças operatórias deste estudo. Todos os espécimes tiveram a sua análise macroscópica realizada antes da fixação em formalina e foram foto documentados (Fig. 1). A qualidade da Excisão Total do Mesorreto é avaliada de acordo com os princípios de Nagtgaal (Nagtgaal *et al.*, 2002). A superfície externa do reto era pintada de cores diferentes, da seguinte forma: quadrante anterior com cor azul, quadrante posterior com cor verde, quadrante lateral direito com cor amarela e quadrante lateral esquerda com cor preta (Fig. 2).

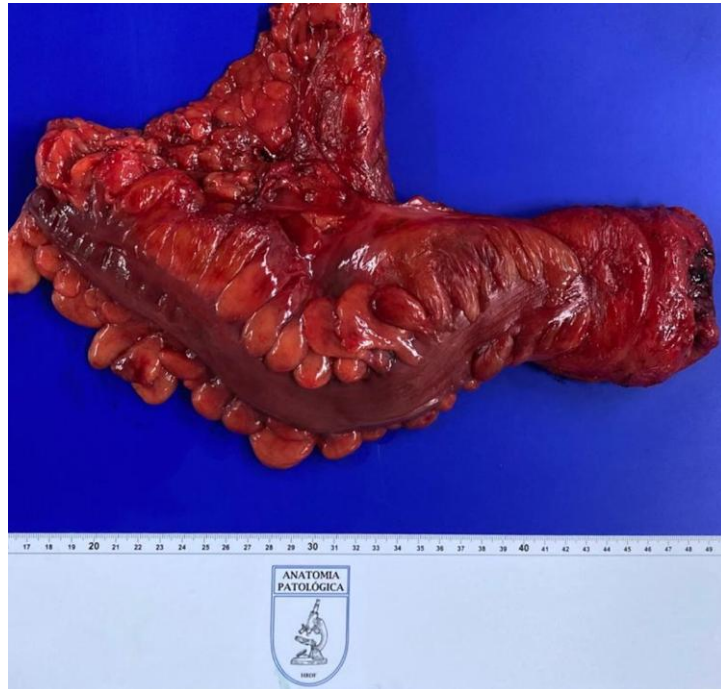


Figura 1 – Análise macroscópica de peça operatória – retossigmoide

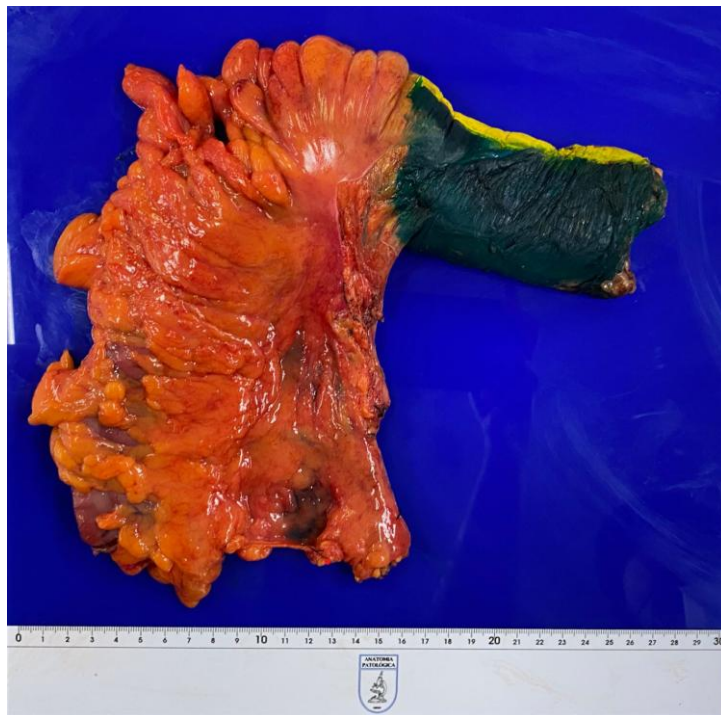


Figura 2 – Pintura de peça operatória – retossigmoide

Todas as peças operatórias foram abertas longitudinalmente através da borda antimesentérica procurando poupar o tumor. O aspecto macroscópico da lesão remanescente era descrito, sua localização, bem como a medida exata da mesma e de sua margem distal e proximal (Fig. 3 e 4). Após fixação em formalina a 4% por 48 horas, os espécimes eram marcados. A partir dos limites superior, inferior e laterais do tumor remanescente marcava-se uma distância de 4 cm para cada direção (Fig. 5). Nos casos onde não havia tecido a uma distância de 4 cm, era analisado todo o segmento existente. A seguir, essa área, composta por todo tumor e margens com 4 cm de distância, era dividida em quadrados de 1X1 cm em espessura total (Fig. 6, 7 e 8). O restante da peça operatória foi cortada transversal e perpendicularmente, em espessura aproximada de 1 cm, ao eixo longitudinal do reto até o pedículo vascular. As amostras teciduais foram embebidas em parafina e cortes de 3 μ m foram realizados. Coloração com hematoxilina e eosina foi empregada. O exame microscópico foi realizado de acordo com o protocolo estabelecido pelo Colégio Americano de Patologistas e baseado no AJCC TNM 8th Edition (College of American Pathologists. Version 4.2.0.2. June 2022; Amin *et al.*, 2017).



Figura 3 – Segmento retal aberto para identificação de morfologia e localização da lesão residual



Figura 4 – Peça operatória aberta para medida da lesão residual



Figura 5 – Limites macroscópicos do tumor ou da lesão residual



Figura 6 – Esquematização para os cortes da área tumoral e peritumoral



Figura 7 – Cortes transversais da peça operatória



Figura 8 – Cortes finais a serem emblocados

Os linfonodos foram definidos como agregados linfoides encapsulados com folículos linfoides residuais independentemente do tamanho. Os depósitos tumorais foram definidos como nódulos tumorais no mesorreto sem contiguidade com o tumor primário e sem evidência de arquitetura linfonodal, independentemente de tamanho (College of American Pathologists. Version 4.2.0.2. June 2022).

Os linfonodos e depósitos tumorais foram classificados de acordo com a sua localização, seguindo a Classificação Japonesa de Carcinoma Colorretal (3rd edition), da seguinte maneira: perirretais quando identificados entre a margem distal da peça operatória até a origem da artéria sigmoideana terminal; intermediários aqueles situados ao longo do tronco artéria mesentérica inferior; centrais aqueles encontrados entre a base da ligadura artéria mesentérica inferior e a emergência do ramo ascendente da cólica esquerda (Japanese Classification of Colorectal Carcinoma. 3rd English edition). (Fig. 9 e 10).

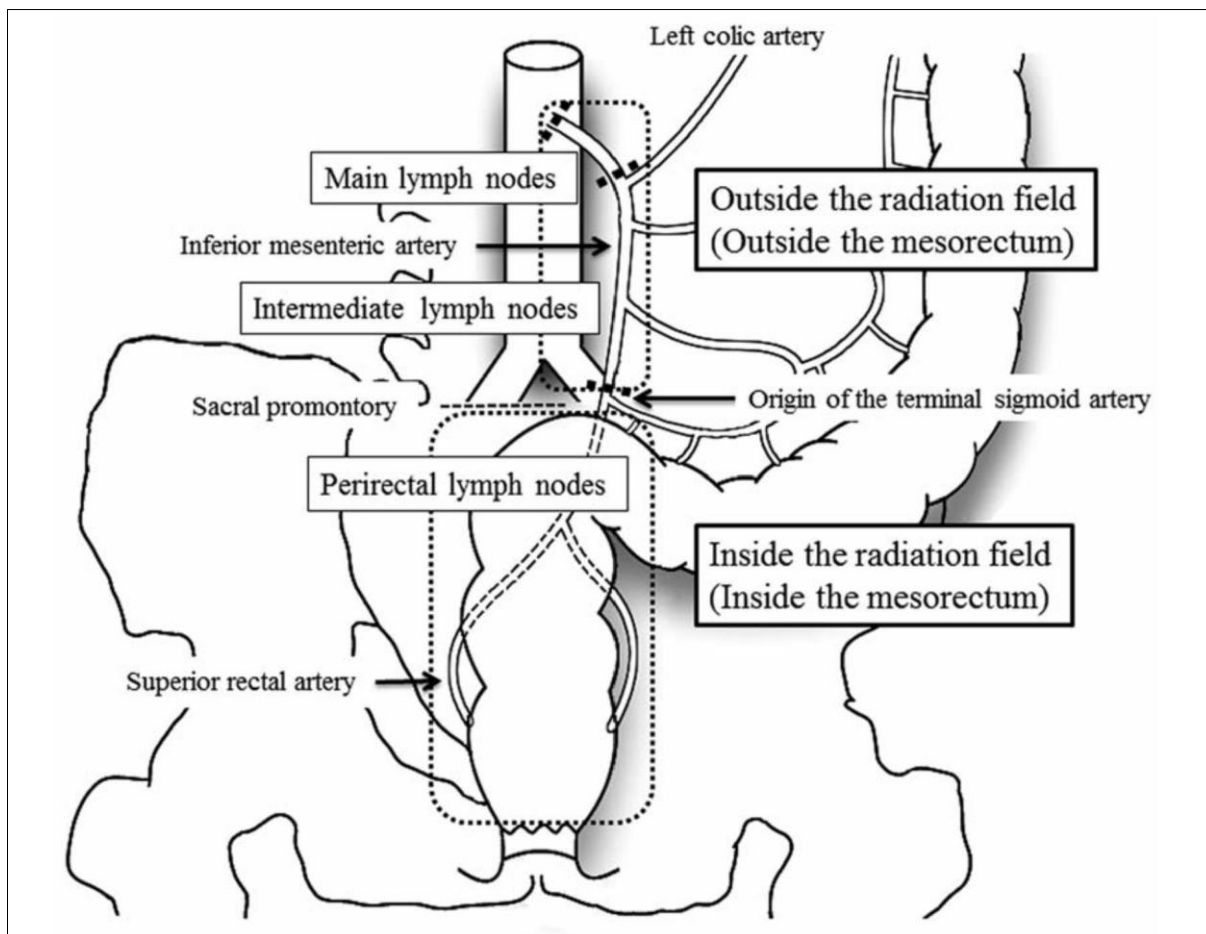


Figura 9 – Distribuição linfonodal segundo Classificação Japonesa de Câncer Colorretal – Desenho extraído de OKADA *et al.*, 2014.

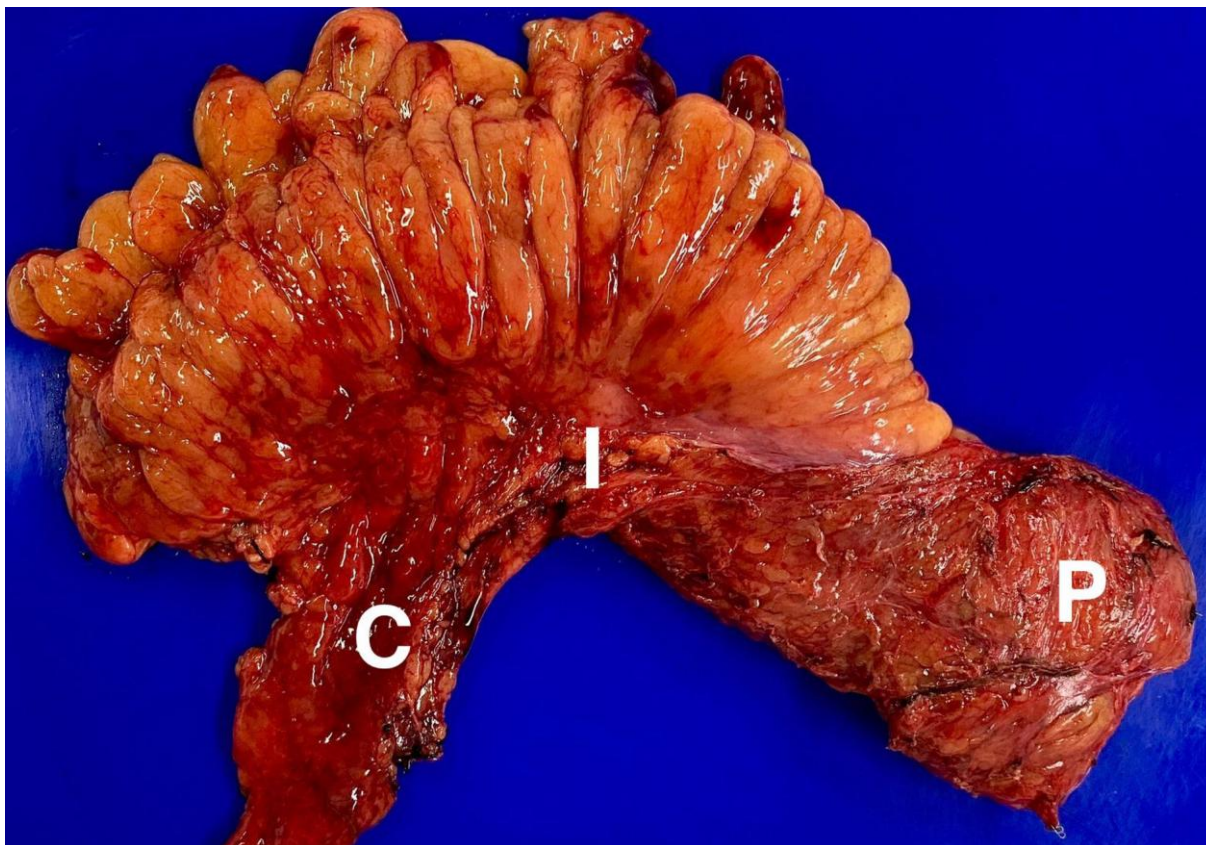


Figura 10 – Distribuição linfonodal segundo classificação japonesa, peça operatória (retossigmoide) referente ao paciente 12.

O grau de regressão tumoral foi analisado a partir do sistema de Mandard. A distribuição da doença residual na parede retal e mesorreto foi examinada. Nos casos onde existia doença residual, a presença de células tumorais residuais (CTR) na mucosa, submucosa, muscular e tecido adiposo perirretal foi relatado em cada bloco analisado de cada paciente (Fig. 11). Foi utilizado um modelo de distribuição das CTR pelas camadas retais, já empregado em câncer de esôfago, da seguinte forma (Shapiro *et al.*, 2013):

Tipo I – regressão em direção ao lúmen com mais células tumorais na mucosa e submucosa.

Tipo II – regressão em direção à frente invasiva com mais células tumorais na muscular e tecido adiposo perirretal.

Tipo III – regressão concêntrica com mais células tumorais na submucosa e muscular.

Tipo IV – regressão salteada com quantidade comparável de células tumorais em todas as camadas.

O padrão de regressão tumoral foi classificado como fragmentado ou sólido e com ou sem extensão tumoral intramural microscópica (ETIM). O padrão fragmentado foi definido como a presença de aglomerados de células tumorais separados entre si, por tecido fibrótico ou normal, por pelo menos 1 mm. O padrão sólido foi definido como um bloco único de células tumorais circundado por fibrose ou tecido normal. Os casos de pCR foram considerados como padrão de regressão sólido. A ETIM foi definida como a presença de células tumorais subjacentes à mucosa normal por pelo menos 1 mm, ou seja, presença de células tumorais além dos limites macroscópicos da lesão residual em qualquer direção. A ETIM, quando presente, foi medida.

Cassete	Legenda	Ausência de células neoplásicas	Presença de células neoplásicas	MUCOSA	SUBMUCOSA	MUSCULAR EXTERNA (PRÓPRIA)	TECIDO PERICOLORRETAL (SUBSEROZA)
95	P3a		X			X	
96	P3b		X			X	X
97	P3c		X			X	X
98	Q1a		X			X	
99	Q1b		X	X	X	X	X
100	Q1c		X			X	X
101	Q2		X			X	X
102	Q3a		X			X	
103	Q3b		X			X	X
104	Q3c		X			X	
105	R1a		X	X	X	X	
106	R1b		X	X	X	X	X
107	R1c		X			X	
108	R1d		X			X	X
109	R2		X			X	X
110	R3a		X	X	X	X	
111	R3b		X			X	X
112	R3c		X			X	X
113	R3d		X			X	
114	S1a		X			X	X
115	S1b		X			X	X
116	S1c		X			X	
117	S1d		X			X	X

Figura 11 – Tabela criada para verificação da distribuição das células tumorais residuais pelas diferentes camadas retais – paciente 30

4.11 IMUNO-HISTOQUÍMICA

As amostras teciduais de adenocarcinoma do reto, obtidas das biópsias pré-neoadjuvância, foram fixadas em formalina a 10% e processadas rotineiramente pelo método de inclusão em parafina para análise histológica. Cortes histológicos com 3 µm de espessura de cada bloco, corados com hematoxilina eosina, foram revisados

para a seleção dos sítios de retirada dos cilindros teciduais utilizados na construção do arranjo em matriz de amostras teciduais (tissue microarray – TMA).

4.12 AVALIAÇÃO PARA CD8 E CD3

A coloração de CD8 e CD3 foi positiva quando detectada no citoplasma ou na membrana celular de linfócitos infiltrantes intratumorais (TILs) e foi avaliada por microscopia (NIKON Eclipse 55i) de acordo com a intensidade de TILs CD8+ e CD3+. As amostras foram avaliadas no aumento de 40x e a área com a maior densidade de TILs CD8+ e CD3+ adjacentes às células neoplásicas foi contada com ampliação de 400x (nº de TILs CD8+/CD3+/CGA). O número médio de TILs CD8/CD3+ em cinco campos de aumento foi incluído na avaliação. Para CD8 e CD3, uma contagem de zero TILs CD8+/CD3+ em um campo de grande aumento recebeu uma pontuação de 0, uma contagem de 1–3 TILs CD8+/CD3+ recebeu uma pontuação de 1, uma contagem de 4–10 TILs CD8+/CD3+ recebeu uma pontuação de 2, e uma contagem de >10 TILs CD8+/CD3+ recebeu uma pontuação de 3 (HUANG *et al.*, 2018). Pontuação foi considerada alta quando > 2 e baixa quando ≤ 2 (Fig. 12 e 13).

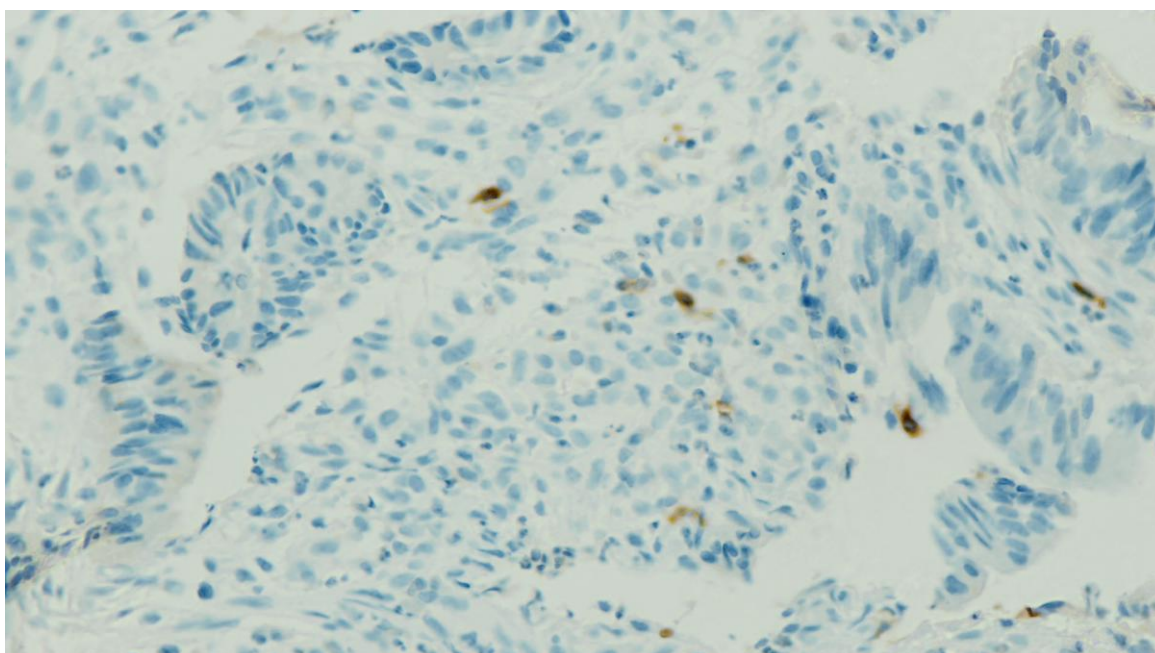


Figura 12 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de linfócitos CD8 +, 400X.

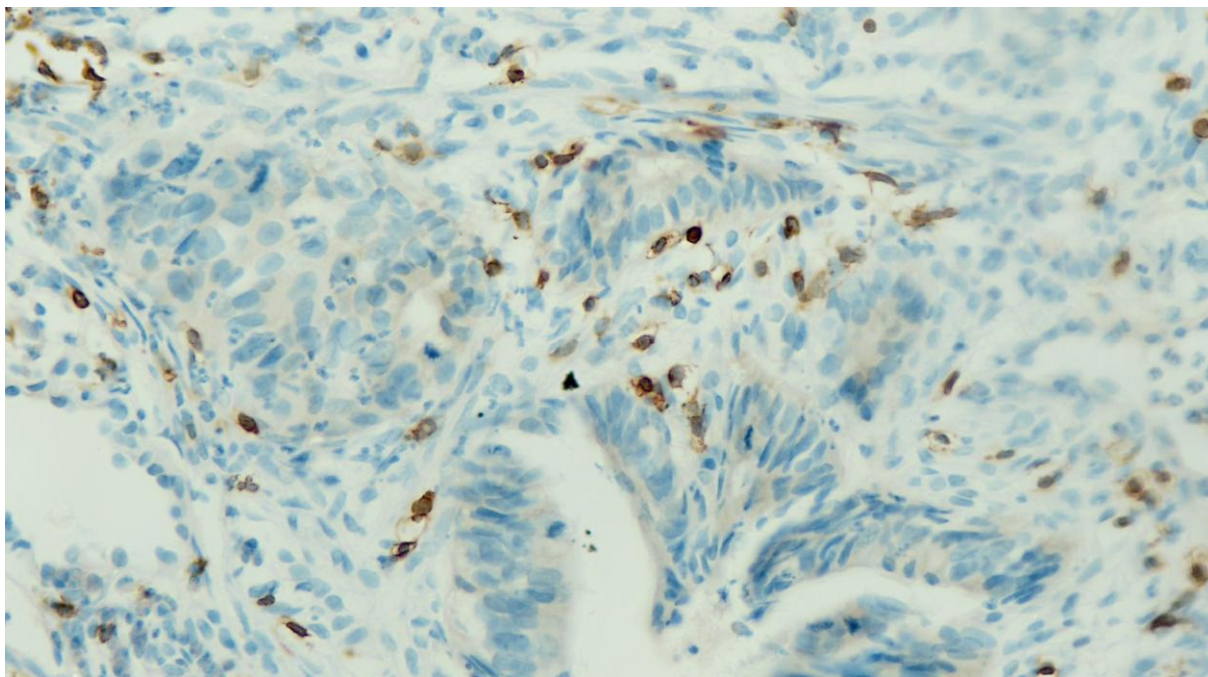


Figura 13 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de linfócitos CD3 +, 400X.

4.13 AVALIAÇÃO PARA PDL-1

A avaliação para expressão de PDL-1 foi realizada através do clone 22C3 anti-PD-L1, utilizando o método H-score modificado (MHS). Este método soma a expressão de células tumorais e células inflamatórias mononucleares intratumorais com expressão de PD-L1 em padrão membrana, tendo diferente peso para cada intensidade de expressão: fraca (1+), moderada (2+), forte (3+). O valor final é calculado através da fórmula: $MHS = [(\% \text{ células positivas } 1+) \times 1] + [(\% \text{ de células positivas } 2+) \times 2] + [(\% \text{ células positivas } 3+) \times 3]$ com o resultado variando de 0 a 300 e sendo considerado positivo quando $MHS \geq 1$ (Fig. 14 e 15) (Dolled-Filhart *et al.*, 2016).

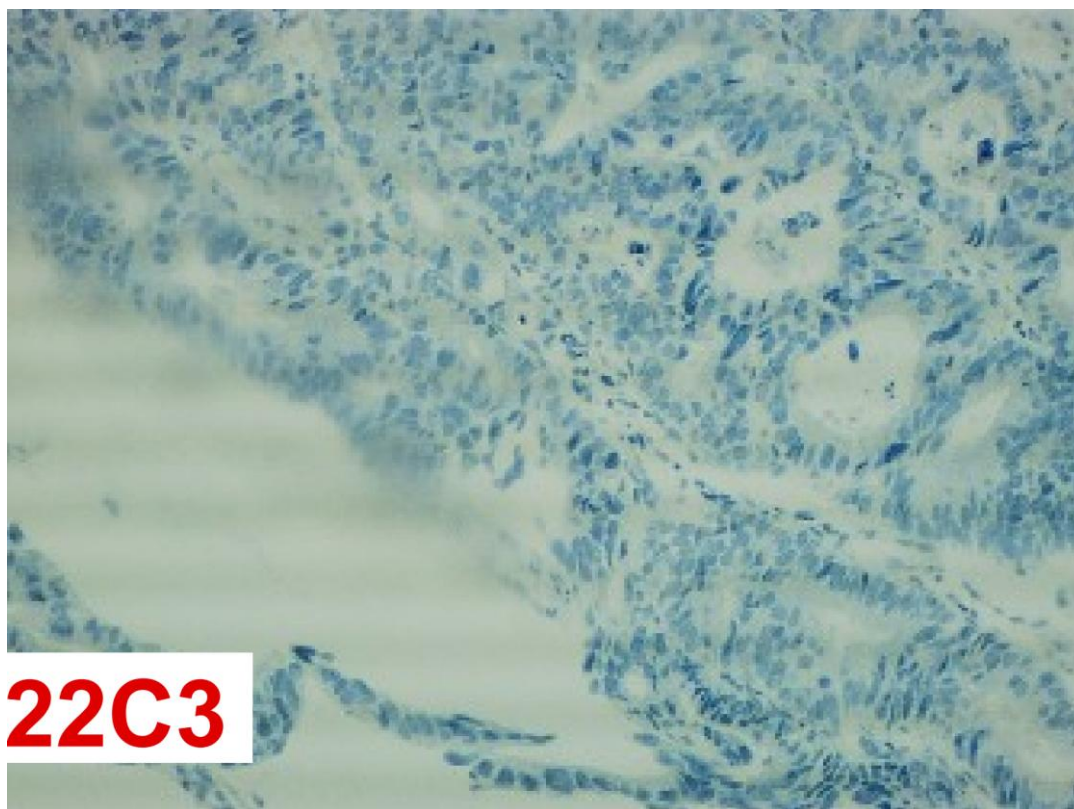


Figura 14 – Ausência de expressão imuno-histoquímica de PD-L1, 400X.

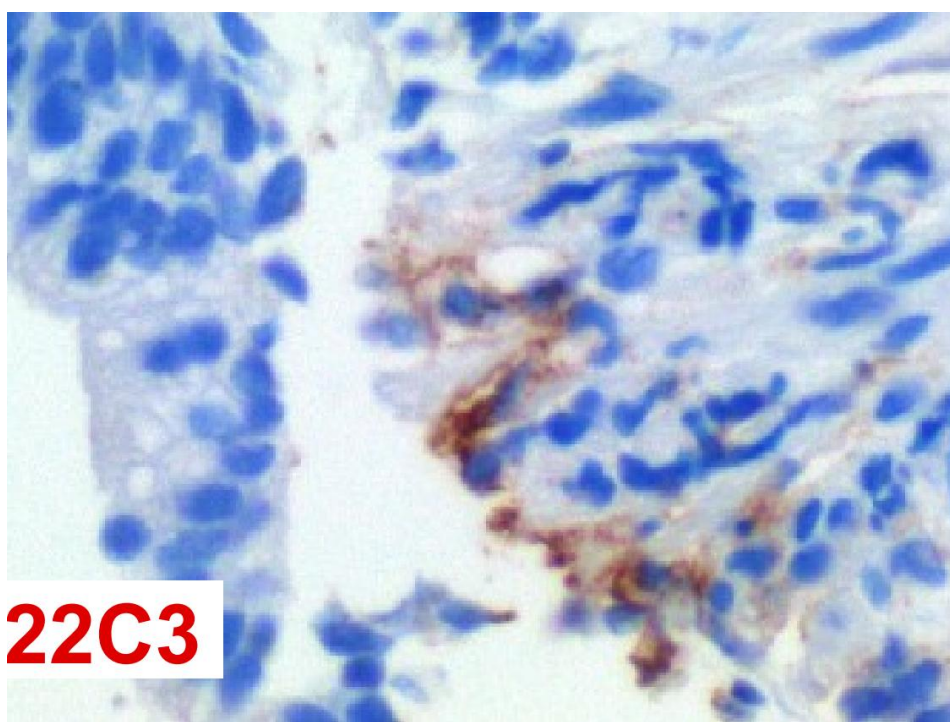


Figura 15 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) de PD-L1, 400X.

4.14 AVALIAÇÃO PARA EXPRESSÃO DAS ENZIMAS DE REPARO DE DNA

Quanto à imunorreatividade para MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2, o resultado é considerado negativo (perda da expressão) quando não há marcação nuclear nas células tumorais na presença de marcação nuclear nas células epiteliais e linfócitos (Fig. 16, 17, 18 e 19).

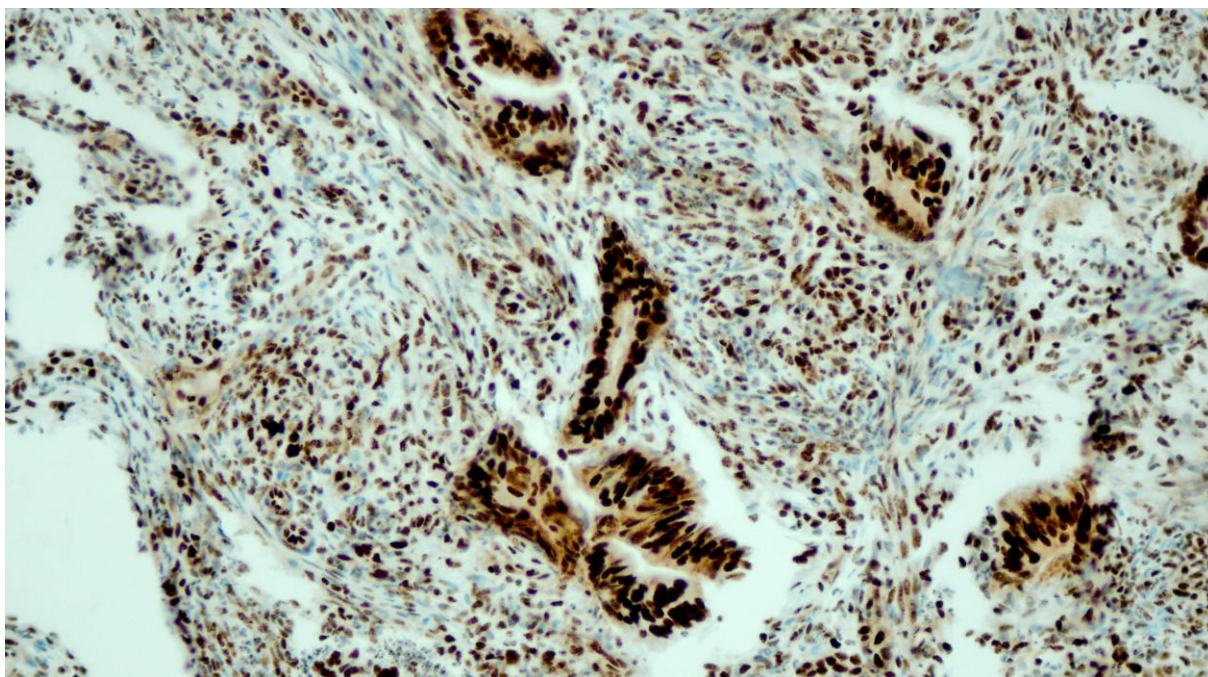


Figura 16 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MLH1, 400X.

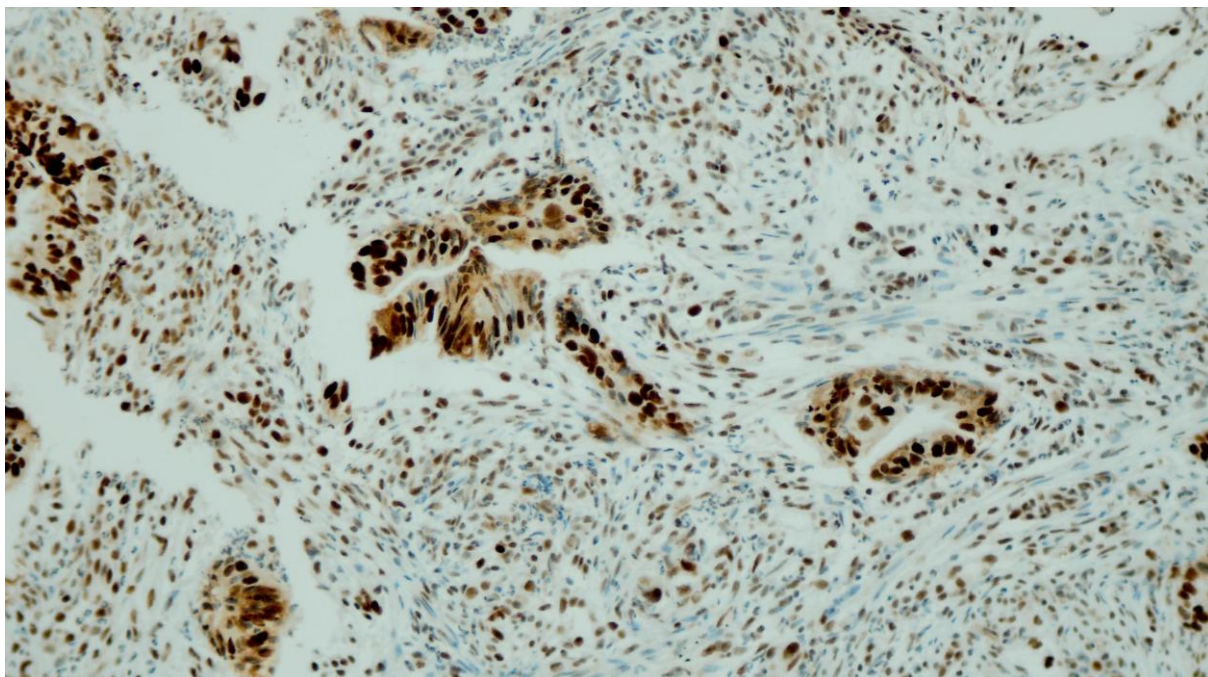


Figura 17 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MSH2, 400X.

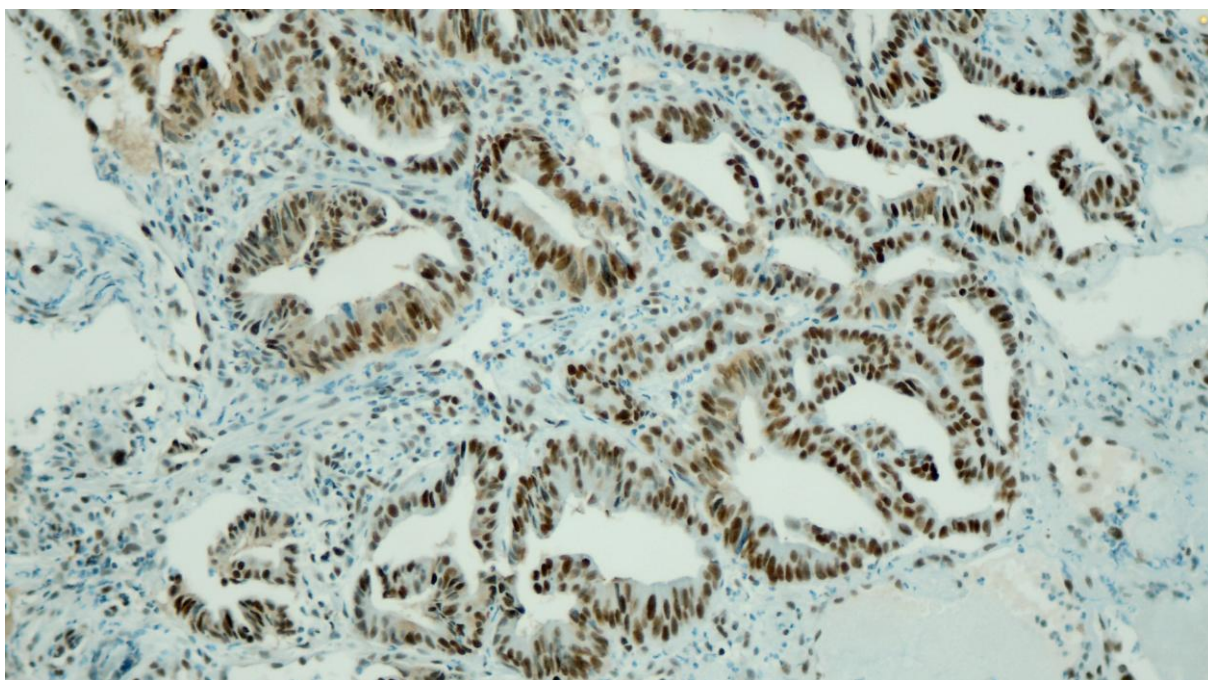


Figura 18 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de MSH6, 400X.

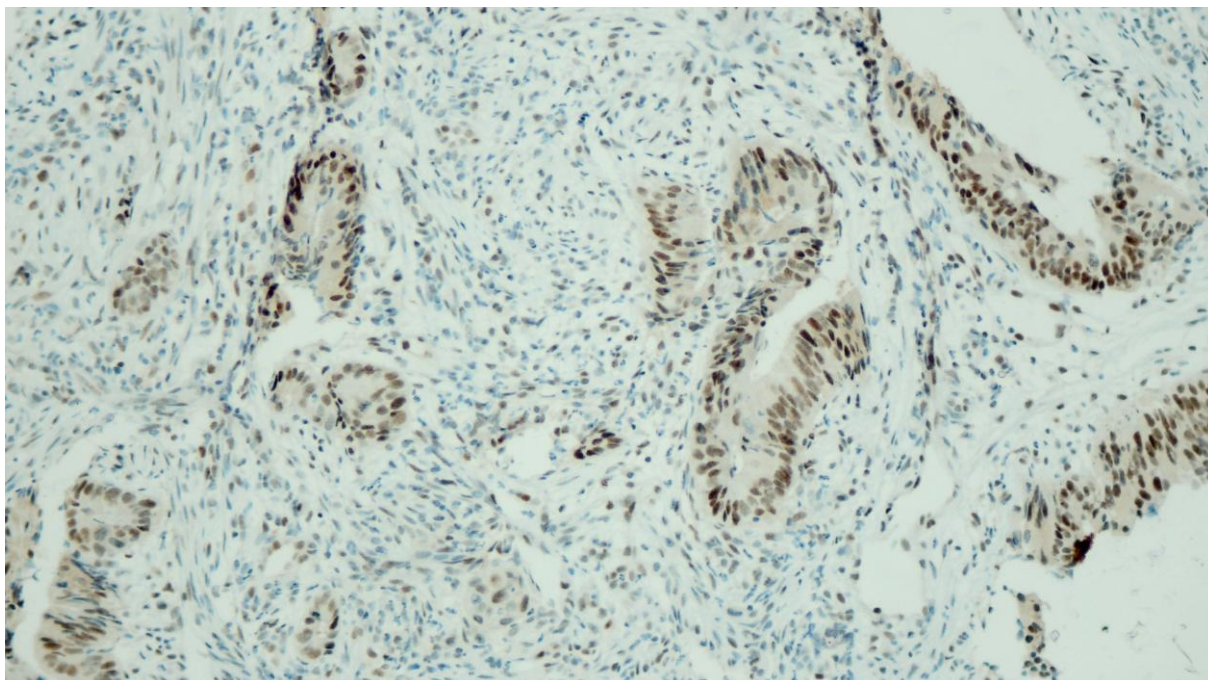


Figura 19 – Expressão imuno-histoquímica (coloração marrom) intacta de PMS2, 400X.

4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística consistiu no ajuste de modelos de regressão de Poisson com variância robusta tendo como objetivo determinar fatores demográficos, patológicos e clínicos associados à ocorrência do tipo fragmentado de regressão tumoral e à ocorrência do padrão de distribuição das CTR tipo I empregando-se como medida de efeito a razão de prevalência (RP) e seus respectivos intervalos de confiança.

A análise deu-se em duas etapas: bivariada e múltipla, em ambas, razão de prevalência e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança foram calculados. Inicialmente, modelos de regressão de Poisson simples foram ajustados para cada variável. Aquelas em que o valor de p foi menor que 0,05 foram incluídos na análise de regressão de Poisson múltipla. Procedeu-se posteriormente, ajustes dessas variáveis através de um processo de retirada e inclusão de variáveis. Permaneceram no modelo final apenas aquelas variáveis com $p < 0,05$. No final foram calculadas as razões de prevalência (RP) e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança.

Multicolinearidade entre as variáveis independentes foi avaliada. Considerou como limite da presença de multicolinearidade se o indicador de tolerância assume valores maiores que 0,60.

Considerou-se significativo $p < 0,05$. As análises foram conduzidas pelo programa SAS 9.4.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CASUÍSTICA

Foram incluídos inicialmente 45 participantes. Destes, 5 indivíduos foram excluídos, 4 por terem atingido resposta clínica completa (cCR) e optarem por programa de seguimento Watch Wait (WW) e 1 por apresentar perda da expressão de MLH-1 e PMS-2.

5.2 DADOS DEMOGRÁFICOS

Os dados demográficos dos 40 participantes estão apresentados na tabela 1. Quanto ao sexo, 23 (57,5%) são do sexo masculino. A idade mediana foi de 66 anos, com variação de 36 a 83 anos. A tabela 1 resume os dados demográficos.

Tabela 1 – Dados demográficos dos 40 participantes , localização tumoral no reto, transponibilidade do tumor ao colonoscópio e presença de estenose

Variáveis	Valores
Sexo n(%)	
<i>Masculino</i>	23 (57,5)
<i>Feminino</i>	17 (42,5)
Idade	
<i>Idade (anos)</i>	66 (36 – 83)
<i>Idade ≥ 60 anos</i>	23 (57,5)
Localização n(%)	
<i>Terço médio</i>	20 (50)
<i>Terço distal</i>	20 (50)
Transponibilidade ao colonoscópio n(%)	
<i>SIM</i>	32 (80)
<i>NÃO</i>	08 (20)
Estenose n(%)	
<i>SIM</i>	15 (37,5)
<i>NÃO</i>	25 (62,5)

5.3 AVALIAÇÃO E ESTADIAMENTO ANTES DA NEOADJUVÂNCIA

Quanto à localização, o tumor localizava-se no terço médio do reto em vinte participantes e no terço distal do reto em outros 20 (50%). Houve transponibilidade tumoral ao colonoscópio em 32 (80%) casos e a presença de estenose foi identificada em 15 (37,5%) situações. A tabela 1 contém os dados relativos à localização tumoral, transponibilidade tumoral e presença de estenose.

Quanto ao estadiamento, seis (15%) participantes estavam no estadio II e trinta e quatro (85%) no estadio III na avaliação antes da neoadjuvância. Havia cinco (12,5%) casos T3a, onze (27,5%) T3b, quinze (37,5%) T3c, quatro (10%) T3d, quatro (10%) T4a e um (2,5%) T4b. O estádio N1 foi identificado em quatorze (35%) casos e N2 em vinte (50%). A tabela 2 traz os dados relativos ao estadiamento clínico T e N.

O comprometimento da cadeia linfonodal pélvica lateral, fáschia mesorretal e presença de invasão venosa extramural foram identificadas em seis (15%), dez (25%) e sete (17,5%) casos, respectivamente.

A menor e maior medida tumoral, constatada à RM, foi de 3,5 cm e de 11 cm, respectivamente, com mediana de 6 cm.

O CEA \leq 5.0 ng/mL foi encontrado em vinte e seis (65%) casos e $>$ 5.0 ng/mL em quatorze (35%). A tabela 3 contém os dados referentes ao comprometimento da cadeia linfonodal pélvica lateral e fáschia mesorretal. Além da presença ou não de invasão venosa extramural, maior medida tumoral e níveis de CEA.

O intervalo de tempo entre os exames de estadiamento e o início da radioterapia variou de 4 a 10 semanas, com mediana de 8 semanas.

Tabela 2 – Estadiamento clínico pré-neoadjuvância (AJCC 8th) à RM da amostra estudada, estágio T e N

Variáveis	Valores
Estadiamento clínico n(%)	
II	06 (15)
III	34 (85)
Estadio T n(%)	
cT3a	05 (12,5)
cT3b	11 (27,5)
cT3c	15 (37,5)
cT3d	04 (10)
cT4a	04 (10)
cT4b	01 (2,5)
Estadio N n(%)	
cN1	14 (35)
cN2	20 (50)

Tabela 3 – Estadiamento clínico pré-neoadjuvância (AJCC 8th) à RM da amostra estudada: fásia mesorretal, invasão venosa extramural, cadeia linfonodal pélvica lateral, CEA e maior medida tumoral.

Variáveis	Valores
Fásia mesorretal comprometida n(%)	
SIM	10 (25)
NÃO	30 (75)
Invasão Venosa Extramural n(%)	
SIM	7 (17,5)
NÃO	33 (82,5)
Cadeia linfonodal pélvica lateral comprometida n(%)	
SIM	06 (15)
NÃO	34 (85)
CEA n(%)	
≤ 5.0 ng/MI	26 (65)
> 5.0 ng/mL	14 (35)
Maior medida tumoral	
Medida (cm)	6 (3,5 – 11)

RM – Ressonância Magnética; A variável contínua maior medida tumoral foi representada como mediana e variação interquartil.

5.4 REESTADIAMENTO APÓS NEOADJUVÂNCIA

O reestadiamento ocorreu após o término da quimioterapia, de uma a seis semanas antes da operação. Em todos os casos havia lesão palpável e visível à retossigmoidoscopia flexível.

A partir do uso da RM, dois (5%) participantes aparentemente não apresentavam tumor, doze (30%) foram categorizados como estadio I, dezessete

(42,5%) como estadió II e nove (22,5%) como estadió III. A tabela 4 reúne os dados quanto ao estadió clínico pós-neoadjuvância.

Havia dois (5%) casos considerados como T0, cinco (12,5%) T1, nove (22,5%) T2, sete (17,5%) T3a, três (7,5%) T3b, onze (27,5%) T3c, dois (5%) T3d, nenhum (0%) T4a e um (2,5%) T4b. A tabela 5 contém os dados a respeito do T e N ao reestadiamento.

Ao reestadiamento, nenhum caso apresentou comprometimento da cadeia linfonodal pélvica lateral. O comprometimento da fáschia mesorretal foi identificada em cinco (12,5%) casos. A invasão venosa extramural estava presente em três (7,5%) casos. A tabela 6 traz os dados a respeito do comprometimento da fáschia mesorretal, cadeia linfonodal pélvica lateral e invasão venosa extramural.

A menor e maior medida tumoral, constatada à RM, foi de 1,0 cm e de 10 cm, respectivamente, com mediana de 3 cm. *Downsizing* $\geq 50\%$ ocorreu em 23 (57,5%) casos. Por sua vez, *Downstaging* foi visto em 30 (75%) casos.

Quanto ao TRG pela RM, houve 2 (5%) participantes com classificação 1. Houve sete (17,5%) casos classificados como TRG 2, vinte e sete (67,5%) TRG 3, quatro (10%) TRG 4 e nenhum (0%) caso TRG 5. A tabela 7 sumariza as informações a respeito da medida tumoral, *Downsizing* $\geq 50\%$, *Downstaging* e TRG.

Tabela 4 – Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: estadiamento clínico.

Variáveis	Valores
Estadiamento clínico n(%)	
0	02 (5)
yI	12 (30)
yII	17 (42,5)
yIII	09 (22,5)

Tabela 5 – Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: estágio ycT e ycN

Variáveis	Valores
Estadio T n(%)	
<i>ycT0</i>	02 (5)
<i>ycT1</i>	05 (12,5)
<i>ycT2</i>	09 (22,5)
<i>ycT3a</i>	7 (17,5)
<i>ycT3b</i>	03 (7,5)
<i>ycT3c</i>	11 (27,5)
<i>ycT3d</i>	02 (5%)
<i>ycT4a</i>	00 (00)
<i>ycT4b</i>	01 (2,5)
Estadio N n(%)	
<i>ycN0</i>	31 (77,5)
<i>ycN1</i>	07 (17,5)
<i>ycN2</i>	02 (5)

Tabela 6 – Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: fáschia mesorretal, invasão venosa extramural, cadeia linfonodal pélvica lateral.

Variáveis	Valores
Fáschia mesorretal comprometida n(%)	
SIM	05 (12,5)
NÃO	35 (87,5)
Invasão Venosa Extramural n(%)	
SIM	3 (7,5)
NÃO	37 (92,5)
Cadeia linfonodal pélvica lateral comprometida n(%)	
SIM	00 (00)
NÃO	40 (100)

Tabela 7 – Reestadiamento pós-neoadjuvância da amostra estudada: downstaging, maior medida tumoral, downsizing \geq 50%, TRG.

Variáveis	Valores
Downstaging n(%)	
SIM	30 (75)
NÃO	10 (25)
Maior medida tumoral à RM	
Medida (cm)	3 (1 – 10)
Downsizing \geq 50% n(%)	
SIM	23 (57,5)
NÃO	17 (42,5)
TRG n(%)	
1	02 (5)
2	07 (17,5)
3	27 (67,5)
4	04 (10)
5	00 (00)

TRG = grau de regressão tumoral; A variável contínua maior medida à RM foi representada como mediana e variação interquartil.

5.5 CARACTERÍSTICAS DA TERAPIA NEOADJUVANTE

A radioterapia foi entregue como planejada para todos os participantes. A entrega da quimioterapia ocorreu até 4 semanas após a última sessão de radioterapia (12 – 30 dias mediana de 14 dias). Os seis ciclos de quimioterapia foram administrados por completo a 28 (70%) participantes. Devido à toxicidade (neutropenia e neuropatia), em seis (15%) indivíduos foram aplicados apenas cinco ciclos e em outros 6 (15%) apenas 4 ciclos.

O intervalo de tempo entre o início da radioterapia e o momento da operação variou de 20 a 35 semanas, com mediana de 28 semanas. Em 32 casos, este intervalo foi \leq 30 semanas. A tabela 8 reúne os dados quanto ao número de ciclos de

quimioterapia completados, intervalo de tempo entre radioterapia e o momento operatório, tempo entre radioterapia e momento operatório ≤ 30 semanas.

5.6 RESULTADOS OPERATÓRIOS

Todos os casos foram operados por via laparotômica. A ressecção anterior do reto foi a operação empregada em 32 (80%) participantes, com uma ressecção interesfincteriana completa e uma exenteração pélvica total. Foi confeccionada ileostomia de proteção em todos os casos de ressecção anterior do reto. Os demais pacientes foram abordados por amputação abdominoperineal, com um caso de sacrectomia associada. A tabela 9 retrata a via de acesso utilizada nas operações, o tipo de operações empregadas e as complicações intraoperatórias. Por sua vez, a tabela 10 sumariza as complicações pós-operatórias, tempo de internação, necessidade de reoperação e mortalidade da amostra estudada.

Tabela 8 – Características da terapia neoadjuvante da amostra estudada: ciclos de quimioterapia, tempo entre radioterapia e operação, tempo entre radioterapia e operação ≤ 30 semanas.

Variáveis	Valores
Ciclos de QT n(%)	
4	06 (15)
5	06 (15)
6	28 (70)
Tempo entre RT e operação	
Tempo (semanas)	28 (20 – 35)
Tempo entre RT e operação ≤ 30 semanas n(%)	
SIM	
NÃO	32 (80)
	08 (10)

QT = quimioterapia; RT = radioterapia; A variável contínua Tempo entre a RT e operação foi representada como mediana e variação interquartil.

Tabela 9 – Operações e complicações intraoperatórias da amostra estudada

Variáveis	Valores
Operação realizada n(%)	
Ressecção anterior	32 (80)
Amputação abdominoperineal	08 (20)
Via de abordagem operatória n(%)	
Laparotômica	40 (100)
Laparoscópica	00 (00)
Complicações Intraoperatórias n(%)	
Lesão vascular	02 (5,0)
Lesão vaginal	01 (2,5)
Laceração esplênica	01 (2,5)

Tabela 10 – Complicações pós-operatórias da amostra estudada

Variáveis	Valores
Complicações pós-operatórias n(%)	
Abscesso abdominal	01 (2,5)
Cardiovasculares	02 (5,0)
Deiscência anastomótica	01 (2,5)
Íleo pós-operatório	08 (20)
Infecção de ferida abdominal	03 (7,5)
Infecção de ferida perineal	01 (12,5)
Pneumonia	01 (2,5)
Reoperação n(%)	01 (2,5)
Tempo de internação	06 (4 – 23)
Morte em 30 dias da operação n(%)	01 (2,5)

A variável contínua Tempo de internação foi representada como mediana e variação interquartil.

5.7 RESULTADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Para cada peça operatória foram produzidos de 78 a 180 blocos, com mediana de 104 blocos por paciente.

Quatorze (35%) participantes foram classificados como estágio I, dez (25%) como estágio II, onze (27,5%) como estágio III. Houve 5 casos de pCR – estágio 0.

Quanto ao estágio T, foram identificados: três (7,5%) casos T1, onze (27,5%) T2, vinte (50%) T3 e um (2,5%) caso T4. Por sua vez, houve vinte quatro (60%) casos N0 (excluídos os 5 casos de pCR); nove (22,5%) casos N1, com 4 casos havendo depósito tumoral; e dois (5%) casos N2 e que também apresentavam depósitos tumorais no mesorreto. A tabela 11 reúne os dados de estadiamento patológico e estágio T patológico.

Em relação à amostragem linfonodal, foram isolados de 8 a 60 linfonodos por peça operatória, com mediana de 15 linfonodos. Em 32 (80%) casos foi possível isolar mais de 12 linfonodos. A tabela 12 sumariza as informações a respeito do estágio N, mediana de linfonodos por peça operatória e casos com mais de 12 linfonodos encontrados.

Quanto à localização do comprometimento linfonodal, houve 38 linfonodos malignizados, com 3 destes localizados em estação intermediária e os outros 35 em estação perirretal. Todos os casos com comprometimento linfonodal na estação intermediária também havia comprometimento na estação perirretal. Não houve casos de linfadenopatia em estação principal. Não houve linfonodo comprometido abaixo da margem distal do tumor.

A respeito do grau de diferenciação, nove (22,5%) tumores foram considerados como bem diferenciados, trinta e um (77,5%) como moderadamente diferenciados. Não houve tumores pouco diferenciados. A ocorrência de invasão angiolinfática esteve presente em quinze (37,5%) casos. Por sua vez, a presença de invasão perineural foi confirmada em dez (25%) casos. O budding tumoral foi considerado baixo em 23 (57,5%) casos, intermediário em 11 (27,5%) e alto em um (2,5%) caso. A tabela 13 traz os dados a respeito do grau de diferenciação, ocorrência de invasão angiolinfática e perineural.

A margem distal e a circunferencial estava comprometida por neoplasia em um (2,5%) caso cada. Não houve situações de perfuração tumoral. A tabela 13 traz os dados a respeito do grau de diferenciação, ocorrência de invasão angiolinfática e perineural, comprometimento de margem distal e circunferencial.

Quanto ao grau de regressão tumoral (TRG), na peça operatória, houve 5 (12,5%) casos de TRG1, 8 (20%) de TRG2, vinte (50%) de TRG3, sete (17,5%) casos de TRG4. Não houve casos classificados como TRG5.

O tamanho das anormalidades residuais de mucosa variaram de 0,4 cm a 7,0 cm, com mediana de 2,0 cm. Por uma questão de vantagem estatística, as mesmas foram dicotomizadas em ≤ 2 cm ou > 2 cm. Houve 24 (60%) casos classificados como ≤ 2 cm e 16 (40%) casos como > 2 cm. A tabela 14 reúne os dados quanto ao tamanho das anormalidades residuais de mucosa e TRG.

Tabela 11 – Dados anatomopatológicos da amostra estudada: estadiamento patológico, estágio T

Variáveis	Valores
Estadiamento patológico n(%)	
0	05 (12,5)
I	14 (35)
II	10 (25)
III	11 (27,5)
Estadio T n(%)	
ypT0	05 (12,5)
ypT1	03 (7,5)
ypT2	11 (27,5)
ypT3	20 (50)
ypT4	01 (2,5)

Tabela 12 – Dados anatomopatológicos da amostra estudada: estágio N, amostragem linfonodal e número de linfonodos > 12.

Variáveis	Valores
Estadio N n(%)	
<i>ypN0</i>	29 (72,5)
<i>ypN1</i>	09 (22,5)
<i>ypN2</i>	02 (5)
Amostragem linfonodal	
Número de linfonodos (unidade)	15 (08 – 60)
Número de linfonodos > 12	
SIM	32 (80)
NÃO	08 (20)

Tabela 13 – Dados anatomopatológicos da amostra estudada: grau de diferenciação, invasão angiolinfática, budding tumoral, margem de ressecção distal e margem de ressecção circunferencial.

Variáveis	Valores
Grau de diferenciação n(%)	
BEM	09 (22,5)
MODERADAMENTE	31(77,5)
POUCO	00 (00)
Invasão Angiolinfática n(%)	
SIM	15 (37,5)
NÃO	25 (62,5)
Budding tumoral n(%)	
BAIXO	23 (65,7)
INTERMEDIÁRIO	11 (31,4)
ALTO	01 (2,9)
Margem de ressecção distal n(%)	
LIVRE	39 (97,5)
COMPROMETIDA	01 (2,5)
Margem de ressecção circunferencial n(%)	
LIVRE	39 (97,5)
COMPROMETIDA	01 (2,5)

Tabela 14 – Dados anatomopatológicos da amostra estudada: medida da anormalidade residual de mucosa, anormalidade residual de mucosa ≤ 2 cm.

Variáveis	Valores
Medida anormalidade residual de mucosa	
Medida (cm)	2 (0,4 – 07)
Anormalidade residual mucosa ≤ 2 cm	
SIM	24 (60)
NÃO	16 (40)
TRG n(%)	
1	05 (12,5)
2	08 (20,0)
3	20 (50,0)
4	07 (17,5)
5	00 (00)

TRG = grau de regressão tumoral; A variável contínua Medida anormalidade residual de mucosa foi representada como mediana e variação interquartil.

5.8 EXPRESSÕES IMUNOHISTOQUÍMICAS DAS ENZIMAS DE REPARO, PD-L1 E INFILTRAÇÃO DE CD3-CD8

Em todos os casos houve expressão das enzimas MLH-1, PMS-2, MSH-2 e MSH-6. A expressão imuno-histoquímica de PD-L1 foi positiva em 3 (7,5%) casos. A infiltração de CD3-CD8 foi considerada forte em 24 (60%) casos. A tabela 15 retrata os dados de infiltração de CD3-CD8, expressão de PD-L1 e das enzimas de reparo.

Tabela 15 – Distribuição das expressões imuno-histoquímicas das enzimas de reparo, infiltração de CD3-CD8 e PD-L1.

	Enzimas de reparo	Infiltração CD3-CD8	PD-L1
	n(%)	n(%)	n(%)
Positiva – Forte	40 (100)	24 (60)	03 (7,5)
Negativa – Fraca	00 (00)	16 (40)	37 (92,5)

5.9 PADRÃO DE REGRESSÃO E EXTENSÃO INTRAMURAL MICROSCÓPICA

O padrão de regressão fragmentado foi identificado em 18 (45,0%) pacientes e o padrão sólido em 22 (55,0%). A presença de extensão intramural microscópica foi identificada em 25 (62,5%) casos, com variação de 1 a 18 mm, mediana de 4 mm. Houve 7 casos de regressão sólida que apresentaram extensão intramural microscópica, com variação de 1 a 3 mm. Todos os casos de regressão fragmentada, exceto um, apresentaram extensão intramural microscópica. Em 4 casos de regressão fragmentada a extensão intramural microscópica variou de 4 a 8 mm, os demais casos apresentaram extensão intramural microscópica ≥ 10 mm. Quando utilizamos o valor de 1 cm, facilmente aplicável à prática clínica, para dicotomizar a variável, houve 14 (35,0%) casos de extensão intramural microscópica ≥ 10 mm. Todos os casos de extensão intramural microscópica ≥ 10 mm apresentaram o padrão de regressão fragmentado.

Tabela 16 – Padrão de regressão tumoral e extensão tumoral intramural microscópica

Variáveis	Valores
Padrão de regressão n(%)	
Fragmentado	18 (45)
Sólido	22 (55)
Extensão intramural microscópica n(%)	
SIM	25 (62,5)
NÃO	15 (37,5)
Extensão intramural microscópica \geq 10 mm n(%)	
SIM	14 (35)
NÃO	26 (65)

Tabela 17 – Relações entre padrão de regressão tumoral e extensão intramural microscópica

Padrão de regressão	Extensão intramural microscópica n(%)		Extensão intramural microscópica \geq 10 mm n(%)	
	SIM	NÃO	SIM	NÃO
Sólido	07 (17,5)	15 (37,5)	00 (00)	22 (100)
Fragmentado	17 (42,5)	01 (2,5)	14 (35,0)	04 (10)

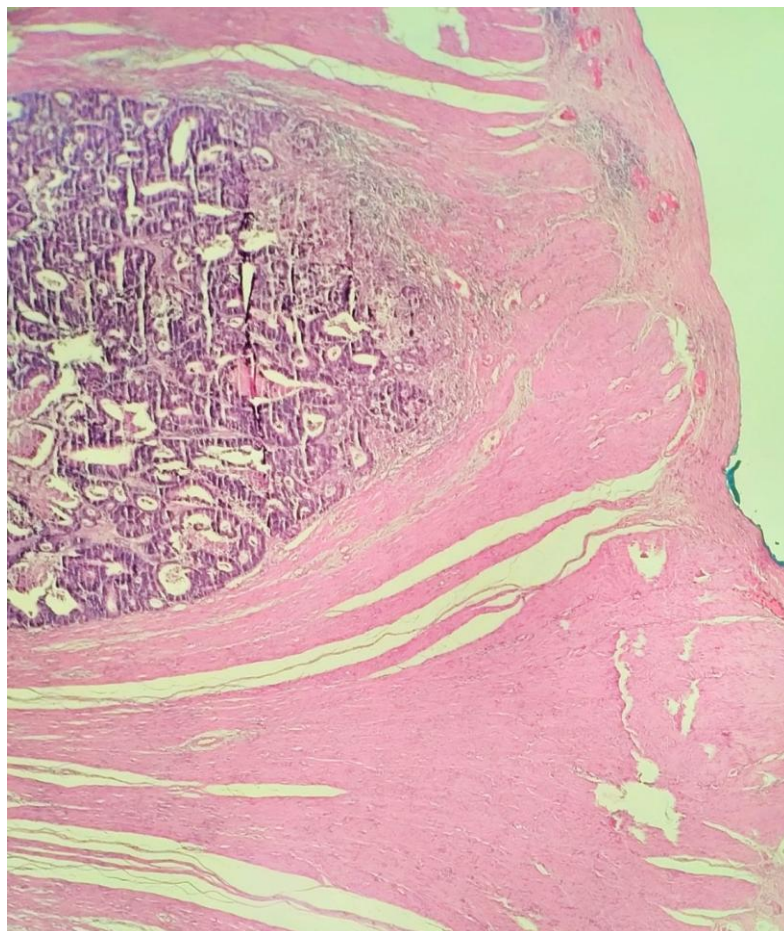


Figura 20 – Corte histológico referente ao paciente 36: padrão de regressão tumoral do tipo sólido com ETIM presente (HE, 40X)

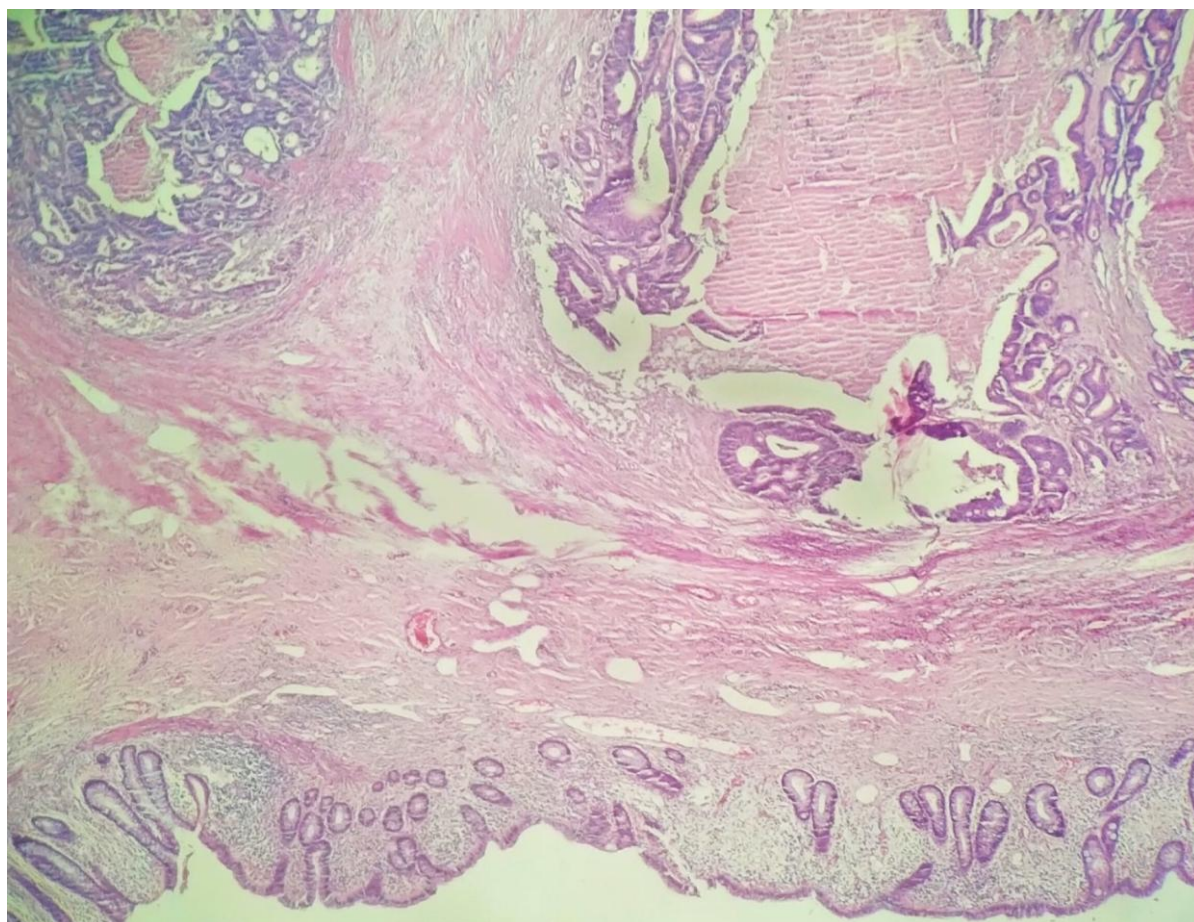


Figura 21 – Corte histológico referente ao paciente 2: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado com ETIM presente (HE, 40X)

As variáveis associadas à ocorrência do padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado, após o ajuste do modelo de regressão de Poisson múltiplo, foram: CEA > 5 ng/ml, downsizing < 50%, lesão residual em mucosa > 20 mm e comprometimento linfonodal anatomopatológico (ypN+) ($p < 0,05$). Detalhes estão expressos na tabela 2.

Tabela 18 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Estenose, Transponibilidade Tumoral ao Colonoscópio e Invasão Venosa Extramural no Estádio Inicial.

Variáveis (Frequência n=40/ Porcentagem)	Razão de Prevalência (RP) Não Ajustada		Razão de Prevalência (RP) Ajustada	
	RP (IC 95%)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
Estenose		0,0329	-	-
Não (25 - 62,50)	1	-	-	-
Sim (15 - 37,50)	2,08 (1,06; 4,09)	0,0329	-	-
Transponível Colono		0,0236	-	-
Não (08 - 20,00)	1	-	-	-
Sim (32 - 80,00)	2,00 (1,10; 3,64)	0,0236	-	-
Invasão Venosa Extramural Estadio Inicial		<0,0001	-	-
Não (33 - 82,50)	1	-	-	-
Sim (07 - 17,50)	2,47 (1,67; 3,64)	< 0,0001	-	-

Tabela 19 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Invasão Angiolinfática, Depósitos Tumerais no Mesorreto Anatomopatológico (AP) e Extensão Intramural Microscópica.

Variáveis (Frequência n=40/ Porcentagem)	Razão de Prevalência (RP) Não Ajustada		Razão de Prevalência (RP) Ajustada	
	RP (IC 95%)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
Invasão Angio Linfática		0,0015	-	-
Não (25 - 62,50)	1	-	-	-
Sim (15 - 37,50)	3,33 (1,59; 7,00)	0,0015	-	-
Depósitos Tumerais no Mesorreto AP		< 0,0001	-	-
Não (34 - 85,00)	1	-	-	-
Sim (06 - 15,00)	2,83 (1,80; 4,47)	< 0,0001	-	-
Extensão Intramural Microscópica		<0,0001	-	-
< 10 mm (26 - 65,00)	1	-	-	-
≥ 10 mm (14 - 35,00)	6,50 (2,64; 16,01)	<0,0001	-	-

Tabela 20 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis Estadio Patológico T, Estadio Patológico N+ e Downsizing.

Variáveis (Frequência n=40/ Porcentagem)	Razão de Prevalência (RP) Não Ajustada		Razão de Prevalência (RP) Ajustada	
	RP (IC 95%)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
Estadio Patológico T		0,0036	-	-
T0, T1 E T2 (19 - 47,50)	1	-	-	-
T3 E T4 (21 - 52,50)	7,24 (1,91; 27,44)	0,0036	-	-
Estadio Patológico N+		0,0001		0,0017
Não (28 - 70,00)	1	-	1	-
Sim (12 - 30,00)	3,67 (1,89; 7,12)	0,0001	2,29 (1,36; 3,85)	0,0017
Downsizing		0,0005		0,0052
≥ 50 % (23 - 57,50)	1	-	1	-
< 50 % (17 - 42,50)	6,76 (2,32; 19,71)	0,0005	4,03 (1,51; 10,71)	0,0052

Tabela 21 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para a ocorrência de fragmentação (n = 40). Analisadas as variáveis CEA, Infiltração CD3 CD8, Tamanho do Tumor Reestadio à RM, Tamanho da Lesão Residual em Mucosa.

Variáveis (Frequência n=40/ Porcentagem)	Razão de Prevalência (RP) Não Ajustada		Razão de Prevalência (RP) Ajustada	
	RP (IC 95%)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
CEA		0,0131		0,0095
≤ 5,0 ng/ml (26 – 65,00)	1	-	1	-
> 5,0 ng/ml (14 – 35,00)	2,32 (1,19; 4,51)	0,0131	2,27 (1,22; 4,23)	0,0095
Infiltração CD3 CD8		0,0021	-	-
Alto (24 – 60,00)	1	-	-	-
Baixo (16 – 40,00)	10,27 (2,72; 38,75)	0,0006	-	-
Tamanho do Tumor Reestadio RM		< 0,0001	-	-
> 6 cm (2 – 5,00)	1	-	-	-
≤ 6 cm (38 – 95,00)	2,37 (1,64; 3,45)	< 0,0001		
Tamanho da Lesão Residual em Mucosa		< 0,0001		0,0484
≤ 20 mm (24 – 60,00)	1	-	1	-
> 20 mm (16 – 40,00)	2,57 (1,71; 3,87)	< 0,0001	2,18 (1,01; 4,73)	0,0484

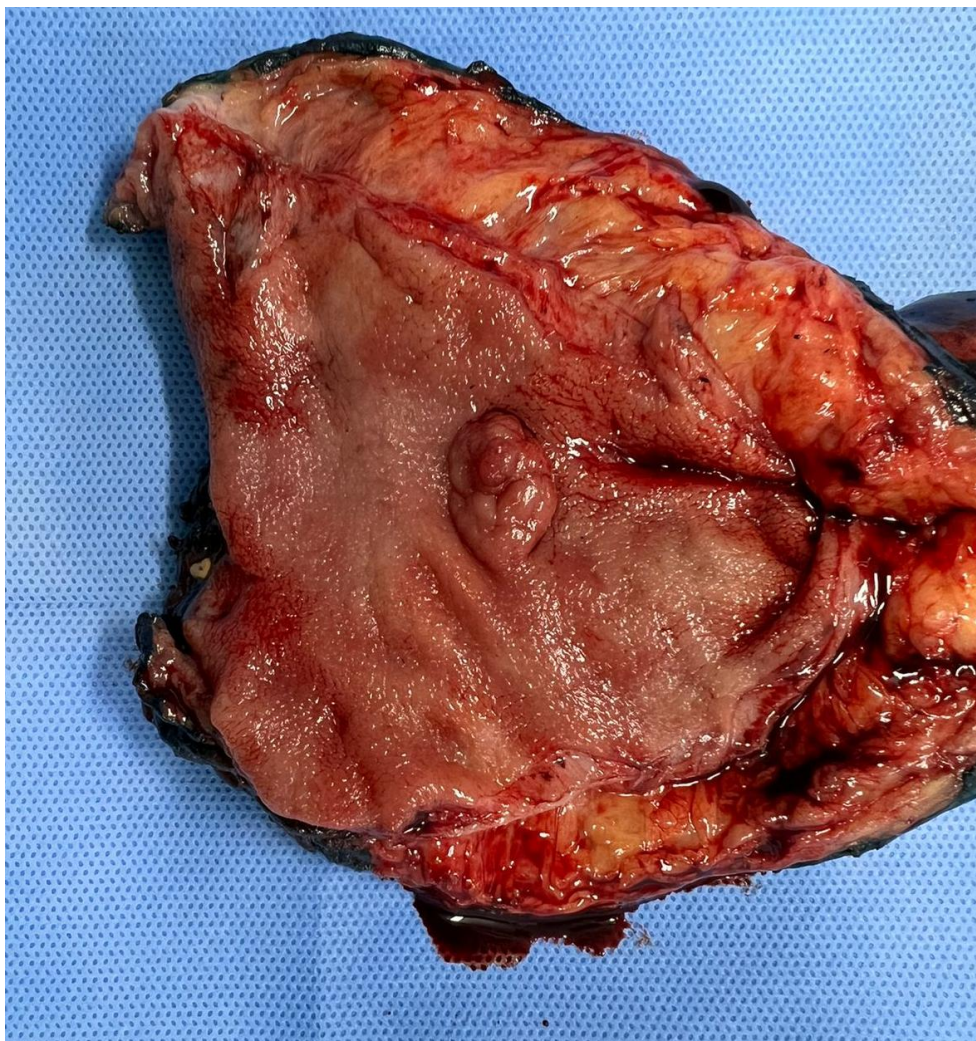


Figura 22 – Peça operatória aberta referente ao paciente número 40

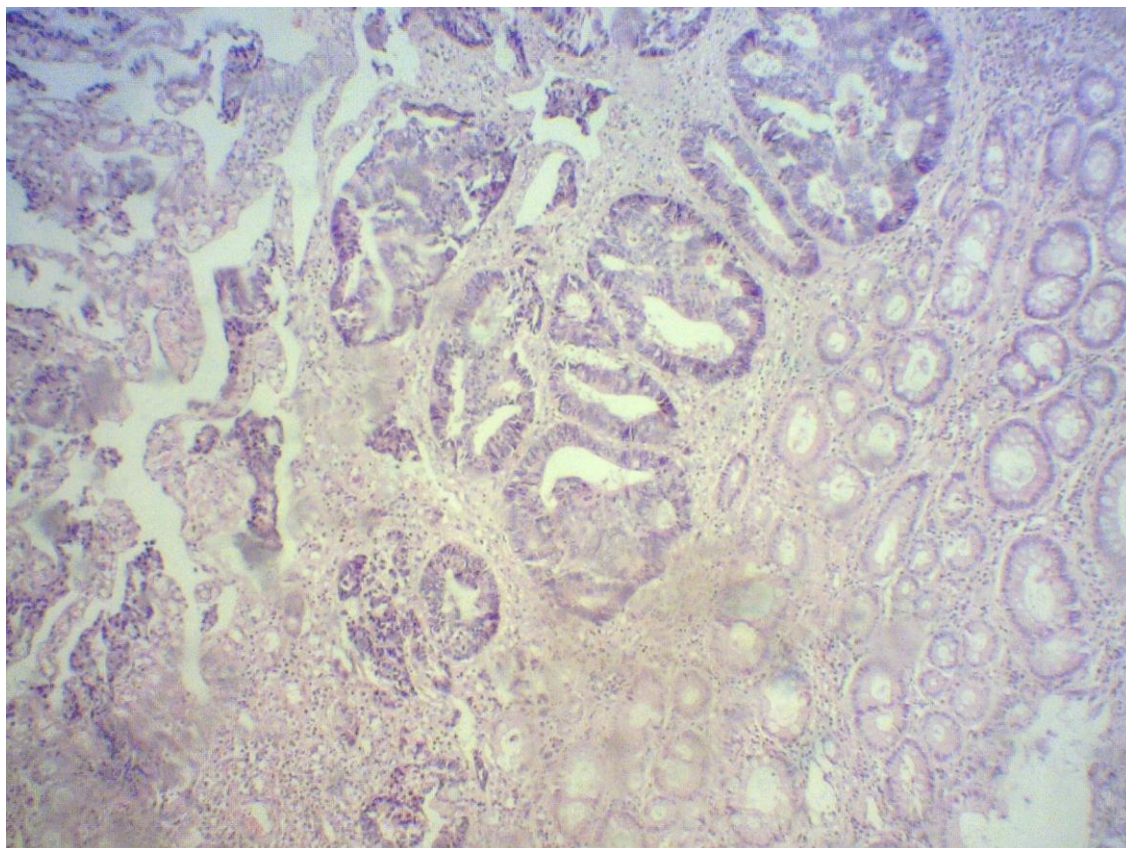


Figura 23 – Corte histológico referente ao paciente 40: padrão de regressão tumoral do tipo sólido (HE, 100X)

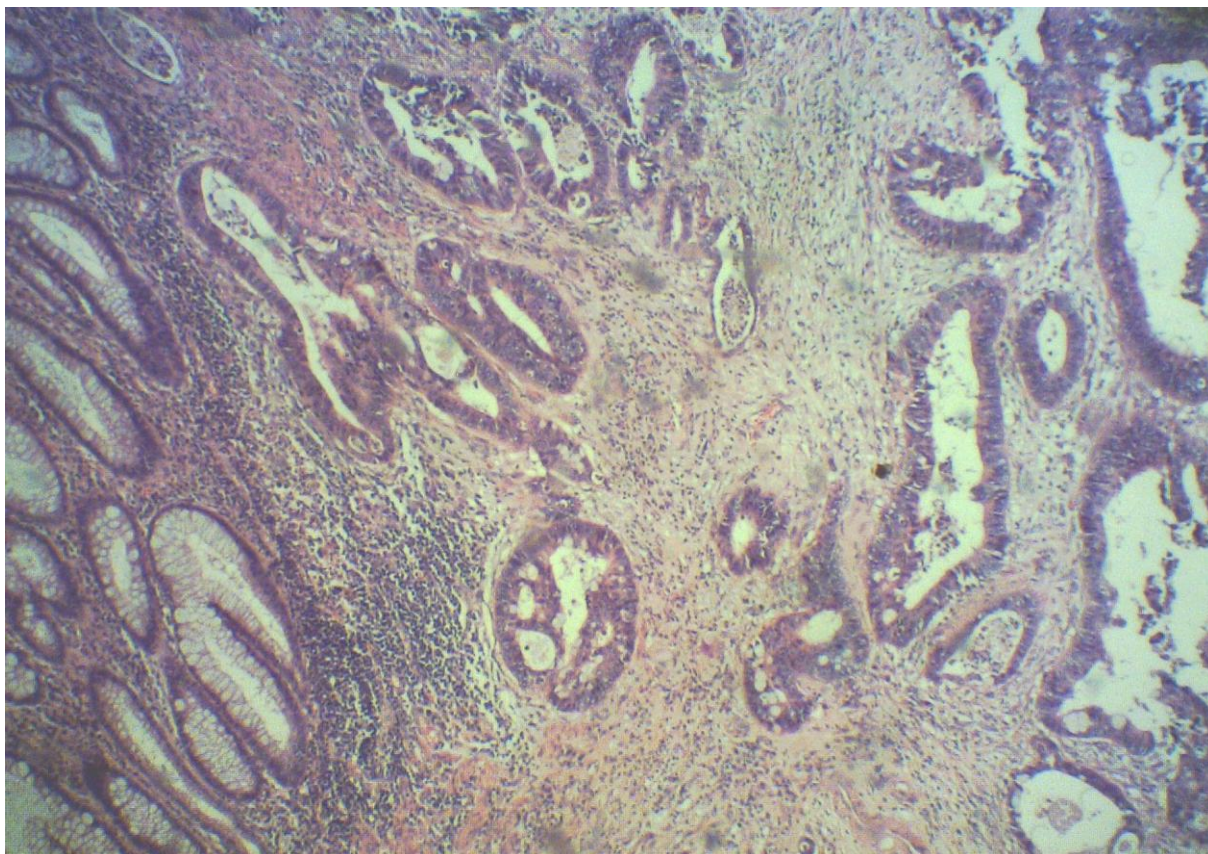


Figura 24 – Corte histológico referente ao paciente 40: padrão de distribuição das CTR tipo I (HE, 100X)

5.10 PADRÃO DE DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS RESIDUAIS

Para os pacientes que não apresentaram pCR (35), a distribuição das CTR pelas camadas da parede retal foi a seguinte: mucosa em 29 (82,8%) casos, submucosa em 31 (88,5%), muscular em 30 (85,7%) e tecido adiposo perirretal em 20 (57,1%). Nos 3 casos de ypT1 havia CTR na mucosa (100%). Para os 11 casos de ypT2, havia CTR na mucosa em 10 (90,9%), na submucosa em 9 (81,8%). Houve 20 casos de ypT3 com 15 (75%) apresentando CTR em mucosa, 18 (90%) com CTR em submucosa e 19 (95%) com CTR em muscular. Para o único caso (100%) de ypT4 havia CTR em mucosa, submucosa, muscular e tecido adiposo perirretal.

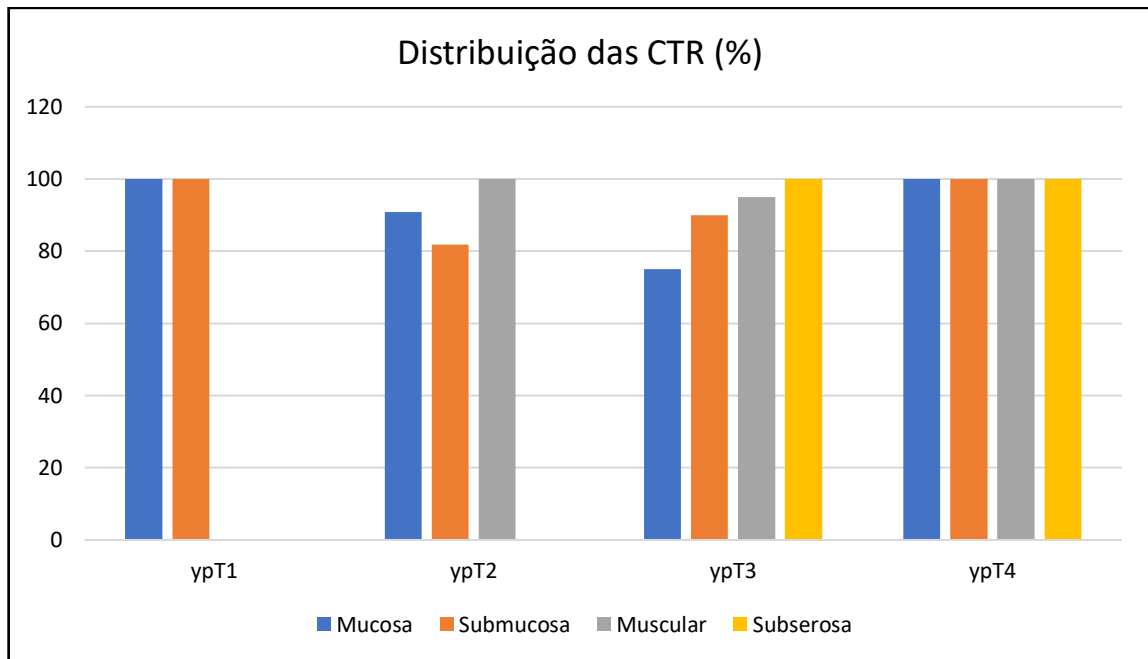


Figura 25 – Distribuição das CTR pelas diferentes camadas retais de acordo com estágio T

Por sua vez, quanto ao modelo de distribuição das células tumorais residuais, ocorreram 11 (31,5%) casos com classificação tipo I, 14 (40%) casos tipo II, 10 (28,5%) casos tipo III e nenhum (0%) caso tipo IV.

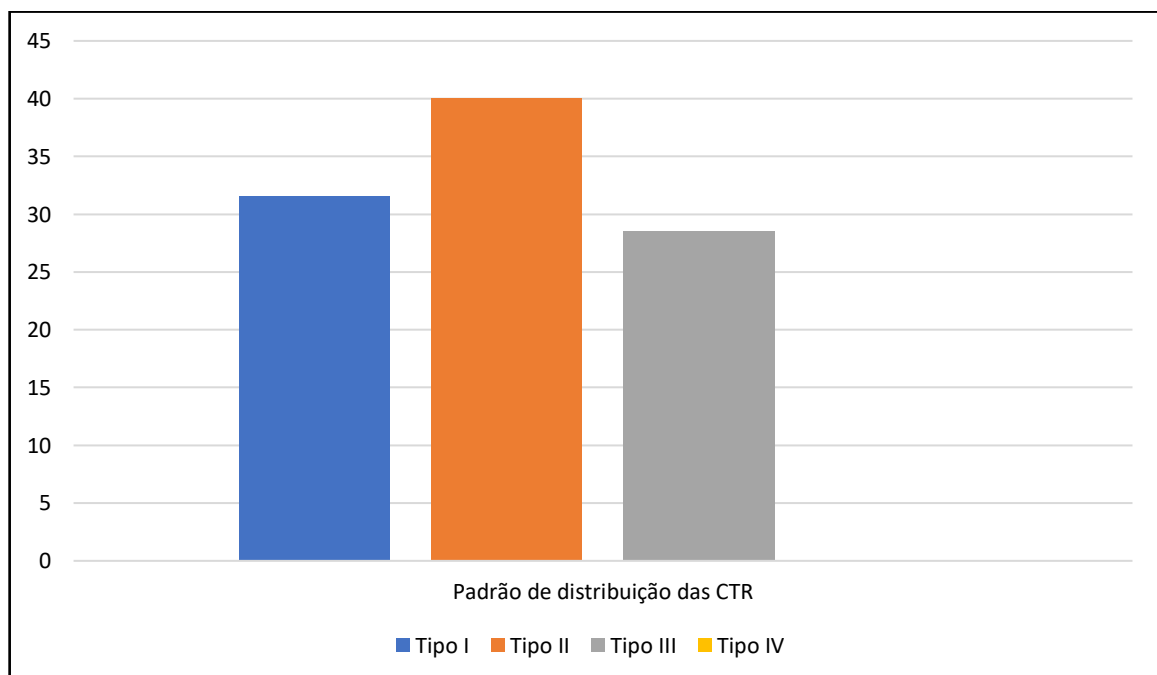


Figura 26 – Padrão de distribuição das CTR (%)



Figura 27 – Peça operatória aberta de amputação abdominoperineal referente ao paciente número 31

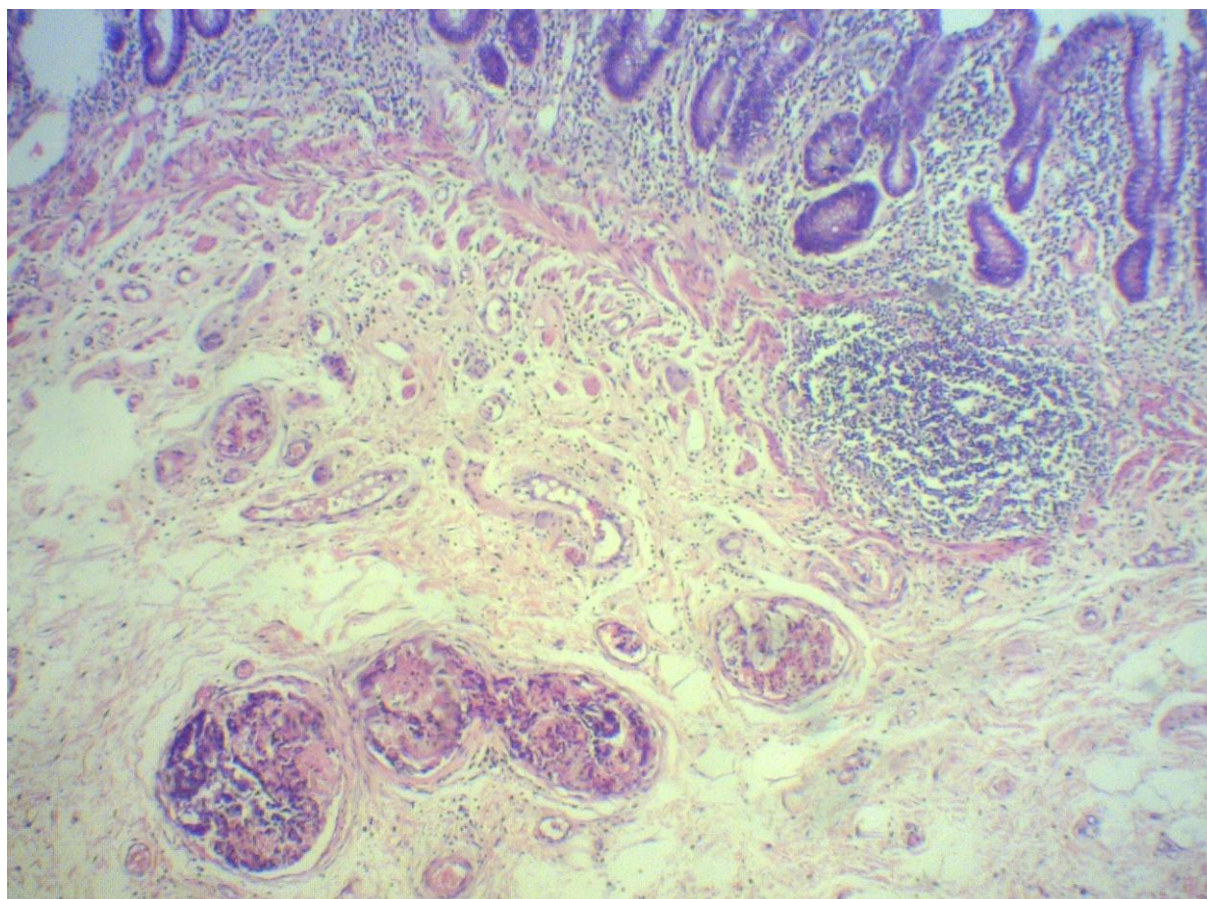


Figura 28 – Corte histológico referente ao paciente 31: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado (HE, 100X)

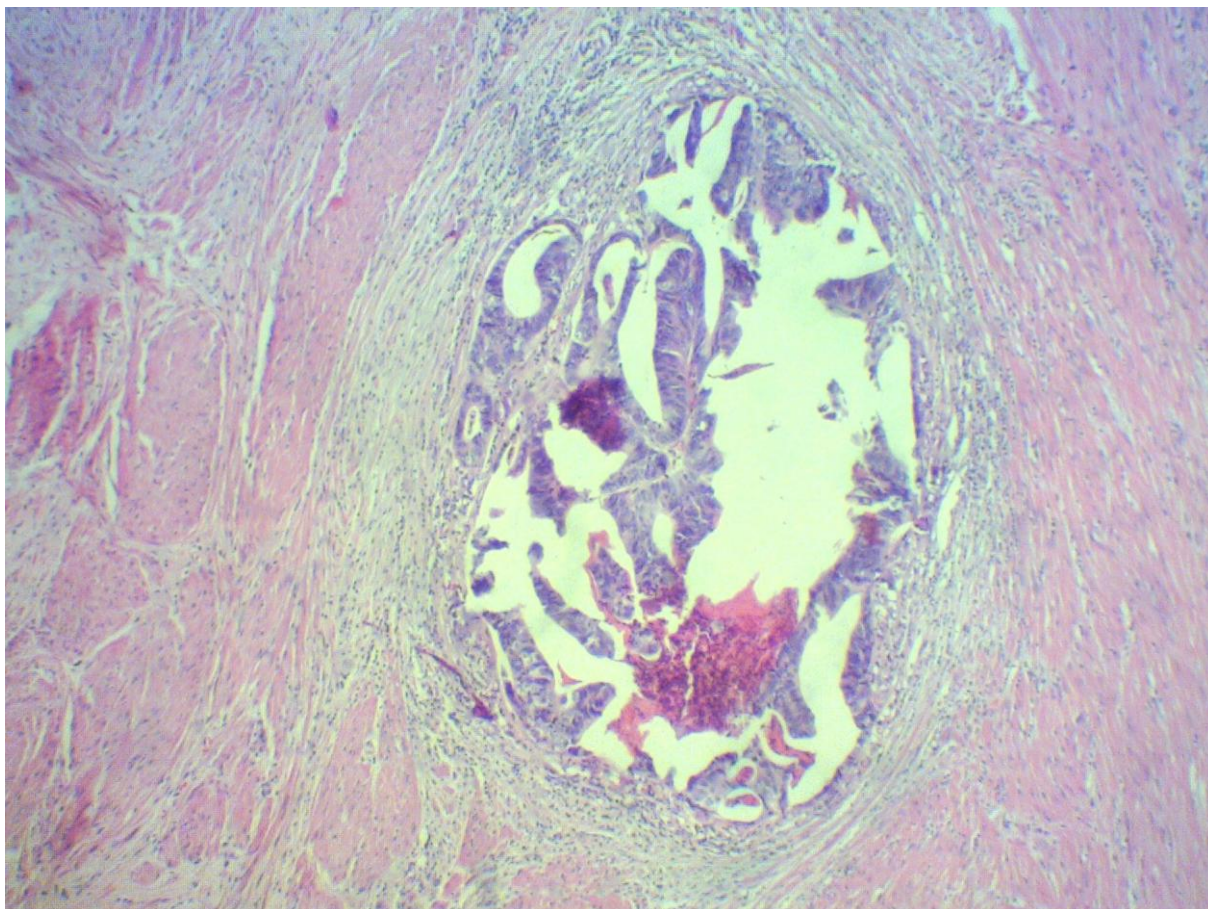


Figura 29 – Corte histológico referente ao paciente 31: padrão de distribuição das CTR tipo III (HE, 100X)

Do ajuste do modelo de regressão de Poisson múltiplo, as variáveis 6 ciclos de CAPOX e extensão tumoral intramural microscópica associaram-se significativamente com padrão do tipo 1 ($p < 0,05$). Detalhes estão expressos na tabela 3.

Tabela 22 – Distribuição das variáveis de estudo de acordo com as razões de prevalências bruta e ajustada conforme modelo de regressão de Poisson com variância robusta e seus respectivos intervalos de 95 % de confiança, para padrão tipo 1 (n = 35). Analisadas as variáveis TNT Consolidação Capox 6 ciclos, extensão intramural microscópica, Downsizing, Grau de Diferenciação, TRG à RM, TRG patológico.

Variáveis (Frequência n=40/ Porcentagem)	Razão de Prevalência (RP) Não Ajustada		Razão de Prevalência (RP) Ajustada	
	RP (IC 95%)	p-valor	RP (IC 95%)	p-valor
TNT Consolidação Capox 6 ciclos		0,0494	-	0,0053
Não (12 – 30,00)	1	-	1	-
Sim (28 – 70,00)	2,41 (1,00; 6,00)	0,0494	2,95 (1,38; 6,32)	0,0053
Extensão Intramural microscópica		0,0008		< 0,0001
Sim (25 – 62,50)	1	-	1	-
Não (15 – 37,50)	6,67 (2,21; 20,14)	0,0008	7,41 (2,77; 19,85)	< 0,0001
Downsizing		0,0237	-	-
< 50 % (17 – 42,50)	1	-	-	-
≥ 50 % (23 – 57,50)	9,44 (1,35; 66,10)	0,0237	-	-
Grau de Diferenciação		0,0494	-	-
Moderadamente (31 – 77,50)	1	-	-	-
Bem (09 – 22,50)	2,41 (1,00; 6,00)	0,0494	-	-
TRG RM		0,011	-	-
1 e 2 (08 – 20,00)	2,91 (1,28; 6,61)	0,011	-	-
3 e 4 (32 – 80,00)	1	-	-	-
TRG Patológico		0,002	-	-
1 e 2 (13 – 32,50)	4,05 (1,67; 9,83)	0,002	-	-
3 e 4 (27 – 67,50)	1	-	-	-



Figura 30 – Peça operatória de exenteração pélvica posterior infraelevadora com sacrectomia referente ao paciente 30

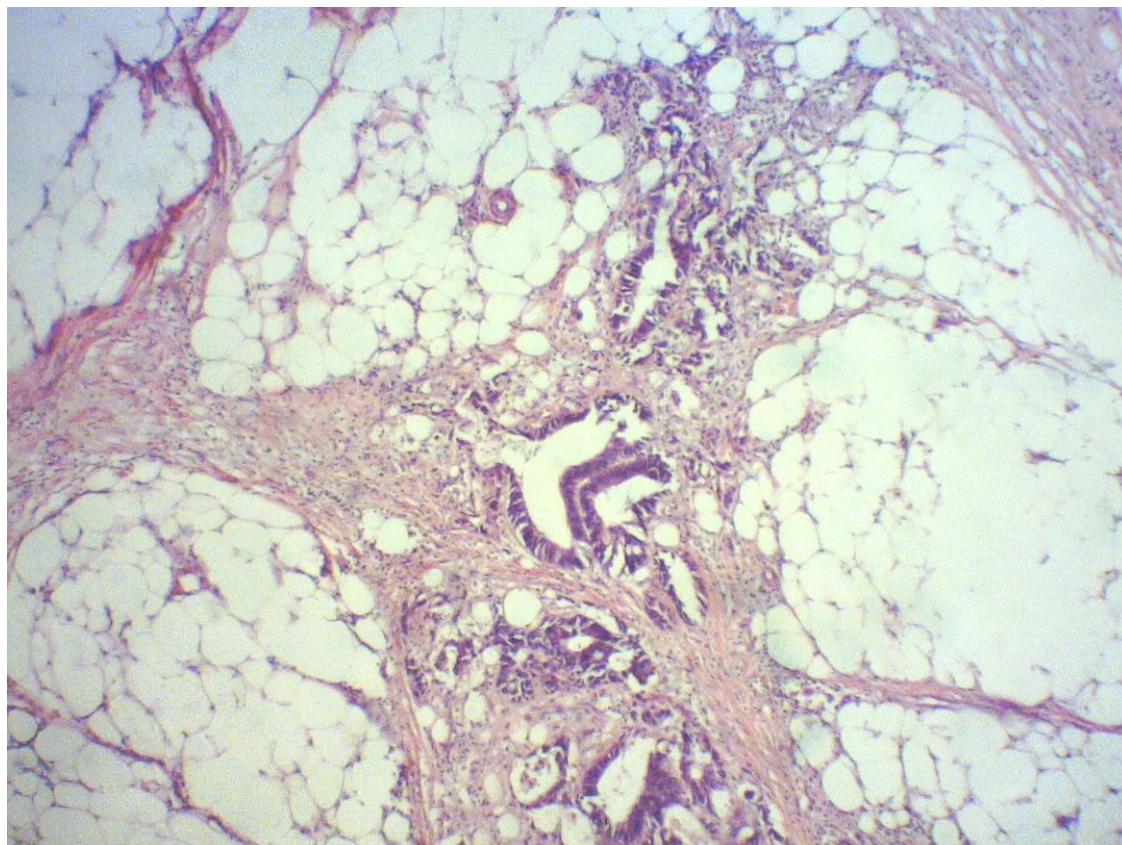


Figura 31 – Corte histológico referente ao paciente 30: padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado (HE, 100X)

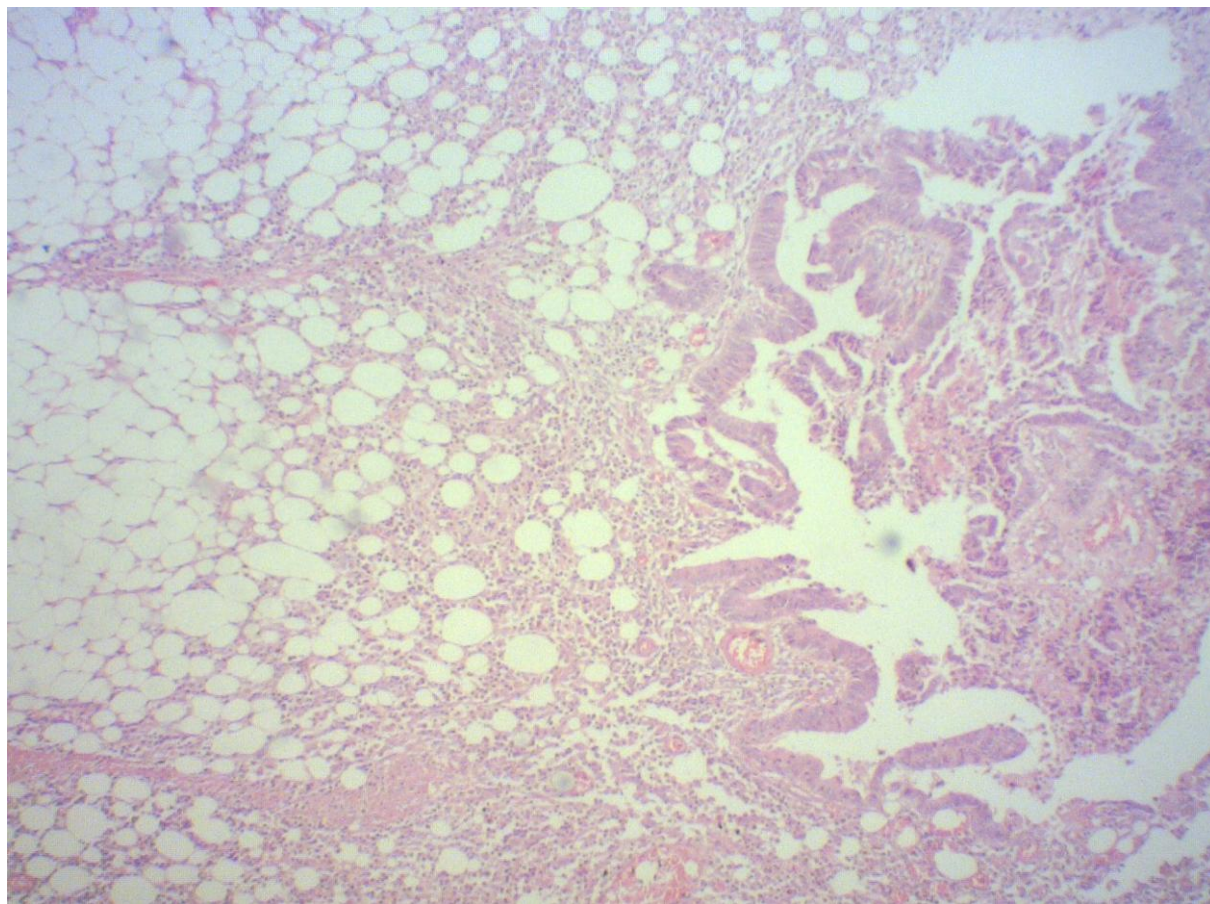


Figura 32 – Corte histológico referente ao paciente 30: padrão de distribuição das CTR tipo II (HE, 100X)

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Neste trabalho, procurou-se estudar o padrão de regressão tumoral bem como a distribuição das células tumorais residuais, na parede retal e mesorreto, em casos de adenocarcinoma de reto tratados com radioterapia e quimioterapia de consolidação. Além disso, foi possível o emprego de uma classificação, utilizada em câncer de esôfago, para construção de padrões de distribuição das células tumorais residuais.

O padrão de regressão fragmentado foi frequente e associado ao tamanho da lesão residual na mucosa > 20 mm, CEA > 5 ng/ml, *Downsizing* < 50% e comprometimento linfonodal anatomopatológico. Em 82% dos casos foram identificadas células tumorais residuais na mucosa. O padrão de distribuição do tipo I esteve associado à entrega completa dos 6 ciclos de CAPOX e à ausência de extensão tumoral intramural microscópica.

O desenvolvimento do câncer colorretal é caracterizado pelo acúmulo de mutações, amplificações de oncogenes e inativação de genes supressores tumorais. Estas alterações genéticas levam à ampla heterogeneidade intratumoral típica destes tumores (Fearon & Vogelstein, 1990; Toyota *et al.*, 1999; Umar *et al.*, 2004).

A frente invasiva dos tumores retais é exemplo da heterogeneidade intratumoral. Em alguns estudos, os autores têm encontrado perfis de expressão proteica diferentes entre a frente invasiva e o restante do tumor. É possível que esta diferença genética e molecular seja uma das explicações para diferentes padrões de regressão e de distribuição das células tumorais residuais encontrados no câncer do reto (Rogers *et al.*, 2014).

Da mesma forma, é razoável que o padrão de regressão e de distribuição não dependa apenas das células tumorais mas, também, do microambiente tumoral. A sinalização entre células tumorais e células estromais pode estar envolvido. Em especial a relação entre tumor e sistema imunológico (Park *et al.*, 2014; Lhuillier *et al.*, 2019). Outros fatores que podem estar associados a diferentes padrões de regressão e de distribuição são: o tipo de esquema radioquimioterápico, o momento operatório, o volume tumoral e seu estágio (Hav *et al.*, 2015; Fernandez-Acenero *et al.*, 2017).

A ideia de regressão tumoral em direção à mucosa, após o emprego da terapia neoadjuvante, é a base para o emprego das estratégias de preservação de órgão. Este é o cenário ideal, correspondência entre o que vemos com o que ocorre no órgão. Infelizmente, isso não ocorre em todos os casos.

Em 2007, Gosens *et al.* postularam que, após a exposição à radioquimioterapia, o câncer do reto regredia de duas formas: sólida ou fragmentada. O padrão de regressão sólido é homogêneo, com formação de bloco celular único e regressão preferencialmente em direção à mucosa. Este é o padrão desejado para as estratégias de preservação do reto. Já o padrão fragmentado regride com formação de diferentes grupos celulares separados por fibrose ou tecido normal. Neste caso, em princípio, as estratégias de preservação estão contraindicadas (Gosens *et al.*, 2007; Nagtgaal *et al.*, 2020).

Para que pudéssemos estudar o padrão de regressão e como as células tumorais residuais se distribuía, definimos que a amostra a ser estudada deveria ser composta por tumores T3 e T4. Nestas condições, haveria células tumorais em todas as camadas retais e o que permitiria o emprego da classificação de células tumorais residuais utilizada no câncer do esôfago.

A altura definida para que os tumores fossem incluídos no estudo foi de até 10 cm da margem anal, desde que a sua porção mais distal estivesse em localização extraperitoneal. A localização extraperitoneal como critério de inclusão, utilizada para análise linfonodal neste trabalho, obedeceu a Classificação Japonesa de Carcinoma Colorretal (3rd edition).

Os critérios de exclusão objetivaram selecionar casos de adenocarcinoma retal esporádico, não associados à doença inflamatória intestinal, visto que estes são os mais comuns. Os tumores que apresentam perda da expressão de algumas das enzimas de reparo têm maior infiltração linfocitária intratumoral e esta pode influenciar no padrão de regressão. Da mesma forma, por apresentarem aspectos genéticos e moleculares diferentes à forma esporádica, os casos de câncer do reto associados à doença inflamatória intestinal ou polipose adenomatosa foram excluídos. Já os casos que atingiram resposta clínica completa foram excluídos pois não houve peça operatória para análise (Fearon & Volgestein, 1990; Toyota *et al.*, 1999; Umar *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2014; Lhuillier *et al.*, 2019).

O estadiamento clínico inicial empregado seguiu as diretrizes da National Comprehensive Cancer Network (2022). No reestadiamento à RM, adicionamos 2 variáveis: *Downstaging* e *Downsizing* $\geq 50\%$. Estas são fatores de bom prognóstico e contrárias à ocorrência do padrão de regressão fragmentado. Não foram realizadas TC de tórax e abdômen no reestadiamento. Não houve casos de identificação inesperada, no intraoperatório, de doença metastática abdominal.

O reestadiamento foi realizado após o término da quimioterapia de consolidação, de 1 a 6 semanas antes da operação que foi realizada de 2 a 8 semanas após o término da quimioterapia. Até o momento, ao que se sabe, quando utilizada a radioterapia de curso curto e quimioterapia de consolidação, não há consenso quanto ao tempo a se aguardar para os exames de reestadiamento como para o momento operatório. No próprio RAPIDO, estudo controlado fase III, o planejamento da operação ocorreu de 2 a 4 semanas após o término da quimioterapia e a mediana do momento operatório foi de 25 semanas (Bahadoer *et al.*, 2021).

Quando utilizada a radioterapia de longo curso com quimioterapia concomitante, aos moldes do GERMAN trial, intervalos de tempo maiores entre o término da neoadjuvância e a operação permitem maior resposta tumoral, especialmente em tumores sensíveis. Raciocínio semelhante parece razoável quando empregadas estratégias de terapia neoadjuvante total. No estudo multicêntrico, prospectivo, randomizado, fase II – OPRA TRIAL – a quimioterapia de indução foi comparada à quimioterapia de consolidação, ambas associadas à radioterapia de longo curso. Neste estudo, onde buscava-se a máxima resposta tumoral a fim de possibilitar a implementação da estratégia Watch Wait, o momento do reestadiamento ocorreu de 4 a 12 semanas após o término da neoadjuvância (Garcia-Aguilar *et al.*, 2022).

A definição pelo esquema de radioterapia de curso curto com quimioterapia de consolidação para o nosso estudo ocorreu em meados de 2021. À época, os resultados do RAPIDO trial evidenciavam menor falha de tratamento relacionada à doença, maior taxa de pCR e menor probabilidade de metástase em 3 anos para o braço experimental. Além disso, a utilização da radioterapia de curso curto possibilitava diminuir o tempo de espera para o início do tratamento e reduzia os custos para o sistema de saúde público. Contudo, somente no início de 2023 são

publicados os resultados de maior taxa de recorrência local para o braço experimental (Bahadoer *et al.*, 2021; Dijkstra *et al.*, 2023).

Com o objetivo de estudar o padrão de regressão tumoral e de distribuição das células tumorais residuais, desenvolvemos um protocolo de análise anatomopatológico original. Para identificar onde as células tumorais residuais estavam localizadas e a relação com a lesão residual macroscópica, a área a ser emblocada foi aumentada com a inclusão de toda região tumoral e estendida por 4 cm proximal, lateral e distal à lesão residual. Conseqüentemente, a produção de blocos a serem analisados aumentou de forma considerável quando comparado a análises habituais.

O nosso protocolo de análise anatomopatológica pode ser comparado a outros encontrados na literatura científica pertinente. Em 2012, Hayden *et al.* estudaram o padrão de regressão e a extensão tumoral intramural microscópica em peças de excisão total do mesorreto. Neste estudo, os autores amostraram a área tumoral no formato de relógio, a partir do centro da lesão residual macroscópica, com demarcação de 4 cm proximal, distal e lateralmente. Entretanto, neste protocolo, longas áreas de tecido, principalmente nos centros dos quadrantes superiores e inferiores direito e esquerdo, não foram analisadas (Hayden *et al.*, 2012). É possível que o nosso protocolo possua vantagens. O fato de termos dividido a amostragem da área tumoral e dos 4 cm excedentes no formato de quadrados de 1x1 cm permitiu que todas as áreas fossem avaliadas. Além disso, aplicamos 4 cm excedentes de amostragem a partir dos limites finais da lesão residual e não do centro, o que aumentou ainda mais a área a ser avaliada.

Por sua vez, quanto à ocorrência do padrão de regressão tumoral do tipo fragmentado, este tem, a depender do estudo, variado de 40% a 80%. No nosso estudo, este padrão ocorreu em 45% dos casos. As variáveis associadas a ele foram: tamanho da lesão residual na mucosa > 20 mm, CEA > 5 ng/ml, *Downsizing* < 50% e comprometimento linfonodal anatomopatológico.

O tamanho da lesão residual na mucosa está associada ao estágio T patológico (ypT), com maiores medidas relacionadas a ypT mais avançados (Smith *et al.*, 2012). Relação semelhante existe entre a ocorrência do padrão de regressão fragmentada e o ypT, por conseguinte parece razoável associar o tamanho da anormalidade residual de mucosa e a fragmentação. Por sua vez, a ocorrência de *downsizing* < 50% reflete

uma menor resposta à terapia neoadjuvante o que também é característica da regressão fragmentada (Hav *et al.*, 2015; Fernandez-Acenero *et al.*, 2017).

Já os níveis de CEA acima dos valores normais associam-se à maior possibilidade de doença metastática, maior volume tumoral e pior prognóstico, características em comum com o padrão fragmentado (Li *et al.*, 2021). Finalmente, a relação entre regressão fragmentada e comprometimento linfonodal anatomopatológico já foi descrito. Hav *et cols.* identificaram que a ocorrência do padrão de regressão fragmentado está associado à menor esterilização linfonodal no mesorreto (Hav *et al.*, 2015).

Portanto, as quatro variáveis associadas ao padrão fragmentado retratam uma menor regressão à ação da radioquimioterapia neoadjuvante e pior prognóstico, aspectos condizentes com esta forma de regressão. Um aspecto interessante é que a dosagem do CEA como o downsizing e o tamanho da lesão residual em mucosa podem ser aferidos facilmente e utilizados para predição pré-operatória do padrão de regressão.

Quanto à extensão tumoral intramural microscópica, ela ocorreu na maioria dos casos (25 pacientes – 62,5%) com variação de 1 a 18 mm. Como esperado, todos os casos de regressão fragmentada, exceto um, a apresentaram. Além disso, o fato que todos os casos com extensão tumoral intramural microscópica ≥ 10 mm apresentaram padrão de regressão fragmentado, nos induz a acreditar que estes representam situações de exuberante regressão fragmentada. Não obstante, identificamos que praticamente 1/3 dos pacientes com regressão sólida (7 em 22) apresentaram extensão tumoral intramural microscópica, algo pouco esperado por definição. A partir destes dados, acreditamos que uma margem de 20 mm é o suficiente para operações radicais.

Em 2014, Perez *et al.*, em uma análise retrospectiva de peças de excisão local, composta por casos com lesões residuais de até 3 cm de diâmetro, identificaram o padrão de regressão fragmentado em 37% dos casos e a presença de extensão tumoral intramural microscópica em 53% das peças operatórias, com uma extensão máxima de 7,2 mm (Perez *et al.*, 2014). Esses percentuais são um pouco menores que os nossos. Entretanto, há diferenças entre os dois estudos. No nosso trabalho não houve exclusão de casos de acordo com o tamanho da lesão residual e os esquemas de radioquimioterapia neoadjuvante foram diferentes.

Em outra análise retrospectiva, agora composta por casos de excisão total do mesorreto, Smith et al identificaram um percentual de padrão fragmentado (80% dos casos) e extensão tumoral intramural microscópica (71% das peças operatórias) maiores do que deste trabalho (Smith *et al.*, 2014). Entretanto, a maior medida de extensão tumoral intramural microscópica foi no nosso artigo (9 mm X 18 mm). Essas diferenças podem ser explicadas pelo desenho de cada trabalho (prospectivo x retrospectivo), onde no nosso houve um protocolo de análise anatomopatológica dedicado para amostragem completa da área tumoral e circunvizinha, com controle de direção e espessura. Não menos importante, os esquemas radioquimioterápicos e o momento operatório foram diferentes.

Em nossa compreensão, o estudo de como o tumor regride deve vir acompanhado de por onde ele se distribui, pois o conjunto dessas informações podem impactar na conduta terapêutica do câncer do reto. Em nosso trabalho, como em outros, foi descrita a presença de células tumorais residuais pelas diferentes camadas do reto. No artigo de Duldulao *et al.*, uma análise secundária de dados obtidos a partir de estudo prospectivo fase II, composto por casos estadio II ou III, a presença de CTR na mucosa, submucosa e muscular ocorreu em 14%, 42% e 60%, respectivamente (Duldulao *et al.*, 2013). Os nossos dados são diferentes, com percentuais de 82, 88 e 85, respectivamente. Algumas explicações para justificar tamanha diferença são aventadas. O nosso trabalho foi delineado e conduzido com o objetivo de estudar o padrão de regressão e de distribuição das CTR através de um protocolo de análise anatomopatológica extremamente extenso e pormenorizado. Não há informações a este respeito no trabalho de Duldulao. Talvez essa discrepância entre as metodologias de análise anatomopatológica justifique a diferença. Há outros aspectos que podem ajudar a explicar essa disparidade, como o uso de diferentes esquemas de terapia neoadjuvante e momentos operatórios diversos.

Consideramos importante ressaltar que a descrição de células tumorais residuais na mucosa, ou em qualquer outra camada do reto, não significa que as mesmas são encontradas nesta camada em todos os cortes histológicos que compõe a área tumoral. Muito pelo contrário, houve casos com células tumorais residuais nas camadas mais superficiais em apenas um ou dois cortes histológicos e isso não se repetia em dezenas de outros. Nestes mesmos casos, era comum a identificação de células tumorais residuais em grande quantidade nas camadas mais profundas.

Portanto, não podemos acreditar que uma biópsia endoscópica, com amostragem de apenas mucosa, identificará células tumorais residuais em mais de 80% dos casos.

A simples descrição da presença de células tumorais residuais em uma camada não dá a ideia de onde há a maior concentração delas. Para este objetivo o emprego de uma classificação que retrate o padrão de distribuição das células tumorais residuais é interessante. Até o momento, segundo o nosso conhecimento, não há uma classificação dessas para o câncer do reto. Neste sentido, empregamos uma utilizada para o câncer do esôfago (Shapiro *et al.*, 2013). Esta é composta por 4 tipos: tipo I com células tumorais residuais concentradas em mucosa e submucosa (luminal), tipo II com células tumorais residuais concentradas em muscular e tecido adiposo perirretal (frente invasiva), tipo III com células tumorais residuais concentradas em submucosa e muscular (concêntrica) e tipo IV com padrão aleatório.

Neste trabalho, identificamos uma distribuição semelhante entre os tipos I (31,5%), II (40%) e III (28,5%), com nenhum caso tipo IV. Após a análise multivariada, as variáveis associadas ao tipo I foram a entrega dos 6 ciclos de CAPOX e a ausência de extensão tumoral intramural microscópica. A partir do pressuposto que o padrão de distribuição do tipo I representa situações de maior resposta e sensibilidade tumoral à terapia neoadjuvante, parece razoável a sua associação com a entrega completa da quimioterapia de consolidação, onde mais droga é aplicada e maior é o intervalo entre o início da radioterapia e a operação.

A associação entre padrão de distribuição tipo I e ausência de extensão tumoral intramural microscópica é viável pois ambos representam situações de resposta tumoral favorável à terapia neoadjuvante. Partindo-se do pressuposto que, o padrão de distribuição tipo I representa uma regressão tumoral em direção ao lúmen (camadas mais superficiais) e está associado à ausência de extensão tumoral intramural microscópica (macroscopia coincide com a microscopia), podemos sugerir que os candidatos ideais para uma excisão local são os que apresentam padrão de distribuição do tipo I. Até o momento, não encontramos outros trabalhos em câncer de reto que tenham utilizado esta classificação de padrão de distribuição das células tumorais residuais. Este fato impede que façamos comparações com nossos dados.

No presente estudo também foi analisada a distribuição da doença residual nas cadeias de drenagem linfáticas intramesorretais até o pedículo da artéria mesentérica inferior. O conhecimento das localizações mais comuns de doença linfonodal residual

pode ajudar em diferentes cenários, como: planejamento e direcionamento de doses extras de radioterapia, definição de regiões onde os exames de imagem devem buscar máxima resolução, otimização da técnica operatória, estimativa prognóstica, dentre outras.

Neste trabalho, classificamos os linfonodos e depósitos tumorais de acordo com a sua localização, seguindo a 3rd Edição da Classificação Japonesa de Carcinoma Colorretal. A decisão pelo emprego desta foi pelo fato de ser amplamente conhecida e utilizada, o que facilita comparações com outros trabalhos. Além disso, ao definir a distribuição linfonodal em diferentes grupos permite o desenvolvimento de outras linhas de pesquisa. Por exemplo, os linfonodos perirretais são os únicos que sofrem à ação da radioterapia. É sabido que esta induz redução no número e nas dimensões linfonodais o que pode acarretar modificações no estadiamento patológico, na definição de adjuvância e em estimativa prognóstica. Da mesma forma, a classificação entre linfonodos centrais e intermediários permite comparações entre diferentes extensões de linfadenectomias.

Entretanto, a escolha pela utilização da Classificação Japonesa de Carcinoma Colorretal não é isenta de crítica. A mesma exige que a ligadura da artéria mesentérica inferior seja na sua emergência da aorta, o que pode acarretar em lesão do plexo hipogástrico inferior, sangramentos e alterações da perfusão do cólon abaixado. Ademais, o benefício da ligadura alta não está bem definido para os desfechos oncológicos (Mari *et al.*, 2019).

Neste trabalho, identificamos um total de 38 linfonodos comprometidos em 40 peças operatórias analisadas. Destes, 35 (92%) eram perirretais e 3 (8%) intermediários. Não houve linfonodos centrais comprometidos. Não houve linfonodo comprometido abaixo da margem distal do tumor. Por sua vez, identificamos 6 (15%) pacientes com depósitos tumorais. Todos estes foram encontrados em área de linfonodos perirretais.

Nossos resultados são semelhantes aos de Chen *et al.*, em análise retrospectiva de uma série composta por 179 indivíduos com estadiopatológico III, encontraram que a maioria dos linfonodos comprometidos (80%) estava no compartimento perirretal (Chen *et al.*, 2021). Similarmente, em 2016, Heijnen *et al.*, em uma série de 228 casos de câncer de reto tratados com radioquimioterapia neoadjuvante de longo curso, identificaram em casos ypT0-2N+ que os linfonodos

comprometidos estavam na altura do tumor ou logo acima do mesmo (distância mediana de 1,4 cm do tumor), o que coincide com a estação perirretal da classificação japonesa (Heijnen *et al.*, 2016).

O presente estudo possui limitações inerentes ao desenvolvimento de pesquisa em vida real e conseqüentemente não foi possível o controle perfeito de algumas variáveis, como: momento do reestadiamento, entrega completa da quimioterapia de consolidação e momento da operação. Não obstante, as análises anatomopatológicas foram realizadas por patologista única, altamente qualificada em patologias oncológicas colorretais, o que pode gerar dúvidas quanto à reprodutibilidade dos resultados. Outrossim, não houve uma central de revisão para os laudos de RM.

Por outro lado, este trabalho possui pontos fortes como o seu desenho prospectivo composto por um protocolo de análise anatomopatológica extenso e original. Concomitantemente, o fato de a análise anatomopatológica ter sido realizada por uma patologista dedicada a patologias gastrointestinais reforça a fidedignidade dos resultados. Além disso, o mesmo retrata o padrão de regressão e de distribuição das células tumorais residuais em um contexto de radioterapia de curso curto com quimioterapia de consolidação, aos moldes do RAPIDO Trial, que, até o que se sabe, não há publicações com dados semelhantes na literatura pertinente. Outro fato que julgamos relevante foi o emprego de uma classificação, já utilizada em câncer de esôfago pós-radioterapia, para construção de padrões de distribuição das células tumorais residuais em câncer de reto.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

É possível concluir que após o emprego da radioterapia de curso curto associada à quimioterapia de consolidação, o padrão de regressão do tipo fragmentado é frequente e foi possível a identificação de fatores clínico-patológicos e radiológicos, mas não imuno-histoquímicos, relacionados à ocorrência desta forma de regressão. Quanto à distribuição das células tumorais residuais pelas camadas retais, foi possível identificá-las nas camadas mais superficiais na maioria dos casos. Entretanto, a concentração das mesmas (padrão de distribuição) teve uma distribuição homogênea. Por fim, os linfonodos comprometidos, em sua maioria, estavam localizadas na região perirretal.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- 1 AKAGI, Y.; KINUGASA, T.; SHIROUZU, K. Intersphincteric resection for very low rectal cancer: a systematic review. **Surg Today**, v. 43, n. 8, p.838-847, 2013.
- 2 AMIN, M. B. *et al.* The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. **CA: A Cancer J Clin**, v. 67, n. 2, p.93–99. 2017 Mar.
- 3 ANDRÉ, T. *et al.* Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. **N Engl J Med**, v.383, n. 23, p.2207–2218, 2020.
- 4 ANDREOLA, S.; LEO, E.; BELLI, F. Distal intramural spread in adenocarcinoma of the lower third of the rectum treated with total rectal resection and coloanal anastomosis. **Dis Colon Rectum**, v.40, p. 25–29, 1997.
- 5 ASPLUND, D.; HAGLIND, E.; ANGENETE, E. Outcome of extralevator abdominoperineal excision compared with standard surgery: results from a single centre. **Colorectal Dis**, v. 14, p.1191–1196, 2012.
- 6 BACH, S. P.; GILBERT, A.; BROCK, K.; KORSGEN, S.; GEH, I.; HILL, J.; GILL, T.; HAINSWORTH, P.; TUTTON, M. G.; KHAN, J.; ROBINSON, J.; STEWARD, M.; CUNNINGHAM, C.; LEVY, B.; BEVERIDGE, A.; HANDLEY, K.; KAUR, M.; MARCHEVSKY, N.; MAGILL, L.; RUSSELL, A.; ... TREC collaborators. Radical surgery versus organ preservation via short-course radiotherapy followed by transanal endoscopic microsurgery for early-stage rectal cancer (TREC): a randomised, open-label feasibility study. **Lancet Gastroenterol Hepatol**, v.6, p. 92–105, 2021.
- 7 BAHADOER, R. R.; DIJKSTRA, E. A.; VAN ETEN, B.; MARIJNEN, C. A. M.; PUTTER, H.; KRANENBARG, E. M.; ROODVOETS, A. G. H.; NAGTEGAAL, I. D.; BEETS-TAN, R. G. H.; BLOMQUIST, L. K.; FOKSTUEN, T.; TEN TIJE, A. J.; CAPDEVILA, J.; HENDRIKS, M. P.; EDHEMOVIC, I.; CERVANTES, A.; NILSSON, P. J.; GLIMELIUS, B.; VAN DE VELDE, C. J. H.; HOSPERS, G. A. P.; ... RAPIDO collaborative investigators (2021). Short-course radiotherapy followed by chemotherapy before total mesorectal excision (TME) versus preoperative chemoradiotherapy, TME, and optional adjuvant chemotherapy in locally advanced rectal cancer (RAPIDO): A randomised, open-label, phase 3 trial. **Lancet Oncol**, v. 22, n. 1, p. 29–42, 2021.

- 8 BASKAR, R.; LEE, KA.; YEO, R. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. **Int J Med Sci**, v. 9, p. 193-199, 2012.
- 9 BALFOUR, D. C. A method of anastomosis between sigmoid and rectum. **Dis Colon Rectum**, v. 27, p. 559–562, 1984.
- 10 BEETS-TANN R. G. *et al.* Accuracy of magnetic resonance imaging in prediction of tumour-free resection margin in rectal cancer surgery. **Lancet**, v. 357, n. 9255, p. 497–504, 2001.
- 11 BONJER, H. J.; DEIJEN, C. L.; ABIS, G. A.; CUESTA, M. A.; VAN DER PAS, M. H.; DE LANGE-DE KLERK, E. S.; LACY, A. M.; BEMELMAN, W. A.; ANDERSSON, J.; ANGENETE, E.; ROSENBERG, J.; FUERST, A.; HAGLIND, E.; & COLOR II Study Group. A randomized trial of laparoscopic versus open surgery for rectal cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 14, p. 1324–1332.
- 12 BOSSET, J. F.; CALAIS, G.; MINEUR, L.; MAINGON, P.; STOJANOVIC-RUNDIC, S.; BENSADOUN, R. J.; BARDET, E.; BENY, A.; OLLIER, J. C.; BOLLA, M.; MARCHAL, D.; VAN LAETHEM, J. L.; KLEIN, V.; GIRALT, J.; CLAVÈRE, P.; GLANZMANN, C.; CELLIER, P.; COLLETTE, L.; & EORTC Radiation Oncology Group. Fluorouracil-based adjuvant chemotherapy after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer: Long-term results of the EORTC 22921 randomised study. **Lancet Oncol**, v. 15, n. 2, p. 184–190, 2014.
- 13 BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Ca: A Cancer Journal For Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263.
- 14 BREEN RE. Surgical procedures for carcinoma of the rectum: a historical review. **Dis Colon Rectum**, v. 26, p. 680–685, 1985.
- 15 BREUGOM, A. J. *et al.* Adjuvant chemotherapy for rectal cancer patients treated with preoperative (chemo)radiotherapy and total mesorectal excision: A Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG) randomized phase III trial. **Ann. Oncol**, v. 26, n. 4, p. 696–701, 2015.
- 16 BROWN KGM, SOLOMON MJ, KOH CE. Pelvic Exenteration Surgery: The Evolution of Radical Surgical Techniques for Advanced and Recurrent Pelvic Malignancy. **Dis Colon Rectum**, v. 60, n.7, p.745-754, Jul 2017.

- 17 Swedish Rectal Cancer Trial, CEDERMARK, B.; DAHLBERG, M.; GLIMELIUS, B.; PÅHLMAN, L.; RUTQVIST, L. E.; & WILKING, N.. Improved survival with preoperative radiotherapy in resectable rectal cancer. **N. Engl. J. Med.**, v. 336, n. 4, p. 980–987. 1997.
- 18 CERCEK, A. *et al.* PD-1 Blockade in Mismatch Repair-Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer. **N. Engl. J. Med.** 2022, 386, 2363–2376.
- 19 CHADI, S. A. *et al.* Factors affecting local regrowth after watch and wait for patients with a clinical complete response following chemoradiotherapy in rectal cancer (InterCoRe consortium): an individual participant data meta-analysis. **Lancet Gastroenterol. Hepatol.**, v. 3, n. 12, p. 825–836. 2018.
- 20 CHEN, B. *et al.* Prognostic Value of the Distribution of Lymph Node Metastasis in Locally Advanced Rectal Cancer After Neoadjuvant Chemoradiotherapy. **Front Surg.**, v. 8, p. 749575, 2021 Nov 17.
- 21 CISEŁ, B.; PIETRZAK, L.; MICHALSKI, W.; WYRWICZ, L.; RUTKOWSKI, A.; KOSAKOWSKA, E.; CENCELEWICZ, A.; SPAŁEK, M.; POLKOWSKI, W.; JANKIEWICZ, M.; STYLIŃSKI, R.; BEBENEK, M.; KAPTURKIEWICZ, B.; MACIEJCZYK, A.; SADOWSKI, J.; ZYGULSKA, J.; ZEGARSKI, W.; JANKOWSKI, M.; LAS-JANKOWSKA, M.; TOCZKO, Z.; ... Polish Colorectal Study Group. Long-course preoperative chemoradiation versus 5 × 5 Gy and consolidation chemotherapy for clinical T4 and fixed clinical T3 rectal cancer: long-term results of the randomized Polish II study. **Ann Oncol**, v. 30, n. 8, p. 1298–1303, 2019 Aug 1.
- 22 CLANCY, C. *et al.* Transanal Endoscopic Microsurgery versus Standard Transanal Excision for the Removal of Rectal Neoplasms: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Dis. Colon. Rectum**, v. 58. n. 2, p. 254–261, 2015 Feb.
- 23 CONROY, T.; BOSSET, J. F.; ETIENNE, P. L.; RIO, E.; FRANÇOIS, É.; MESGOUEZ-NEBOUT, N.; VENDRELY, V.; ARTIGNAN, X.; BOUCHÉ, O.; GARGOT, D.; BOIGE, V.; BONICHON-LAMICHHANE, N.; LOUVET, C.; MORAND, C.; DE LA FOUCHARDIÈRE, C.; LAMFICHEKH, N.; JUZYNA, B.; JOUFFROY-ZELLER, C.; RULLIER, E.; MARCHAL, F.; ... Unicancer Gastrointestinal Group and Partenariat de Recherche en Oncologie Digestive (PRODIGE) Group. Neoadjuvant chemotherapy with FOLFIRINOX and preoperative chemoradiotherapy for patients with locally advanced rectal cancer (UNICANCER-PRODIGE 23): A multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. **Lancet Oncol**, v. 22, n. 5, p. 702–715, 2021 May.

- 24 CORMAN, M. L. Contributions of eighteenth and nineteenth century French medicine to colon and rectal surgery. **Dis Colon Rectum**, v. 43, n. Suppl. 6, p. S1–29, 2000 Jun;4.
- 25 DENOST, Q.; RULLIER, E. Intersphincteric resection pushing the envelope for sphincter preservation. **Clin Colon Rectal Surg**, v. 30, n. 5, p. 368–376, 2017 Nov.
- 26 DENOST, Q. *et al.* Intersphincteric resection for low rectal cancer: the risk is functional rather than oncological. A 25-year experience from Bordeaux. **Colorectal Dis**, v. 22, n. 11, p. 1603-1613, 2020 Nov.
- 27 DIJKSTRA, E. A.; NILSSON, P. J.; HOSPERS, G. A. P.; BAHADOER, R. R.; MEERSHOEK-KLEIN KRANENBARG, E.; ROODVOETS, A. G. H.; PUTTER, H.; BERGLUND, Å.; CERVANTES, A.; CROLLA, R. M. P. H.; HENDRIKS, M. P.; CAPDEVILA, J.; EDHEMOVIC, I.; MARIJNEN, C. A. M.; Van de Velde, C. J. H.; Glimelius, B.; Van Etten, B.; & Collaborative Investigators. Locoregional Failure during and after Short-course Radiotherapy followed by Chemotherapy and Surgery Compared to Long-course Chemoradiotherapy and Surgery—A Five-year Follow-up of the RAPIDO Trial. **Ann. Surg.**, v. 278, n. 4, p. e766–e772, 2023 Oct 1.
- 28 DIXON CF. Anterior resection for malignant lesions of the upper part of the rectum and lower part of the sigmoid. **Ann Surg**, v. 128, n. 3, p. 419–429, 1948 Sep.
- 29 DOLLED-FILHART, M. *et al.* Development of a prototype immunohistochemistry assay to measure programmed death ligand-1 expression in tumor tissue. **Arch Pathol Lab Med**, v. 140, n. 11, p. 1259-1266, 2016 Nov.
- 30 DULDULAO, MP. *et al.* Distribution of residual cancer cells in the bowel wall after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal cancer. **Dis Colon Rectum**, v. 56, p.142–149, 2013.
- 31 EMILE, S. H. *et al.* Outcome of lateral pelvic lymph node dissection with total mesorectal excision in treatment of rectal cancer: a systematic review and metaanalysis. **Surgery**, v. 169, p.1005-1015, 2021.
- 32 EMMERTSEN, K. J.; LAURBERG, S. Bowel dysfunction after treatment for rectal cancer. **Acta Oncol.**, v. 47, n. 6, p. 994–1003, 2008.
- 33 ERIKSEN, M. T. *et al.* Inadvertent perforation during rectal cancer resection in Norway. **Br J Surg**, v. 91, p. 210–216, 2004.

- 34 ETIENNE, P. L. *et al.* Total neoadjuvant therapy with mFOLFIRINOX versus preoperative chemoradiation in patients with locally advanced rectal cancer: 7-year results of PRODIGE 23 phase III trial, a UNICANCER GI trial. **J. Clin. Oncol**, v. 41, p. LBA3504, 2023.
- 35 FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, vol. 61, n. 5, p. 759–767, 1990 Jun.
- 36 FERENSCHILD, F. T. *et al.* Total pelvic exenteration for primary and recurrent malignancies. **World J Surg**, v. 33, n. 7, p. 1502–1508, 2009.
- 37 FERNANDEZ-ACENERO, M. J. *et al.* Prognostic influence of histopathological regression patterns in rectal adenocarcinoma receiving neoadjuvant therapy. **J Gastrointestinal Oncol**, v. 8, p. 49–54, 2017.
- 38 FERNANDEZ, L. M.; SÃO JULIÃO, G. P.; FIGUEIREDO, N. L.; BEETS, G. L.; VAN DER VALK, M. J. M.; BAHADOER, R. R.; HILLING, D. E.; MEERSHOEK-KLEIN KRANENBARG, E.; ROODVOETS, A. G. H.; RENEHAN, A. G.; VAN DE VELDE, C. J. H.; HABR-GAMA, A.; PEREZ, R. O.; & INTERNATIONAL WATCH & WAIT DATABASE CONSORTIUM. Conditional recurrence-free survival of clinical complete responders managed by watch and wait after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer in the International Watch & Wait Database: a retrospective, international, multicentre registry study. **The Lancet. Oncology**, v. 22, n. 1, p. 43–50, 2021.
- 39 FLESHMAN, J. *et al.* Effect of laparoscopic-assisted resection vs open resection of stage II or III rectal cancer on pathologic outcomes: the ACOSOG Z6051 randomized clinical trial. **JAMA**, v. 314, n. 13, p. 1346–1355, 2015.
- 40 FLESHMAN, J. *et al.* Disease-free survival and local recurrence for laparoscopic resection compared with open resection of stage II to III rectal cancer: follow-up results of the ACOSOG Z6051 randomized controlled trial. **Ann Surg**, v. 269, n. 4, p. 589-595, 2019 Apr.
- 41 FOLKESSON, J. *et al.* Swedish Rectal Cancer Trial: Long lasting benefits from radiotherapy on survival and local recurrence rate. **J. Clin. Oncol**, v. 23, n. 24, p. 5644–5650, 2005 Aug 20.
- 42 FOKAS, E.; ALLGÄUER, M.; POLAT, B.; KLAUTKE, G.; GRABENBAUER, G. G.; FIETKAU, R.; KUHN, T.; STAIB, L.; BRUNNER, T.; GROSU, A. L.; SCHMIEGEL, W.; JACOBASCH, L.; WEITZ, J.; FOLPRECHT, G.; SCHLENSKA-LANGE, A.; FLENTJE, M.; GERMER, C. T.; GRÜTZMANN, R.; SCHWARZBACH, M.; PAOLUCCI, V.; ... GERMAN RECTAL CANCER

- STUDY GROUP. Randomized Phase II Trial of Chemoradiotherapy Plus Induction or Consolidation Chemotherapy as Total Neoadjuvant Therapy for Locally Advanced Rectal Cancer: CAO/ARO/AIO-12. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 37, n. 34, p. 3212–3222, 2019.
- 43 FOKAS, E.; SCHLENSKA-LANGE, A.; POLAT, B.; KLAUTKE, G.; GRABENBAUER, G. G.; FIETKAU, R.; KUHN, T.; STAIB, L.; BRUNNER, T.; GROSU, A. L.; KIRSTE, S.; JACOBASCH, L.; ALLGÄUER, M.; FLENTJE, M.; GERMER, C. T.; GRÜTZMANN, R.; HILDEBRANDT, G.; SCHWARZBACH, M.; BECHSTEIN, W. O.; SÜLBERG, H.; ... German Rectal Cancer Study Group. Chemoradiotherapy Plus Induction or Consolidation Chemotherapy as Total Neoadjuvant Therapy for Patients with Locally Advanced Rectal Cancer: Long-term Results of the CAO/ARO/AIO-12 Randomized Clinical Trial. **JAMA Oncol.**, v.8, n. 1, p. e215445, 2022 Jan 1.
- 44 Frykholm GJ, Glimelius B, Pahlman L. Preoperative or postoperative irradiation in adenocarcinoma of the rectum: final treatment results of a randomized trial and an evaluation of late secondary effects. **Dis Colon Rectum.**, v.36, n.6, p. 564-572, 1993 Jun.
- 45 GARCIA-AGUILAR, J.; CHOW, O. S.; SMITH, D. D.; MARCET, J. E.; CATALDO, P. A.; VARMA, M. G.; KUMAR, A. S.; OOMMEN, S.; COUTSOFTIDES, T.; HUNT, S. R.; STAMOS, M. J.; TERNENT, C. A.; HERZIG, D. O.; FICHERA, A.; POLITE, B. N.; DIETZ, D. W.; PATIL, S.; AVILA, K.; & Timing of Rectal Cancer Response to Chemoradiation Consortium. Effect of adding mFOLFOX6 after neoadjuvant chemoradiation in locally advanced rectal cancer: A multicentre, phase 2 trial. **Lancet Oncol.**, v. 16, n. 8, p. 957–966, 2015.
- 46 GARCIA-AGUILAR, J. *et al.* Organ preservation for clinical T2N0 distal rectal cancer using neoadjuvant chemoradiotherapy and local excision (ACOSOG Z6041): results of an open-label, single-arm, multi-institutional, phase 2 trial. **Lancet Oncol.**, v. 16, n. 15, p.1537–1546, 2015.
- 47 GARCIA-AGUILAR, J. *et al.* Organ Preservation in Patients With Rectal Adenocarcinoma Treated With Total Neoadjuvant Therapy. **J. Clin. Oncol.**, v. n. 40, p. 2546–2556, 2022 Aug 10.
- 48 GASTROINTESTINAL TUMOR STUDY GROUP. Prolongation of the disease-free interval in surgically treated rectal carcinoma. **N Engl J Med**, v. 312, p. 1465-1472, 1985.

- 49 GAVARUZZI, T. *et al.* Colonic J-pouch or straight colorectal reconstruction after low anterior resection for rectal cancer: impact on quality of life and bowel function. A multicenter prospective randomized study. **Dis Colon Rectum**, v. 63, n. 11, p. 1511-1523, 2020 Nov.
- 50 GOLIGHER, J. C.; Dukes, C. E.; Bussey HJ. Local recurrences after sphincter saving excisions for carcinoma of the rectum and rectosigmoid. **Br J Surg**, v. 39, p. 199–211, 1951 Nov.
- 51 GOSENS, M. J. *et al.* Circumferential margin involvement is the crucial prognostic factor after multimodality treatment in patients with locally advanced rectal carcinoma. **Clin Cancer Res**, v. 13, p. 6617–6623, 2007 Nov 15.
- 52 GRANEY, M. J.; GRANEY, C. M. Colorectal surgery from antiquity to the modern era. **Dis Colon Rectum**, v. 23, p. 432–441, 1980.
- 53 GRASS, J. K. *et al.* Robotic rectal resection preserves anorectal function: Systematic review and meta-analysis. **Int J Med Robot**, 1 v. 7, p. e2329, 2021.
- 54 GUEDJ, N. *et al.* Distal intramural and tumor spread in the mesorectum after neoadjuvant radiochemotherapy in rectal cancer: about 124 consecutive patients. **Hum Pathol**, v. 2016, n. 52, p. 164–172, 2016 Jun.
- 55 HABR-GAMA, A. *et al.* Operative versus nonoperative treatment for stage 0 distal rectal cancer following chemoradiation therapy: long-term results. **Ann Surg**, v. 240, n. 4, p. 711–717, 2004.
- 56 HABR-GAMA, A. *et al.* Complete clinical response after neoadjuvant chemoradiation therapy for distal rectal cancer: characterization of clinical and endoscopic findings for standardization. **Dis Colon Rectum**, v. 53, p. 1692–1698, 2010.
- 57 HABR-GAMA A. *et al.* Local recurrence after complete clinical response and watch and wait in rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation: impact of salvage therapy on local disease control. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 88, n. 4, p. 822–828, 2014.
- 58 HABR-GAMA A. *et al.* Organ preservation in cT2N0 rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation therapy: the impact of radiation therapy dose-escalation and consolidation chemotherapy. **Ann Surg**, v. 269, n. 1, p 102–107, 2019.

- 59 HARRIS CA. *et al.* The outcomes and patterns of treatment failure after surgery for locally recurrent rectal cancer. **Ann Surg.**, v. 264, n. 2, p.323–329, 2016.

- 60 Hashiguchi, Y.; Muro, K.; Saito, Y.; Ito, Y.; Ajioka, Y.; Hamaguchi, T.; Hasegawa, K.; Hotta, K.; Ishida, H.; Ishiguro, M.; Ishihara, S.; Kanemitsu, Y.; Kinugasa, Y.; Murofushi, K.; Nakajima, T. E.; Oka, S.; Tanaka, T.; Taniguchi, H.; Tsuji, A.; Uehara, K.; ... Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. **Int J Clin Oncol.**, v. 25, n. 1, p. 1-42, 2020 Jan.
- 61 HAV, M. *et al.* Prognostic value of tumor shrinkage versus fragmentation following radiochemotherapy and surgery for rectal cancer. **Virchows Archiv: Int J Pathol**, v. 466, n. 5, p. 517–523, 2015 May.
- 62 HAYDEN, D. M. *et al.* Tumor scatter after neoadjuvant therapy for rectal cancer: are we dealing with an invisible margin? **Dis Colon Rectum**, v. 55, n. 12, p. 1206–1212, 2012.
- 63 HEALD, R. J.; HUSBAND, E. M.; RYALL, R. D. The mesorectum in rectal cancer surgery- the clue to pelvic recurrence? **Br J Surg Oct**, v. 69, n. 10, p. 613-616, 1982 Oct.
- 64 HEALD, R. J.; RYALL, RD. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. **Lancet**, v. 1, n. 8496, p. 1479-1482, 1986 Jun 28.
- 65 HEALD, R. J. *et al.* Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997. **Arch Surg**, v. 133, n. 8, p. 894–899, 1998 Aug.
- 66 HEIJNEN, L. A. *et al.* Good and complete responding locally advanced rectal tumors after chemoradiotherapy: where are the residual positive nodes located on restaging MRI? **Abdom Radiol (NY)**, v. 41, n. 7, p. 1245-1252, 2016 Jul.
- 67 HENDREN, S. K. *et al.* Prevalence of male and female sexual dysfunction is high following surgery for rectal cancer. **Ann Surg**, v. 242, n. 2, p. 212–223, 2005 Aug.
- 68 Ho VP, Lee Y, Stein SL, Temple LK. Sexual function after treatment for rectal cancer: a review. **Dis Colon Rectum**, v. 54, n. 1, p. 113-125, 2011 Jan.
- 69 HOJO, K. *et al.* Preservation of urine voiding and sexual function after rectal cancer surgery. **Dis Colon Rectum**, v. 34, n. 7, p. 532–539, 1991.
- 70 HOLM, T. *et al.* Extended abdominoperineal resection with gluteus maximus flap reconstruction of the pelvic floor for rectal cancer. **Br J Surg**, v. 94, n. 2, p.232–238, 2007

- 71 HONG, Y.S. *et al.* Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus fluorouracil and leucovorin as adjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy (ADORE): An open-label, multicentre, phase 2, randomised controlled trial. **Lancet Oncol.**, v. 15, n. 11, p. 1245–1253. 2014 Oct.
- 72 HUANG, C.-Y. *et al.* Clinical Significance of Programmed Death 1 Ligand-1 (CD274/PD-L1) and Intra-Tumoral CD8+ T-Cell Infiltration in Stage II-III Colorectal Cancer. **Sci. Rep.**, v. 8, n. 1, p. 15658, 2018 Oct 23.
- 73 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativas de incidência: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2023. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>.
- 74 IWAI, Y. *et al.* Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 19, p. 12293-12297, 2002 Sep 17.
- 75 JAPANESE SOCIETY FOR CANCER OF THE COLON AND RECTUM. Japanese Classification of Colorectal Carcinoma. 3rd English edition. **J Anus Rectum Colon**, v. 3, n. 4, p. 175-195, 2019 Oct 30.
- 76 JAYNE, D. G.; GUILLOU, P. J.; THORPE, H.; QUIRKE, P.; COPELAND, J.; SMITH, A. M.; HEATH, R. M.; BROWN, J. M.; & UK MRC CLASICC Trial Group. Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-year results of the UK MRC CLASICC Trial Group. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 25, n. 21, p. 3061–3068, 2007.
- 77 JAYNE, D. *et al.* Effect of robotic-assisted vs conventional laparoscopic surgery on risk of conversion to open laparotomy among patients undergoing resection for rectal cancer: the ROLARR randomized clinical trial. **JAMA**, v. 318, n. 16, p. 1569–1580, 2017 Oct 24.
- 78 JEONG, S.Y. *et al.* Open versus laparoscopic surgery for midrectal or low-rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): survival outcomes of an open-label, noninferiority, randomised controlled trial. **Lancet Oncol**, v. 15, n. 7, p. 767-774, 2014 Jun.
- 79 JIN, J. *et al.* Multicenter, randomized, phase III trial of short-term radiotherapy plus chemotherapy versus long-term chemoradiotherapy in locally advanced

- rectal cancer (STELLAR). **J Clin Oncol**, v. 40, n. 15, p. 1681–1692. 2022 May 20.
- 80 JUUL, T. *et al.* Low anterior resection syndrome and quality of life: an international multicenter study. **Dis Colon rectum**, v. 57, n. 5, p. 585–591, 2014 May.
- 81 KANG, J. H. *et al.* Tumor volume changes assessed by three-dimensional magnetic resonance volumetry in rectal cancer patients after preoperative chemoradiation: the impact of the volume reduction ratio on the prediction of pathologic complete response. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 76, n. 4, p. 1018–1025, 2010 Mar 15,
- 82 KANG, S. B. *et al.* Open versus laparoscopic surgery for mid or low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): short-term outcomes of an open-label randomised controlled trial. **Lancet Oncol**, v. 11, n. 7, p. 11:637-645, 2010.
- 83 KAPITEIJN, E.; MARIJNEN, C. A.; NAGTEGAAL, I. D.; PUTTER, H.; STEUP, W. H.; WIGGERS, T.; RUTTEN, H. J.; PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; VAN KRIEKEN, J. H.; LEER, J. W.; VAN DE VELDE, C. J.; & Dutch Colorectal Cancer Group. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. **N Engl J Med**, v. 345, n. 9, p. 638-646, 2001 Aug 30.
- 84 KAWADA, K. *et al.* A comparison of the long-term anorectal function between laparoscopic intersphincteric resection and low anterior resection for low rectal cancer. **Surg Today**, v. 48, n. 10, p. 921–927, 2018 Oct.
- 85 KIM, J. Pelvic exenteration: surgical approaches. **J Korean Soc Coloproctol**, v. 28, n. 6, p. 286-293, 2012 Dec 31.
- 86 KIM, N. K.; KIM, M. S.; AL-ASARI, S. F. Update and debate issues in surgical treatment of middle and low rectal cancer. **J Korean Soc Coloproctol**, v. 28, n. 5, p. 230-240, 2012 Oct.
- 87 KOKELAAR, R. F *et al.* Locally advanced rectal cancer: management challenges. **Onco Targets Ther**, v. 9, p. 6265–6272, 2016 Oct 13.
- 88 KONG, J. C. *et al.* Outcome and Salvage Surgery Following “Watch and Wait” for Rectal Cancer after Neoadjuvant Therapy: A Systematic Review. **Dis Colon Rectum**, v. 60, n. 3, p. 335–345, 2017 Mar.

- 89 KROON, H. M. *et al.* Local recurrences in western low rectal cancer patients treated with or without lateral lymph node dissection after neoadjuvant (chemo)radiotherapy: an international multi-centre comparative study. **Eur J Surg Oncol**, v. 47, n. 9, p. 2441-2449, 2021 Sep.
- 90 LAMBREGTS, D. M. J. *et al.* Diffusion-weighted MRI for selection of complete responders after chemoradiation for locally advanced rectal cancer: a multicenter study. **Ann Surg Oncol**, v. 18, n. 8, p. 2224–2231. 2011Aug.
- 91 LANGE, M. M.; RUTTEN, H. J.; Van de VELDE, C. J. H. One hundred years of curative surgery for rectal cancer: 1908–2008. **Eur J Surg Oncol**, v. 35, n. 5, p. 456–463, 2009 May.
- 92 LEE, L. *et al.* Quality of local excision for rectal neoplasms using transanal endoscopic microsurgery versus transanal minimally invasive surgery: a multi-institutional matched analysis. **Dis Colon Rectum**, v. 60, n. 9, p. 928–935, 2017 Sep.
- 93 LEIBOLD, T. *et al.* Prognostic implications of the distribution of lymph node metastases in rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy. **J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol**, v. 26n. 13, p. 2106–2111, 2008 May 1.
- 94 LHUILLIER, C. *et al.* Radiation therapy and anti-tumor immunity: exposing immunogenic mutations to the immune system. **Genome Med**, v. 11, n. 1, p. 40, 2019 Jun 20.
- 95 LI, X. *et al.* Prognostic value of the ratio of carcinoembryonic antigen concentration to maximum tumor diameter in patients with stage II colorectal cancer. **J Gastrointest Oncol**, v. 12, n. 4, p. 1470–1481, 2021 Aug.
- 96 LYTTLE, J. A.; PARKS, A. G. Intersphincteric excision of the rectum. **Br J Surg**, v. 64, n. 6, p. 413-416, 1977 Jun.
- 97 MAAS, M. *et al.* V. Long-term outcome in patients with a pathological complete response after chemoradiation for rectal cancer: a pooled analysis of individual patient data. **Lancet Oncol**, v. 11, n. 9, p. 835–844. 2010 Sept.
- 98 MAAS, M. *et al.* Assessment of Clinical Complete Response After Chemoradiation for Rectal Cancer with Digital Rectal Examination, Endoscopy, and MRI: Selection for Organ-Saving Treatment. **Ann. Surg. Oncol.**, v. 22, n. 12, p. 3873–3880, 2015 Nov.

- 99 MANDARD, A. M. *et al.* Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. **Cancer**, v. 73, n. 11, p. 2680–2686, 1994 Jun 1.
- 100 MARI, G. M. *et al.* Low Ligation of Inferior Mesenteric Artery in Laparoscopic Anterior Resection for Rectal Cancer Reduces Genitourinary Dysfunction: Results From a Randomized Controlled Trial (HIGHLOW Trial). **Ann Surg**, v. 269, n. 6, p. 1018-1024, 2019 Jun.
- 101 MARTENS, M. H.; *et al.* Prospective, multicenter validation study of magnetic resonance volumetry for response assessment after preoperative chemoradiation in rectal cancer: Can the results in the literature be reproduced? **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 93, n. 5, p. 1005–1014, 2015 Dec 1.
- 102 MARTINEZ-PEREZ, A. *et al.* Pathologic outcomes of laparoscopic vs open mesorectal excision for rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. **JAMA Surg**, v. 152, n. 4, p. e165665, 2017 Apr 19.
- 103 MATSUTANI, S. *et al.* Significance of tumor-infiltrating lymphocytes before and after neoadjuvant therapy for rectal cancer. **Cancer Sci**, v. 109, n. 4, p. 966-979, 2018 Apr.
- 104 Miles WE. A method of performing abdomino-perineal excision for carcinoma of the rectum and of the terminal portion of the pelvic colon (1908). **CA Cancer J Clin**, v. 21, n.6, p.361-364, 1971 Nov-Dec.
- 105 MIRNEZAMI, R.; MIRNEZAMI, A. Multivisceral Resection of Advanced Pelvic Tumors: From Planning to Implementation. **Clin Colon Rectal Surg**, v. 33, n. 5, p. 268-278, 2020 Sep.
- 106 Nacion, A. J. D. *et al.* Critical and challenging issues in the surgical management of low-lying rectal cancer. **Yonsei Med J**, v. 59, n. 6, p. 703-716. 2018 Aug.
- 107 NAGTEGAAL, I. D.; Van de VELDE, C. J.; Van der WORP, E.; KAPITEIJN, E.; QUIRKE, P.; Van KRIEKEN, J. H.; & Cooperative Clinical Investigators of the Dutch Colorectal Cancer Group. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. **J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol**, v. 20, n. 7, p. 1729–1734, 2002 Apr 1.
- 108 NAGTEGAAL, I. D.; MARIJNEN, C. A.; KRANENBARG, E. K.; Van de VELDE, C. J.; Van KRIEKEN, J. H.; Pathology Review Committee, & Cooperative Clinical Investigators. Circumferential margin involvement is still an important predictor of local recurrence in rectal carcinoma: not one millimeter but two

- millimeters is the limit. **The American journal of surgical pathology**, v. 26, n. 3, p. 350–357. 2002
- 109 NAGTEGAAL, I. D.; Van de VELDE, C. J.; MARIJNEN, C. A.; Van KRIEKEN, J. H.; QUIRKE, P.; Dutch Colorectal Cancer Group, & Pathology Review Committee (2005). Low rectal cancer: a call for a change of approach in abdominoperineal resection. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 23, n. 36, p. 9257–9264.
- 110 NAGTEGAAL, I. D. GLYNNE-JONES, R. How to measure tumour response in rectal cancer? An explanation of discrepancies and suggestions for improvement. **Cancer Treat Rev**, v. 84, p. 101964. 2020 Mar.
- 111 NAKAGOE, T. *et al.* Survival and recurrence after a sphincter-saving resection and abdominoperineal resection for adenocarcinoma of the rectum at or below the peritoneal reflection: a multivariate analysis. **Surg Today**, v. 34, n. 1, p. 32-39, 2004.
- 112 NAKAGOE, T. *et al.* Oncological outcome of ultra-low anterior resection with total mesorectal excision for carcinoma of the lower third of the rectum: comparison of intrapelvic double-stapled anastomosis and transanal coloanal anastomosis. **Hepatogastroenterology**, v. 52, n. 66, p. 1692-1697, 2005 Nov-Dec.
- 113 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Rectal Cancer Version 6.2023, November 2023.
- 114 OGURA, A.; KONISHI, T.; CUNNINGHAM, C.; GARCIA-AGUILAR, J.; IVERSEN, H.; TODA, S.; LEE, I. K.; LEE, H. X.; UEHARA, K.; LEE, P.; PUTTER, H.; VAN DE VELDE, C. J. H.; BEETS, G. L.; RUTTEN, H. J. T.; KUSTERS, M.; & Lateral Node Study Consortium. Neoadjuvant (chemo)radiotherapy with total mesorectal excision only is not sufficient to prevent lateral local recurrence in enlarged nodes: results of the multicenter lateral node study of patients with low cT3/4 rectal cancer. **J Clin Oncol**, v. 37, n. 1, p. 33-43, 2019 Jan 1.
- 115 OKADA, K. *et al.* Effects of chemoradiotherapy on lymph nodes in patients with rectal adenocarcinoma: Evaluation of numbers and sizes of retrieved lymph nodes inside and outside the radiation field. **Anticancer Res**, v. 34, n. 8, p.4195-4200, 2014 Aug.
- 116 PARK, J. H. *et al.* The relationship between tumour stroma percentage, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable

- colorectal cancer. **Ann Oncol: Off J Europ Soc Med Oncol/ESMO**, v. 25, n. 3, p. 644–651, 2014 Mar.
- 117 PARK, J. S. *et al.* A circumferential resection margin of 1 mm is a negative prognostic factor in rectal cancer patients with and without neoadjuvant chemoradiotherapy. **Dis Colon Rectum**, v. 57, n. 8, p. 933–940, 2014 Aug.
- 118 PARKS, A. G.; PERCY, J. P. Resection and sutured colo-anal anastomosis for rectal carcinoma. **Br J Surg**, v. 69, n. 6, p. 301–304, 1982 Jun.
- 119 PATEL U. B. *et al.* Magnetic resonance imaging-detected tumor response for locally advanced rectal cancer predicts survival outcomes: MERCURY experience. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 28, p. 3753–3760, 2011 Oct 1.
- 120 PATEL, U. B. *et al.* Comparison of magnetic resonance imaging and histopathological response to chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. **Ann Surg Oncol**, v. 19, n. 9, p. 2842–2852. 2012 Sep.
- 121 PAWLIK, T. M.; SKIBBER, J. M.; RODRIGUEZ-BIGAS, M. A. Pelvic exenteration for advanced pelvic malignancies. **Ann Surg Oncol**, v. 13, n. 5, p. 612–623, 2006 May.
- 122 PEETERS, K. C.; MARIJNEN, C. A.; NAGTEGAAL, I. D.; KRANENBARG, E. K.; PUTTER, H.; WIGGERS, T.; RUTTEN, H.; PAHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; LEER, J. W.; Van de VELDE, C. J.; & Dutch Colorectal Cancer Group. The TME trial after a median follow-up of 6 years: increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. **Annals of surgery**, v. 246, n. 5, p. 693–701, 2007 Nov.
- 123 PEREZ, R. O. *et al.* Fragmented pattern of tumor regression and lateral intramural spread may influence margin appropriateness after TEM for rectal cancer following neoadjuvant CRT. **J Surg Oncol**, v. 109, n. 8, p. 853–858, 2014 Jun.
- 124 PLATT, E.; DOVELL, G.; & SMOLAREK, S. Systematic review of outcomes following pelvic exenteration for the treatment of primary and recurrent locally advanced rectal cancer. **Tech Coloproctol**, v. 22, n. 11, p. 835–845, 2018 Nov.
- 125 POLLETT, W. G.; NICHOLL, S. R. J. The relationship between the extent of distal clearance and survival and local recurrence rates after curative anterior resection for carcinoma of the rectum. **Ann Surg**, v. 198, n. 2, p. 159–163, 1983 Aug.

- 126 Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum [Internet]. **College of American Pathologists**. Version 4.2.0.2. [June 2022].
- 127 RÖDEL, C.; GRAEVEN, U.; FIETKAU, R.; HOHENBERGER, W.; HOTHORN, T.; ARNOLD, D.; HOFHEINZ, R. D.; GHADIMI, M.; WOLFF, H. A.; LANG-WELZENBACH, M.; RAAB, H. R.; WITTEKIND, C.; STRÖBEL, P.; STAIB, L.; WILHELM, M.; GRABENBAUER, G. G.; HOFFMANN, H.; LINDEMANN, F.; SCHLENSKA-LANGE, A.; FOLPRECHT, G.; ... German Rectal Cancer Study Group. Oxaliplatin added to fluorouracil-based preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy of locally advanced rectal cancer (the German CAO/ ARO/AIO-4 study): final results of the multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. **Lancet Oncol**, v. 16, n. 8, p. 979–989, 2015 Aug.
- 128 ROGERS, A. C. *et al.* Prognostic significance of tumor budding in rectal cancer biopsies before neoadjuvant therapy. **Mod Pathol: Off J United States Can Acad Pathol, Inc**, v. 27, n. 1, p. 156–162, 2014 Jan.
- 129 RULLIER, E. *et al.* Laparoscopic intersphincteric resection with coloanal anastomosis for mid and low rectal cancer. **Br J Surg**, v. 90, n. 4, p. 445-451, 2003 Apr.
- 130 RULLIER, E. *et al.* Sphincter-saving resection for all rectal carcinomas: the end of the 2-cm distal rule. **Ann Surg**, v. 241, n. 3, p. 465-469. 2005 Mar.
- 131 RULLIER, E. *et al.* Organ preservation for rectal cancer (GRECCAR 2): a prospective, randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. **Lancet**, v. 390, n. 10093, p. 469–479, 2017 Jul 29.
- 132 RUO, L.; GUILLEM, J. G. Major 20th-century advancements in the management of rectal cancer. **Dis Colon Rectum**, v. 42, n. 5, p. 563–578, 1999 May.
- 133 SAUER, R.; BECKER, H.; HOHENBERGER, W.; RÖDEL, C.; WITTEKIND, C.; FIETKAU, R.; MARTUS, P.; TSCHMELITSCH, J.; HAGER, E.; HESS, C. F.; KARSTENS, J. H.; LIERSCH, T.; SCHMIDBERGER, H.; RAAB, R.; & German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. **N Engl J Med**, v. 351, n. 17, p. 1731-1740, 2004 Oct 21.

- 134 SAURI, F. *et al.* Does the timing of protective ileostomy closure post-low anterior resection have an impact on the outcome? A retrospective study. **Asian J Surg**, v. 44, n. 1, p. 374-379, 2021 Jan.
- 135 SCHIESSEL, R. *et al.* Intersphincteric resection for low rectal tumours. **Br J Surg**, v. 81n. 9, p. 1376-1378, 1994 Sep.
- 136 SCHRAG, D. *et al.* Preoperative Treatment of Locally Advanced Rectal Cancer. **N. Engl. J. Med**, v. 389, n. 4, p. 322–334, 2023 Jul 27.
- 137 SCHREIBER, R. D.; OLD, L. J.; SMYTH, M. J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. **Science**, v. 331, n. 6024, p. 1565-1570, 2011 Mar 25.
- 138 SCLAFANI, F. *et al.* Comparison between MRI and pathology in the assessment of tumour regression grade in rectal cancer. **Br. J. Cancer**, v. 117, n. 10, p. 1478–1485, 2017 Nov 7.
- 139 SHAPIRO, J. *et al.* Residual esophageal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy frequently involves the mucosa and submucosa. **Ann Surg**, v. 258, n. 5, p. 258:678-688, 2013 Nov.
- 140 SMITH, F. M. *et al.* The surgical significance of residual mucosal abnormalities in rectal cancer following neoadjuvant chemoradiotherapy. **Br J Surg**, v. 99, n. 7, p. 993–1001, 2012 Jul.
- 141 SMITH, F. M. *et al.* Depth and lateral spread of microscopic residual rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation: Implications for treatment decisions. **Colorectal Dis**, v 16, n. 8, p. 16, 610–615, 2014 Aug.
- 142 SMITH, J. J. *et al.* Assessment of a Watch-and-Wait Strategy for Rectal Cancer in Patients With a Complete Response After Neoadjuvant Therapy. **JAMA Oncol.**, v. 5, n. 4, p. e185896, 2019 Apr 1.
- 143 STEVENSON, A. R.; SOLOMON, M. J.; LUMLEY, J. W.; HEWETT, P.; CLOUSTON, A. D.; GEBSKI, V. J.; DAVIES, L.; WILSON, K.; HAGUE, W.; SIMES, J.; & ALaCaRT Investigators. Effect of Laparoscopic-Assisted Resection vs Open Resection on Pathological Outcomes in Rectal Cancer: The ALaCaRT Randomized Clinical Trial. **JAMA**, v. 314, n. 13, p. 1356–1363, 2015 Oct 6.
- 144 STEVENSON, A. R. L.; SOLOMON, M. J.; BROWN, C. S. B.; LUMLEY, J. W.; HEWETT, P.; CLOUSTON, A. D.; GEBSKI, V. J.; WILSON, K.; HAGUE, W.; SIMES, J.; & Australasian Gastro-Intestinal Trials Group (AGITG) ALaCaRT

- investigators. Disease-free survival and local recurrence after laparoscopic-assisted resection or open resection for rectal cancer: the Australasian Laparoscopic Cancer of the Rectum randomized clinical trial. **Ann Surg**, v. 269, n. 4, p.596-602, 2019 Apr.
- 145 STIJNS, R.C.H. *et al.* Endoscopy and MRI for restaging early rectal cancer after neoadjuvant treatment. **Colorectal Dis**, v. 25, n. 2, p. 211–221, 2023 Feb.
- 146 TAYLOR, F. G.; QUIRKE, P.; HEALD, R. J.; MORAN, B.; BLOMQUIST, L.; SWIFT, I.; SEBAG-MONTEFIORE, D. J.; TEKKIS, P.; BROWN, G.; & MERCURY Study Group. Preoperative high-resolution magnetic resonance imaging can identify good prognosis stage I, II, and III rectal cancer best managed by surgery alone: a prospective, multicenter, European study. **Ann Surg**, v. 253, n. 4, p. 711–719, 2011 Apr.
- 147 TEMMINK, S. J. D.; PEETERS, K. C. M. J.; BAHADOER, R. R.; KRANENBARG, E. M.; ROODVOETS, A. G. H.; MELENHORST, J.; BURGER, J. W. A.; WOLTHUIS, A.; RENEHAN, A. G.; FIGUEIREDO, N. L.; PARES, O.; MARTLING, A.; PEREZ, R. O.; BEETS, G. L.; VAN DE VELDE, C. J. H.; NILSSON, P. J.; & International Watch & Wait Database (IWWD) Consortium. Watch and wait after neoadjuvant treatment in rectal cancer: comparison of outcomes in patients with and without a complete response at first reassessment in the International Watch & Wait Database (IWWD). **Br J Surg**, v. 110, n. 6, p. 676–684, 2023 May 16.
- 148 THEELEN, W. S. *et al.* Effect of Pembrolizumab After Stereotactic Body Radiotherapy vs Pembrolizumab Alone on Tumor Response in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Results of the PEMBRO-RT Phase 2 Randomized Clinical Trial. **JAMA Oncol**, v. 5, n. 9, p. 1276-1282, 2019 Sep 1.
- 149 TOYOTA, M. *et al.* Identification of Differentially Methylated Sequences in Colorectal Cancer by Methylated CpG Island Amplification. **Cancer Res**, v. 59, n. 10, p. 2307-2312, 1999 May 15.
- 150 UMAR, A. *et al.* Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. **J Nat Cancer Inst**, v. 96, n. 4, p. 261–268, Feb. 2004.
- 151 Van der PAS, M. H.; HAGLIND, E.; CUESTA, M. A.; FÜRST, A.; LACY, A. M.; HOP, W. C.; BONJER, H. J.; & Colorectal cancer Laparoscopic or Open Resection II (COLOR II) Study Group. Laparoscopic versus open surgery for

- rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial. **The Lancet. Oncology**, v. 14, n. 3, p. 210–218, 2013 Mar.
- 152 Van der VALK, M. J. M.; HILLING, D. E.; BASTIAANNET, E.; MEERSHOEK-KLEIN KRANENBARG, E.; BEETS, G. L.; FIGUEIREDO, N. L.; HABR-GAMA, A.; PEREZ, R. O.; RENEHAN, A. G.; VAN DE VELDE, C. J. H.; & IWWD Consortium. Long-term outcomes of clinical complete responders after neoadjuvant treatment for rectal cancer in the International Watch & Wait Database (IWWD): an international multicentre registry study. **Lancet (London, England)**, v. 391, n. 10139, p. 2537–2545, 2018 Jun 23.
- 153 Van GIJN, W.; MARIJNEN, C. A.; NAGTEGAAL, I. D.; KRANENBARG, E. M.; PUTTER, H.; WIGGERS, T.; RUTTEN, H. J.; PÅHLMAN, L.; GLIMELIUS, B.; Van de VELDE, C. J.; & Dutch Colorectal Cancer Group. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer: 12-year follow-up of the multicentre, randomised controlled TME trial. **The Lancet. Oncology**, v. 12, n. 6, p. 575–582, 2011 Jun.
- 154 VERHEIJ, F. S. *et al.* Long-Term Results of Organ Preservation in Patients with Rectal Adenocarcinoma Treated with Total Neoadjuvant Therapy: The Randomized Phase II OPRA Trial. **J. Clin. Oncol**, p. 42, n. 5, p. 500–506, 2024 Feb 10.
- 155 VERSEVELD, M.; de GRAAF, E. J.; VERHOEF, C.; Van MEERTEN, E.; PUNT, C. J.; de HINGH, I. H.; NAGTEGAAL, I. D.; NUYTENS, J. J.; MARIJNEN, C. A.; de WILT, J. H.; & CARTS Study Group. Chemoradiation therapy for rectal cancer in the distal rectum followed by organ-sparing transanal endoscopic microsurgery (CARTS study). **Br J Surg**, v.102, n. 7, p. 853–860, 2015 Jun.
- 156 WIBE, A. *et al.* Prognostic significance of the circumferential resection margin following total mesorectal excision for rectal cancer. **Br J Surg**, v. 89, 3, p. 327-334, 2002 Mar.
- 157 YAMADA, K. *et al.* Long-term results of intersphincteric resection for low rectal cancer in Japan. **Surg Today**, v.49. 4, p. 275-285, 2019 Apr.
- 158 YAMAGUCHI, T. *et al.* Oncological outcomes of robotic-assisted laparoscopic vs open lateral lymph node dissection for locally advanced low rectal cancer. **Surg Endosc.**, v. 32, n. 11, p. 4498–4505, 2018 Nov.
- 159 Young DO, Kumar AS. Local Excision of Rectal Cancer. **Surg Clin North Am.**, v. 97, n. 3, p. 573-585, 2017 Jun.

- 160 ZHANG, Y. *et al.* Short-term outcomes of robotic vs. laparoscopic surgery for rectal cancer after neoadjuvant therapy: a meta-analysis. **Front Surg.**, v.10, p. 1292031, 2024 Jan 11.

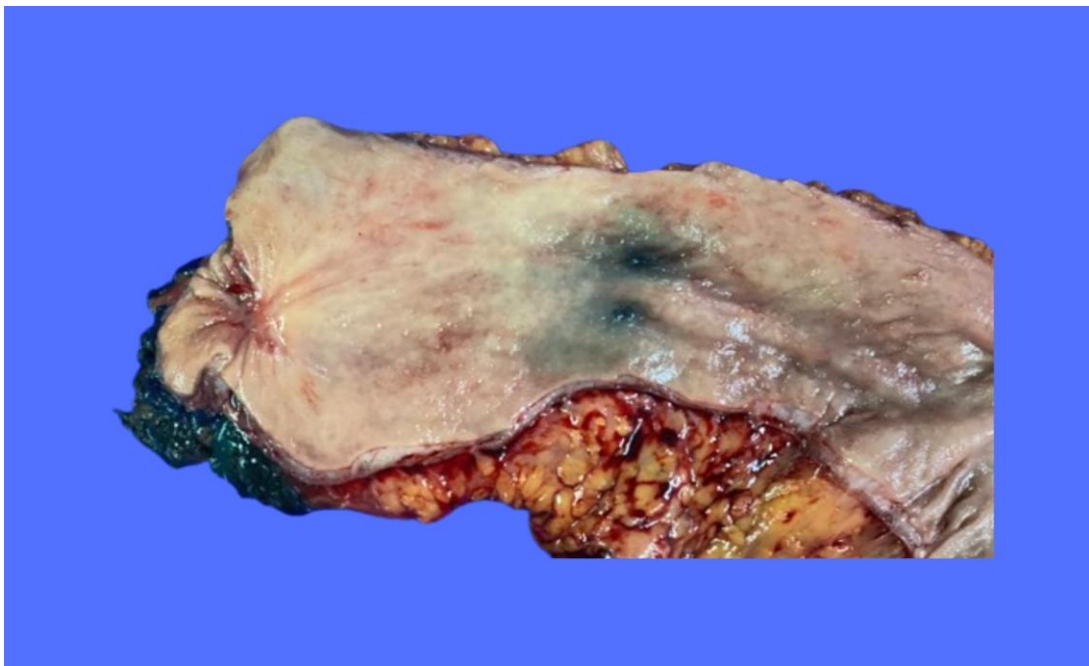
APÊNDICE

APÊNDICE

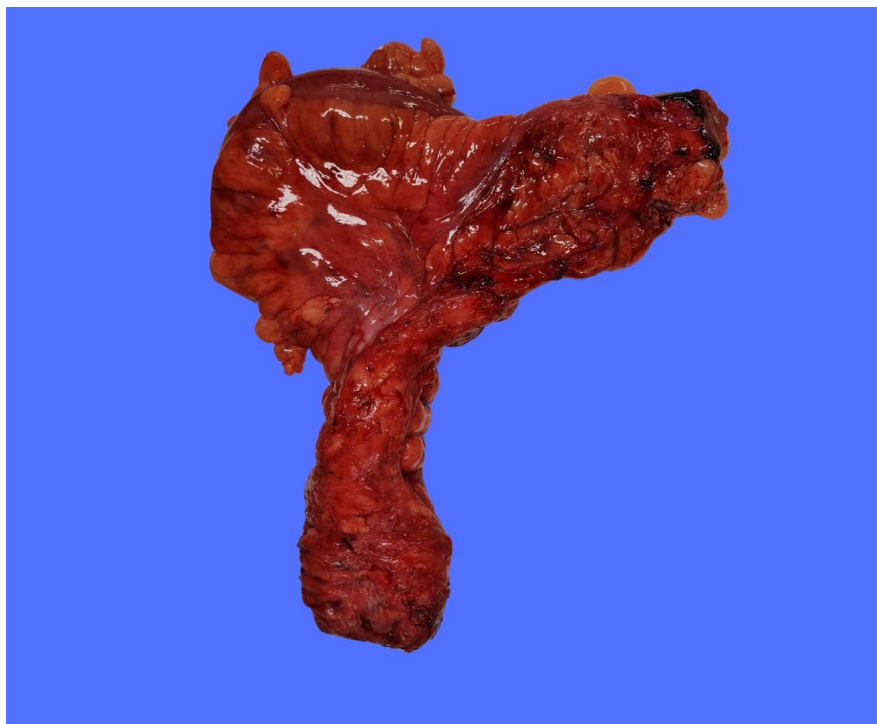
APÊNDICE A – Peças Operatórias



Peça operatória referente ao paciente 1 – produto de ressecção anterior baixa do reto



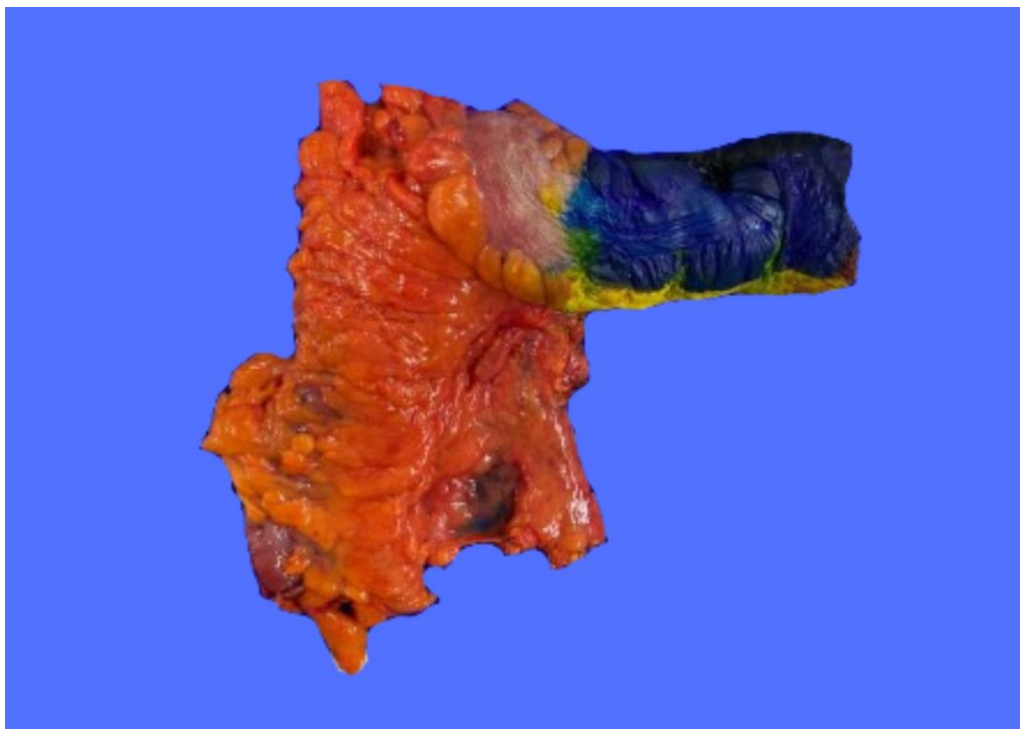
Peça operatória aberta referente ao paciente 1 – produto de ressecção anterior baixa



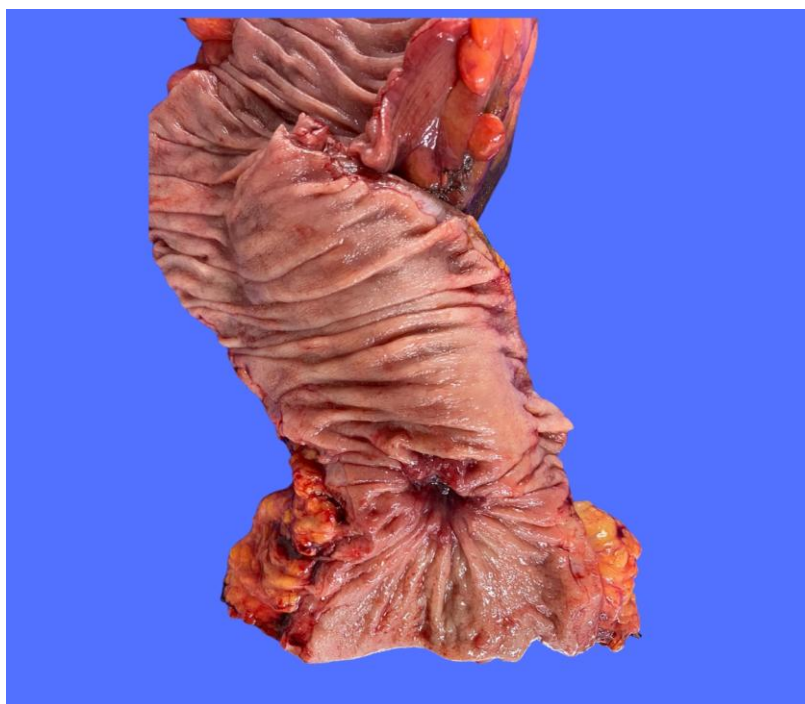
Peça operatória referente ao paciente 2 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 2 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 3 – face anterior pintada de azul – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 3 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 4 – produto de ressecção anterior baixa do reto



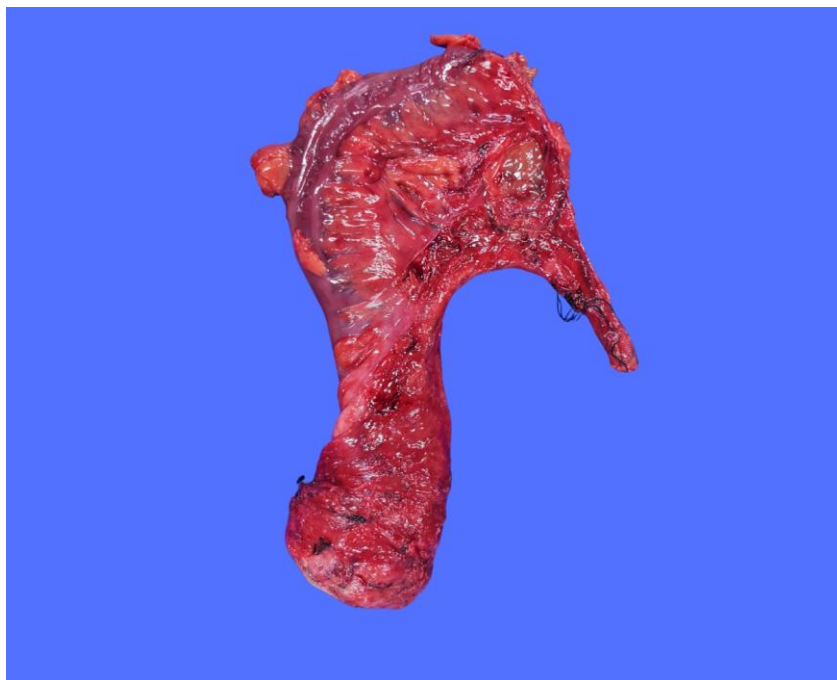
Peça operatória aberta referente ao paciente 4 – produto de ressecção anterior baixa



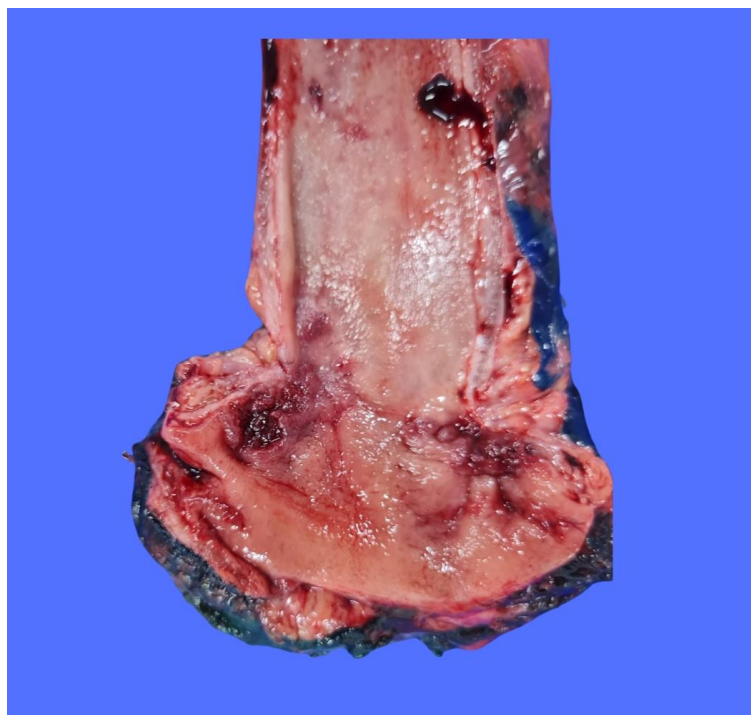
Peça operatória referente ao paciente 5 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 5 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 6 – produto de ressecção anterior baixa do reto



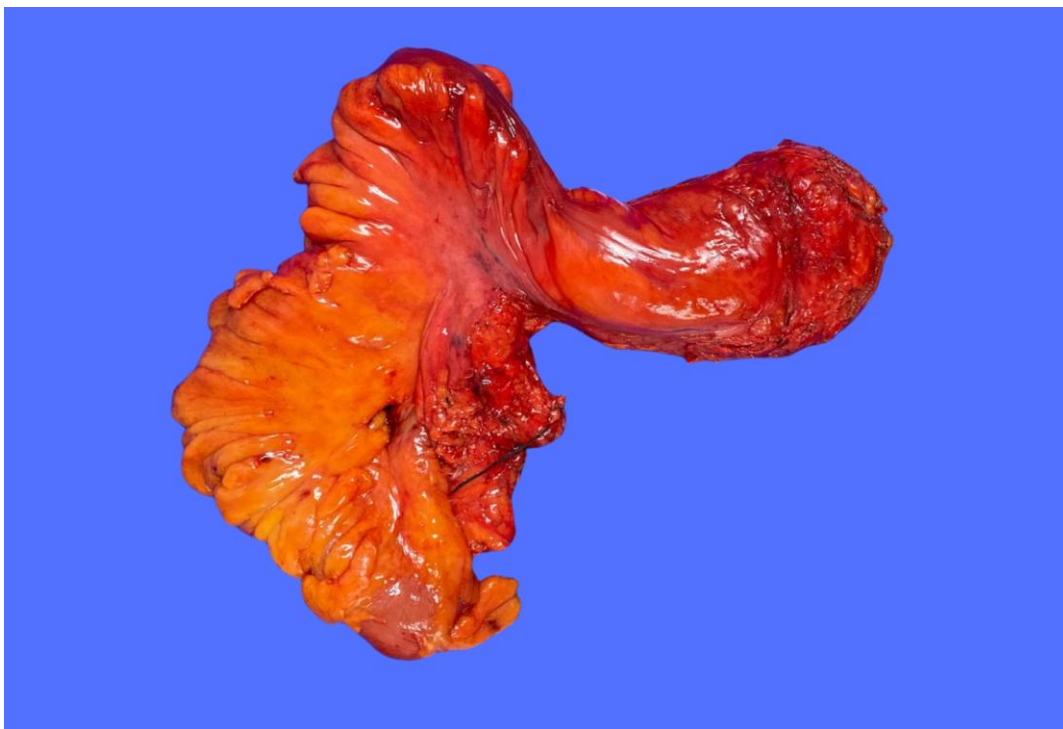
Peça operatória aberta referente ao paciente 6 – produto de ressecção anterior baixa



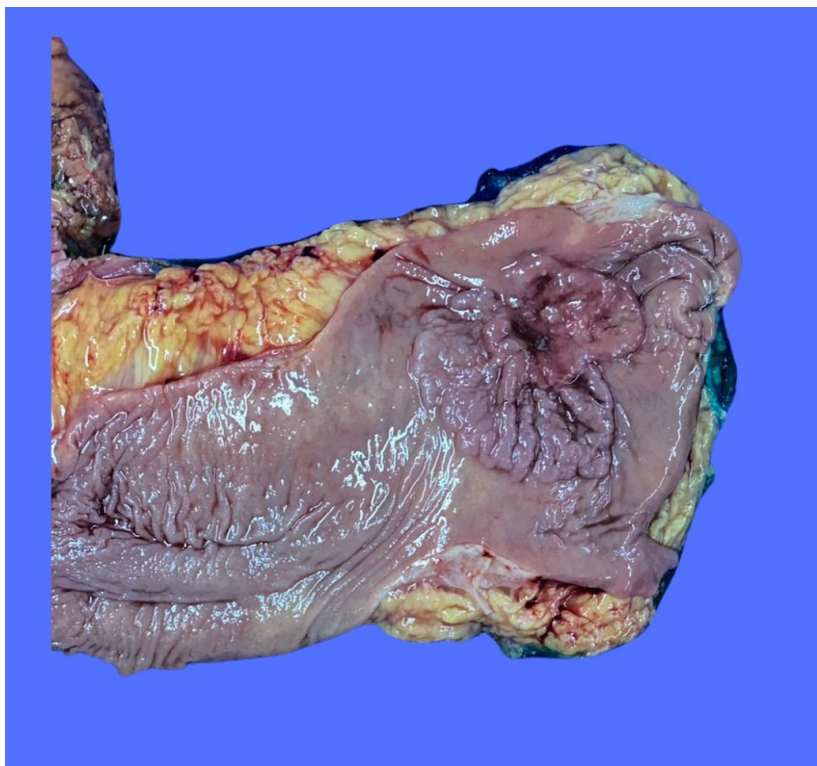
Peça operatória referente ao paciente 7 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 7 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 8 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 8 – produto de ressecção anterior baixa



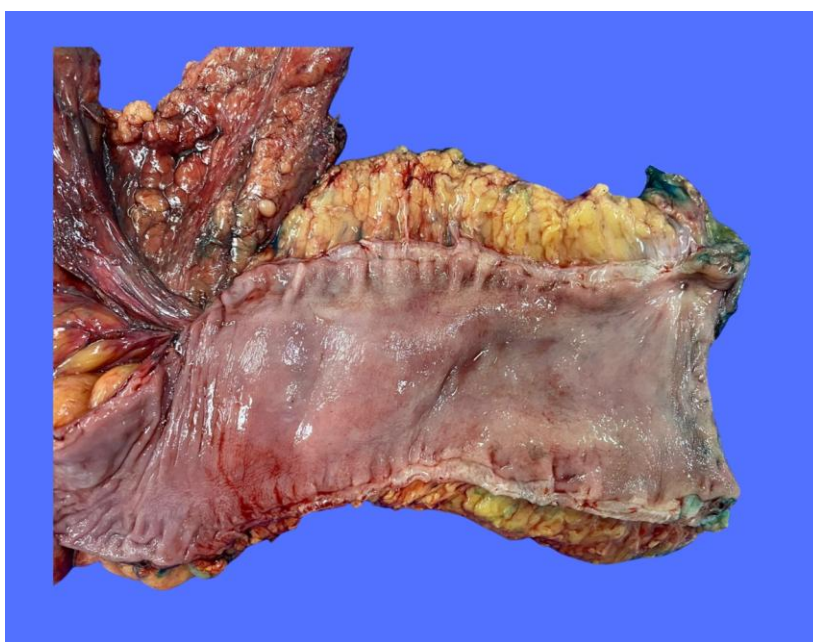
Peça operatória referente ao paciente 9 – produto de ressecção anterior baixa do reto



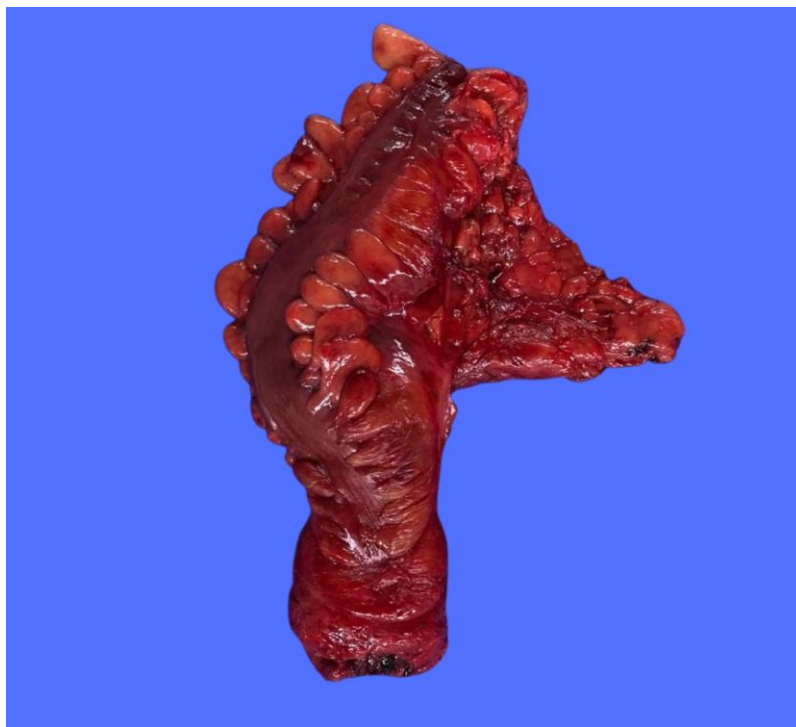
Peça operatória aberta referente ao paciente 9 – produto de ressecção anterior baixa



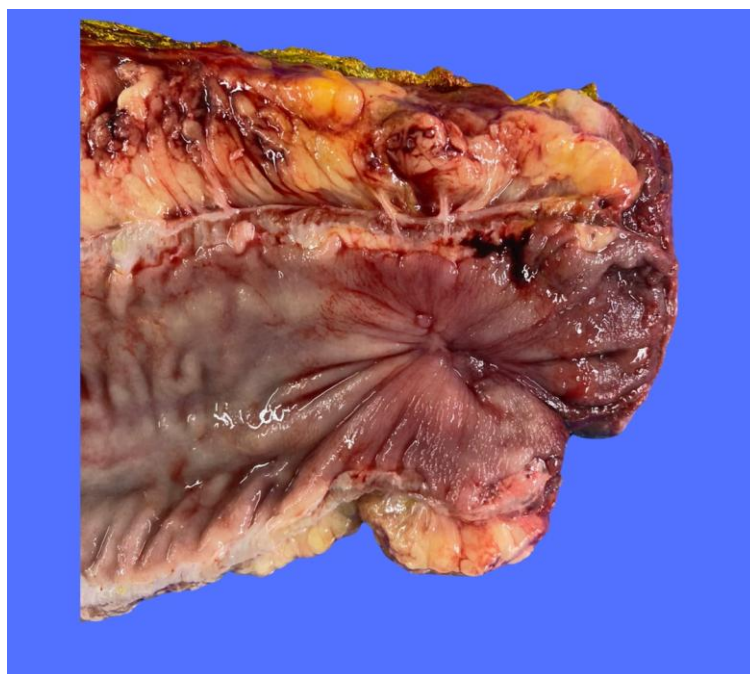
Peça operatória referente ao paciente 10 – face posterior pintada de verde – produto de ressecção anterior baixa do reto



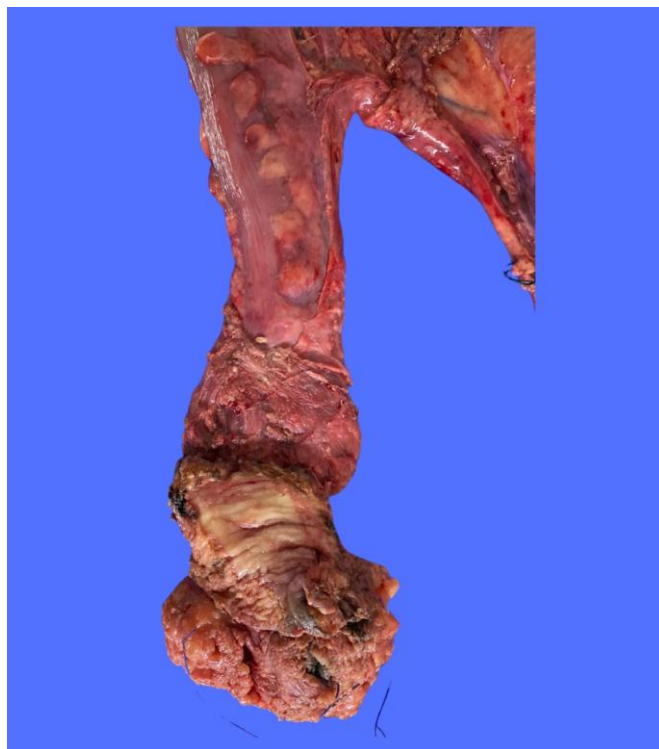
Peça operatória aberta referente ao paciente 10 – produto de ressecção anterior baixa



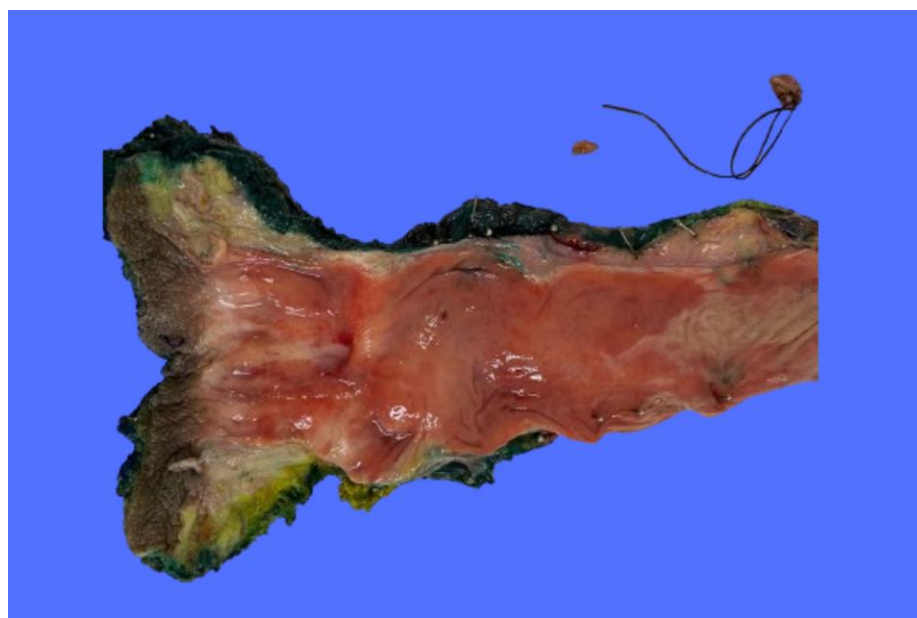
Peça operatória referente ao paciente 11 – produto de ressecção anterior baixa do reto



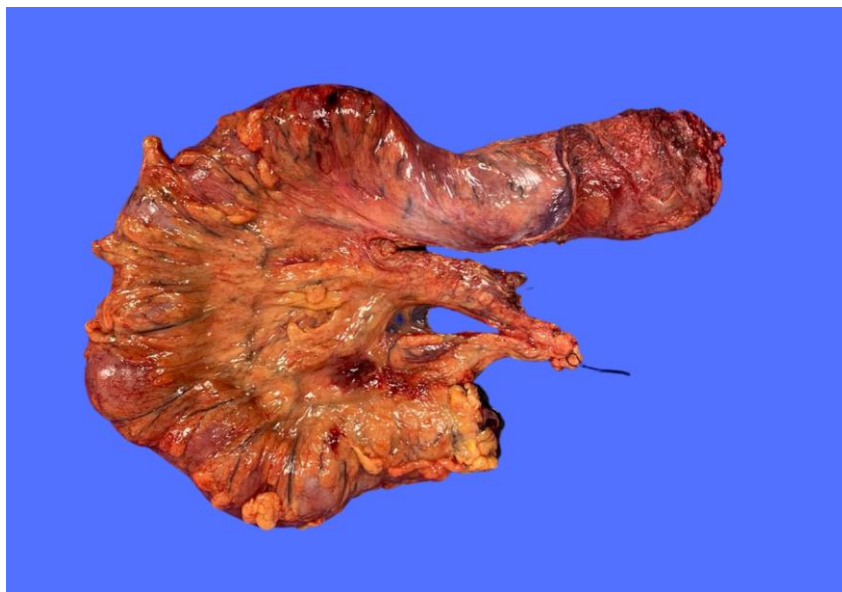
Peça operatória aberta referente ao paciente 11 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 12 – produto de amputação abdominoperineal com colpectomia posterior



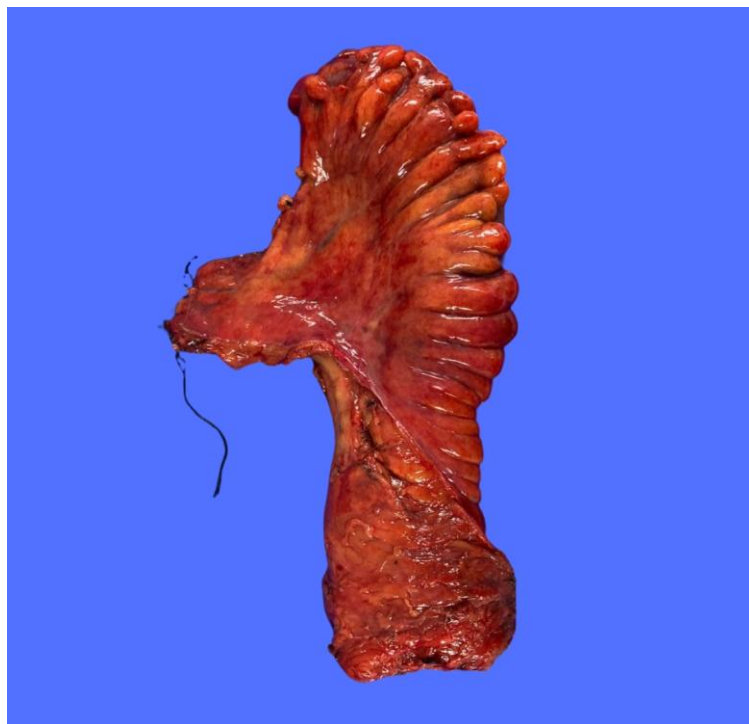
Peça operatória aberta referente ao paciente 12 – produto de amputação abdominoperineal com colpectomia posterior



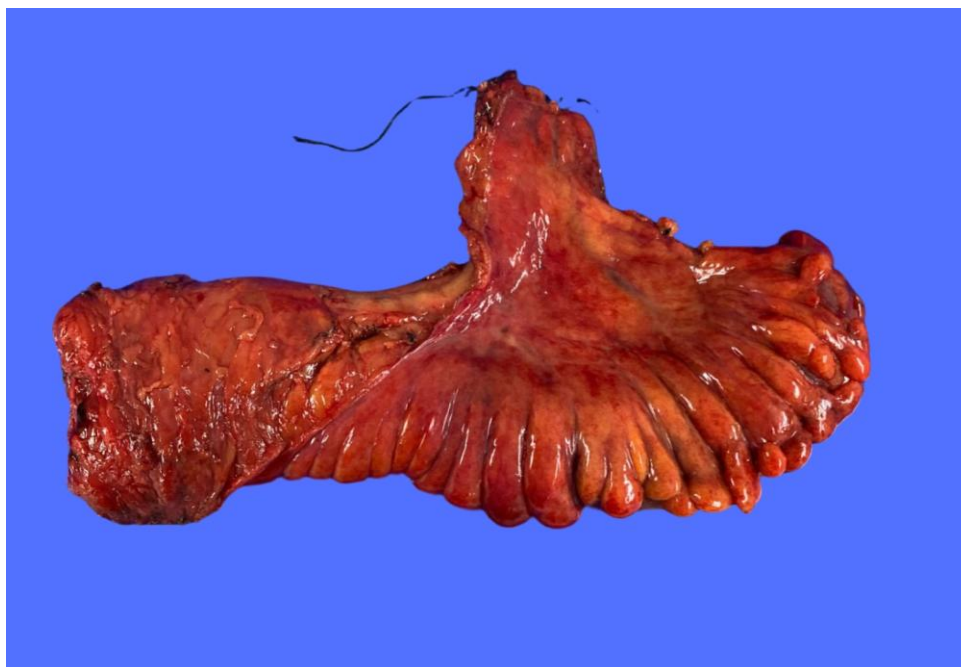
Peça operatória referente ao paciente 13 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 13 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 14 – produto de ressecção anterior baixa do reto



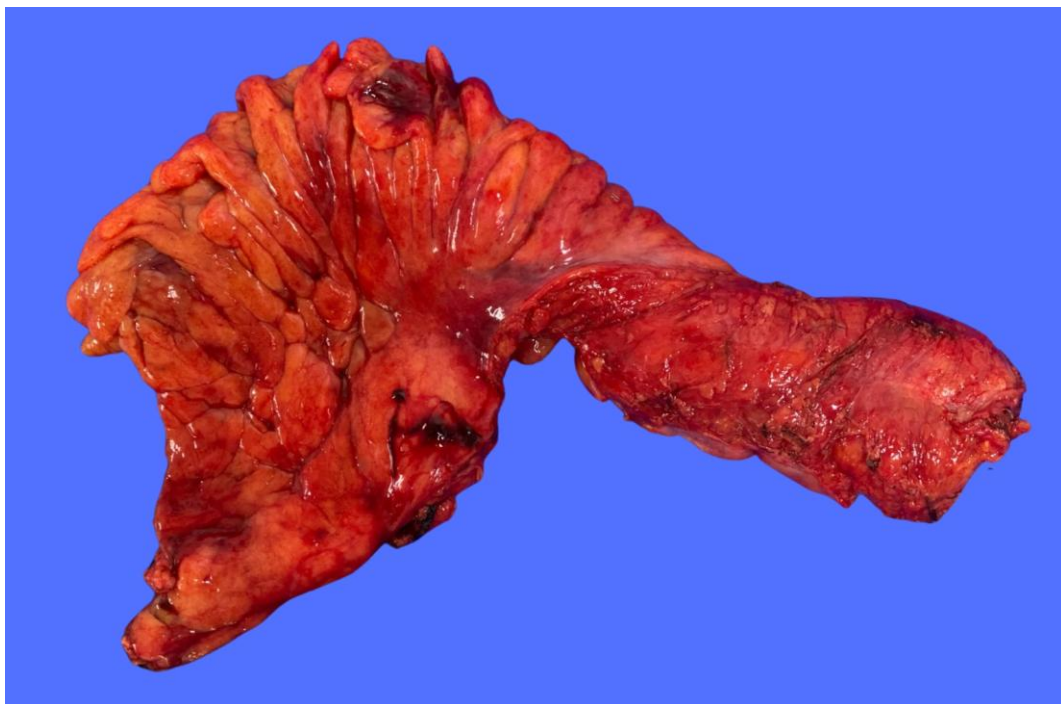
Peça operatória referente ao paciente 14 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória referente ao paciente 15 – produto de ressecção anterior baixa do reto



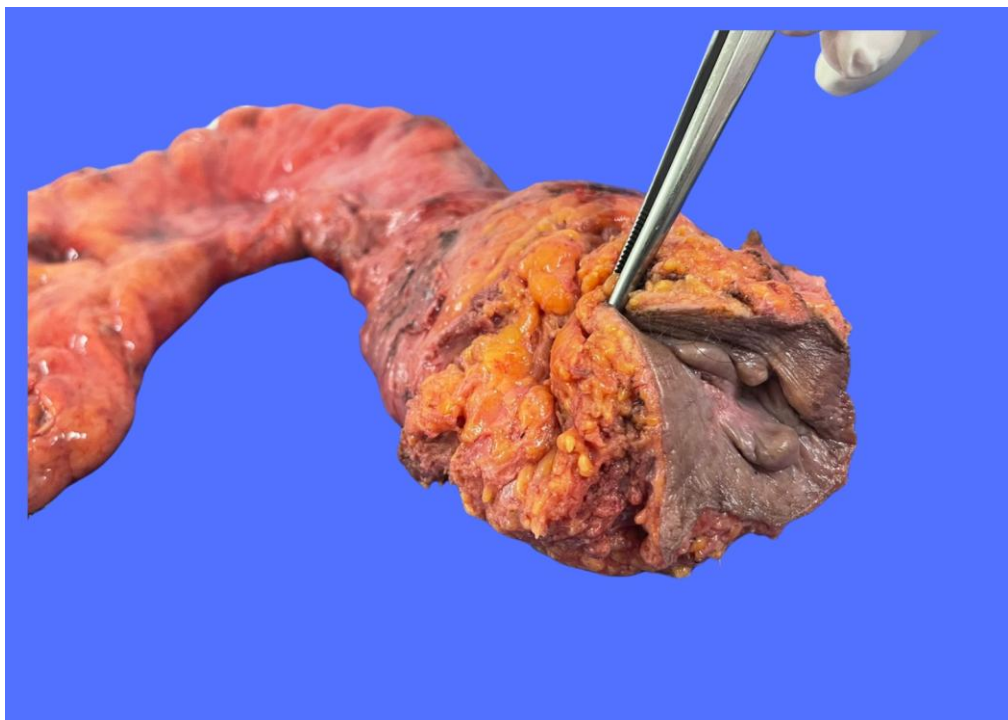
Peça operatória aberta referente ao paciente 15 – produto de ressecção anterior baixa



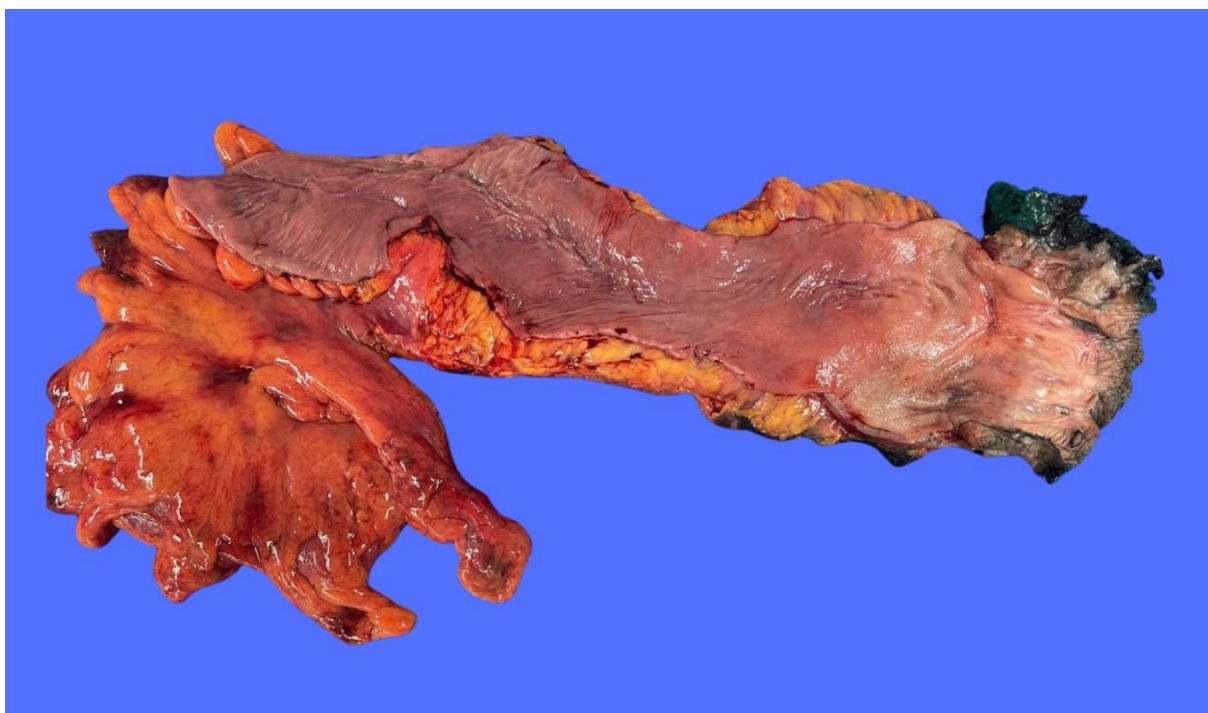
Peça operatória referente ao paciente 16 – produto de ressecção anterior baixa do reto



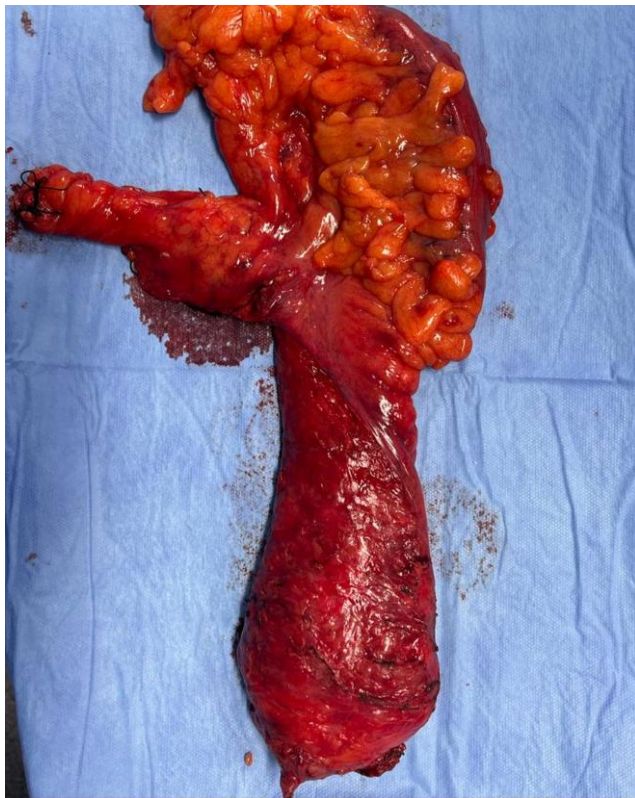
Peça operatória aberta referente ao paciente 16 – produto de ressecção anterior baixa



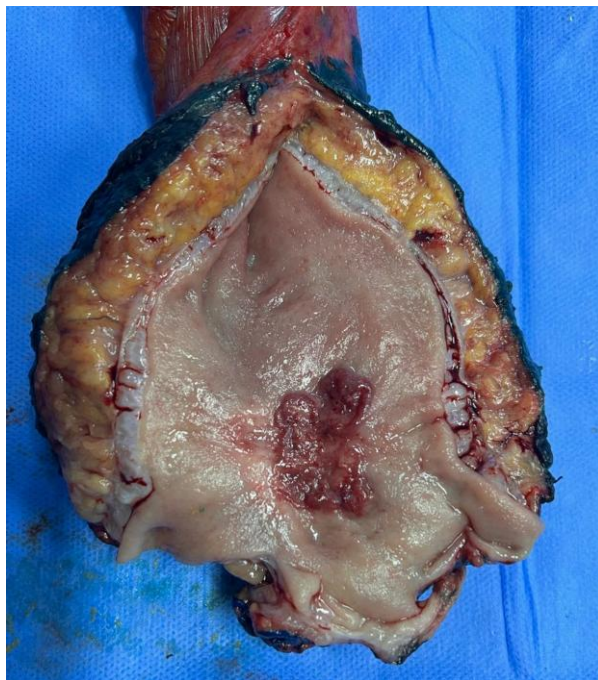
Peça operatória referente ao paciente 17 – produto de amputação abdominoperineal



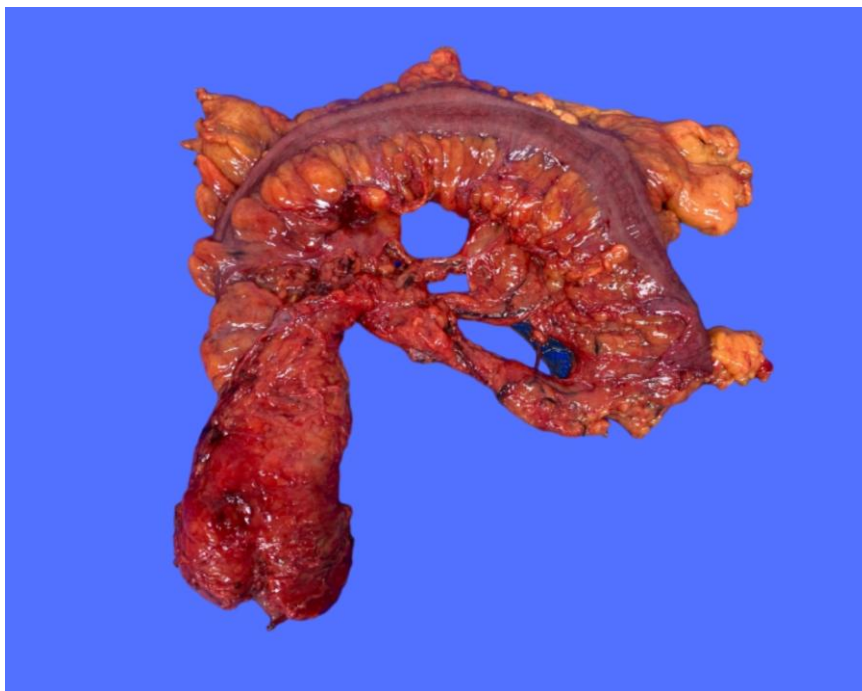
Peça operatória aberta referente ao paciente 17 – produto de amputação abdominoperineal



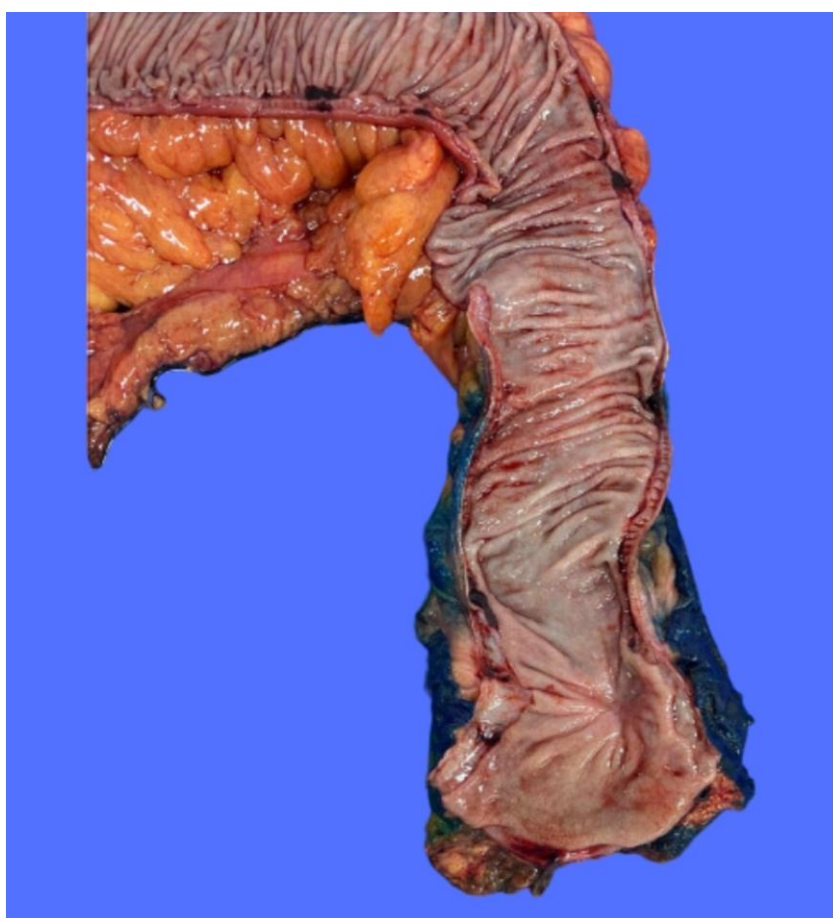
Peça operatória referente ao paciente 18 – produto de ressecção anterior baixa do reto



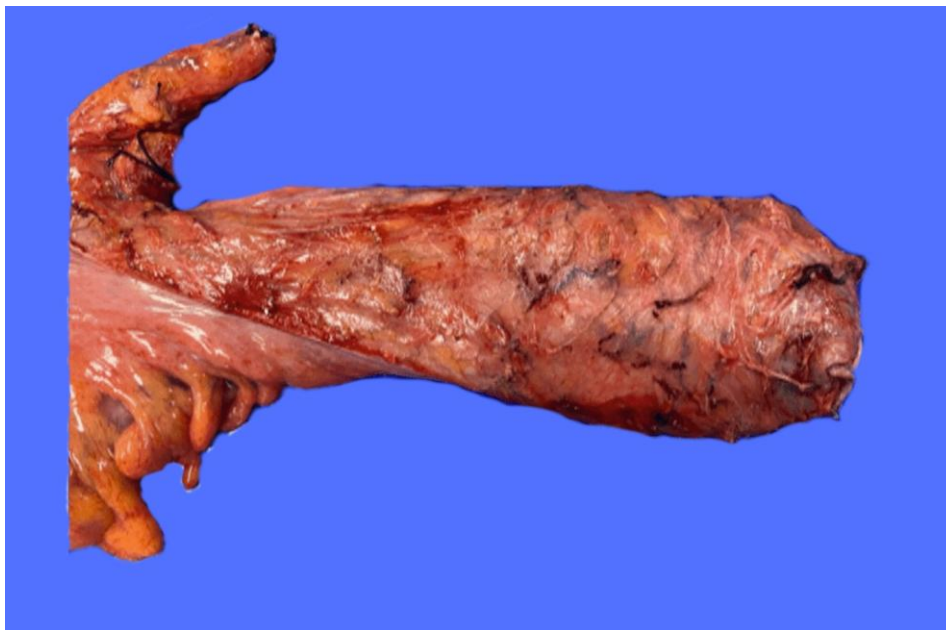
Peça operatória aberta referente ao paciente 18 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 19 – produto de ressecção anterior baixa do reto



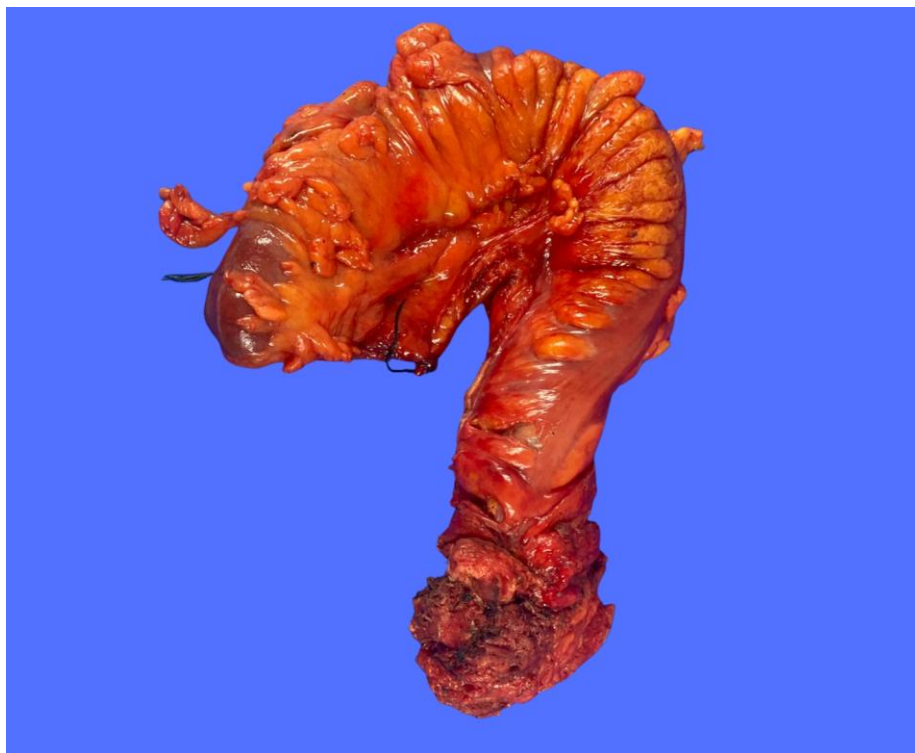
Peça operatória aberta referente ao paciente 19 – produto de ressecção anterior baixa



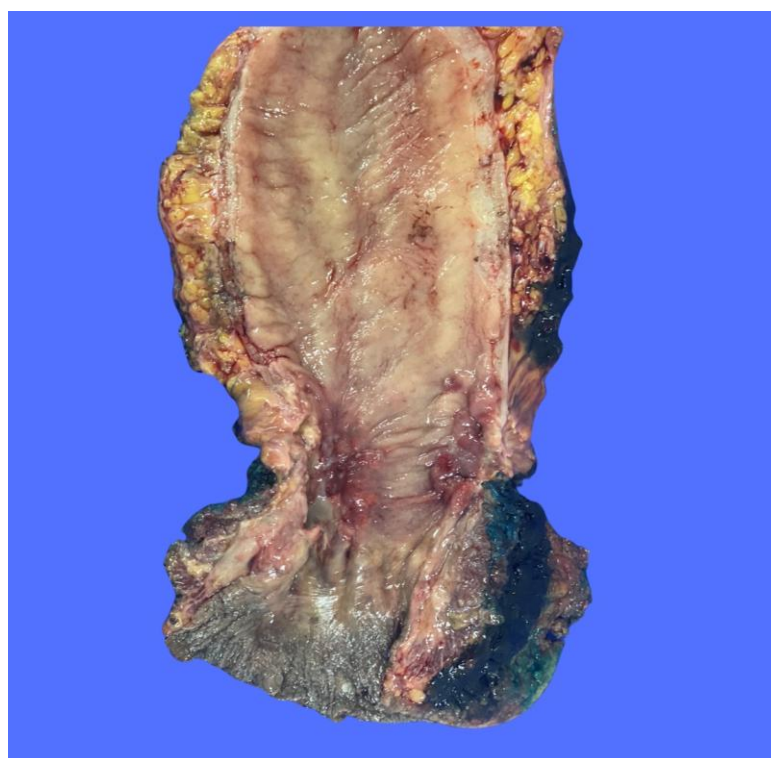
Peça operatória referente ao paciente 20 – produto de ressecção anterior baixa do reto



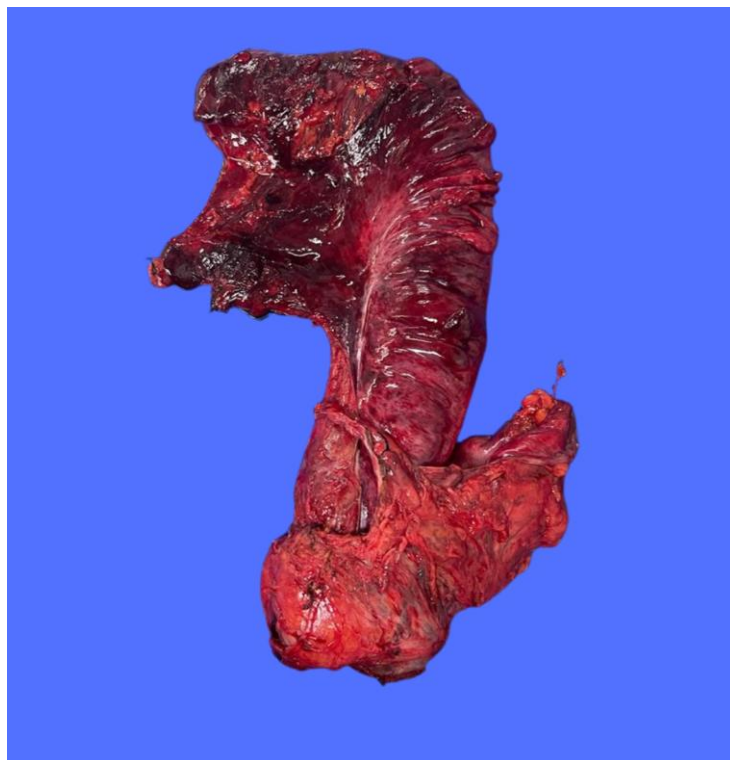
Peça operatória aberta referente ao paciente 20 – produto de ressecção anterior baixa



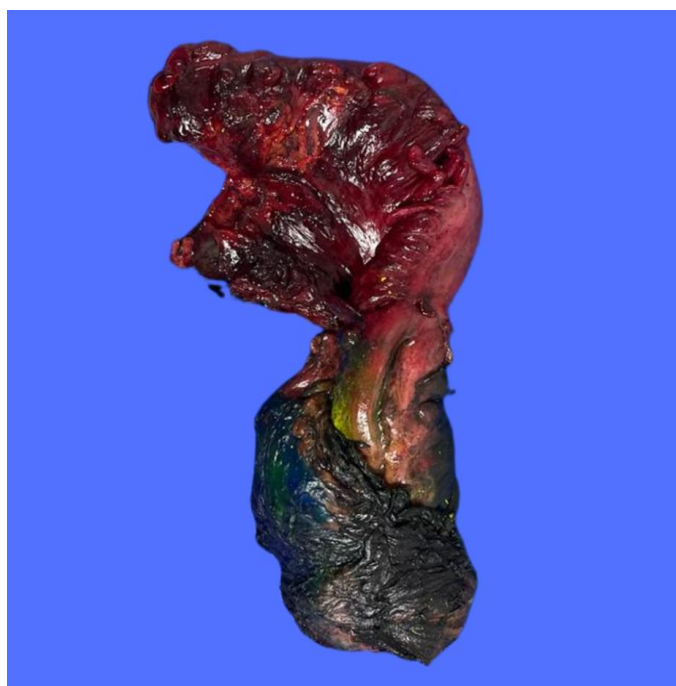
Peça operatória referente ao paciente 21 – produto de amputação abdominoperineal do reto



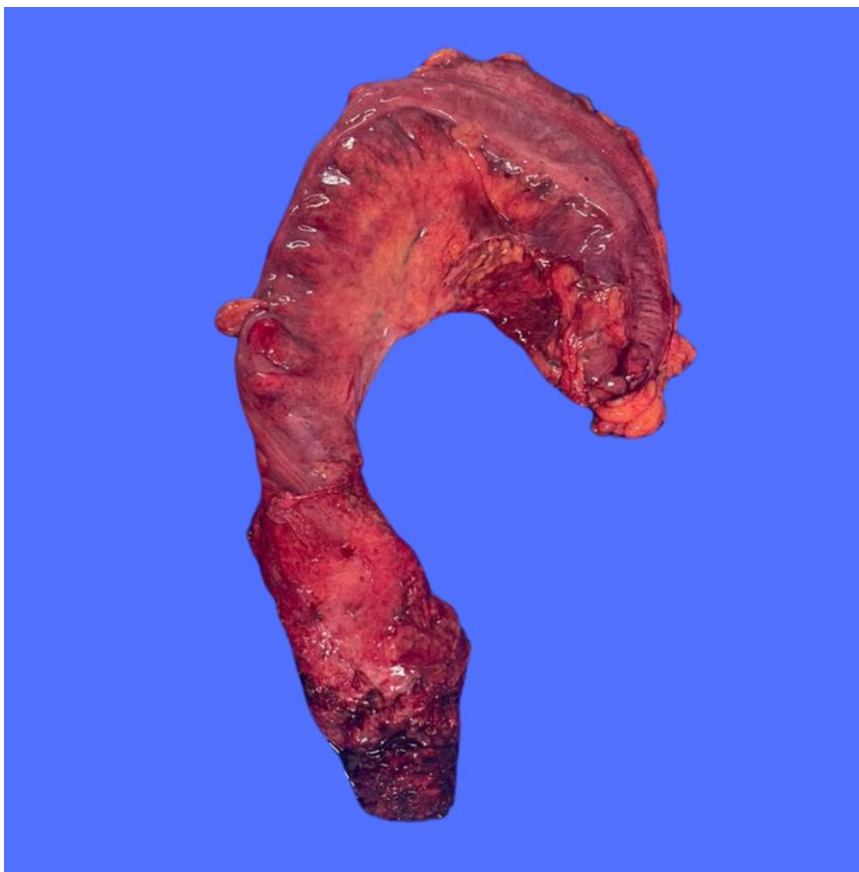
Peça operatória aberta referente ao paciente 21 – produto de amputação abdominoperineal



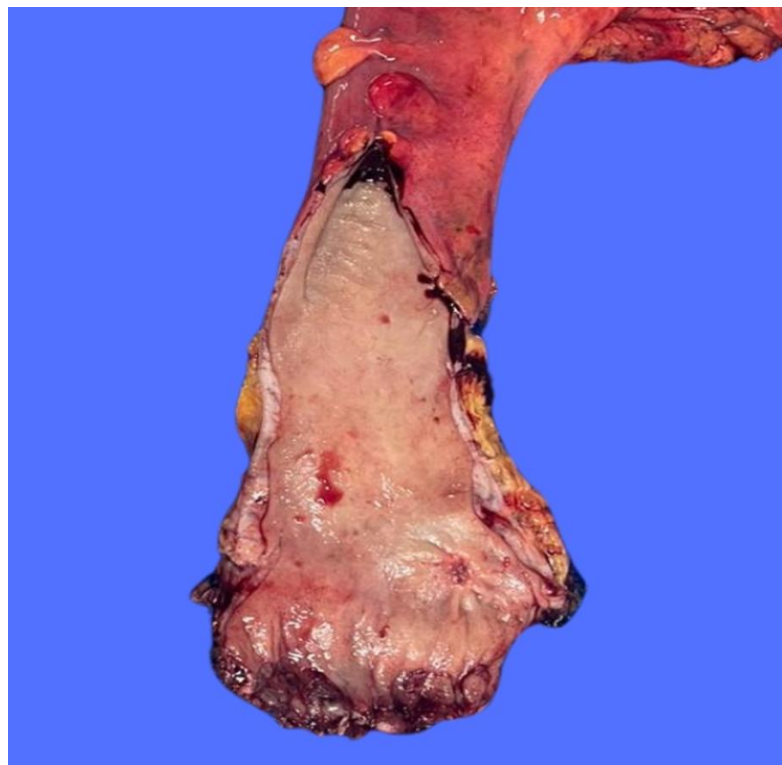
Peça operatória referente ao paciente 22 – produto de exenteração pélvica total supraelevadora



Peça operatória referente ao paciente 22 – pintura em face anterolateral esquerda – produto de exenteração pélvica total supraelevadora



Peça operatória referente ao paciente 23 – produto de ressecção anterior baixa do reto



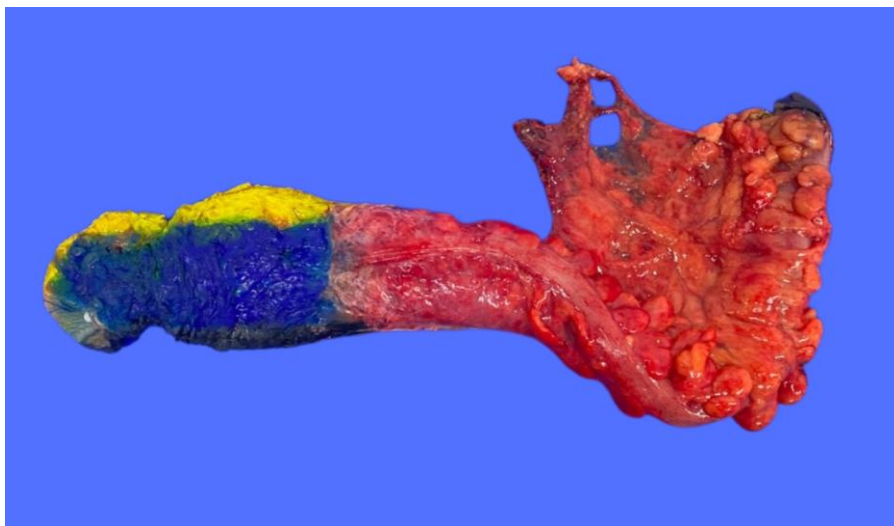
Peça operatória aberta referente ao paciente 23 – produto de ressecção anterior baixa do reto



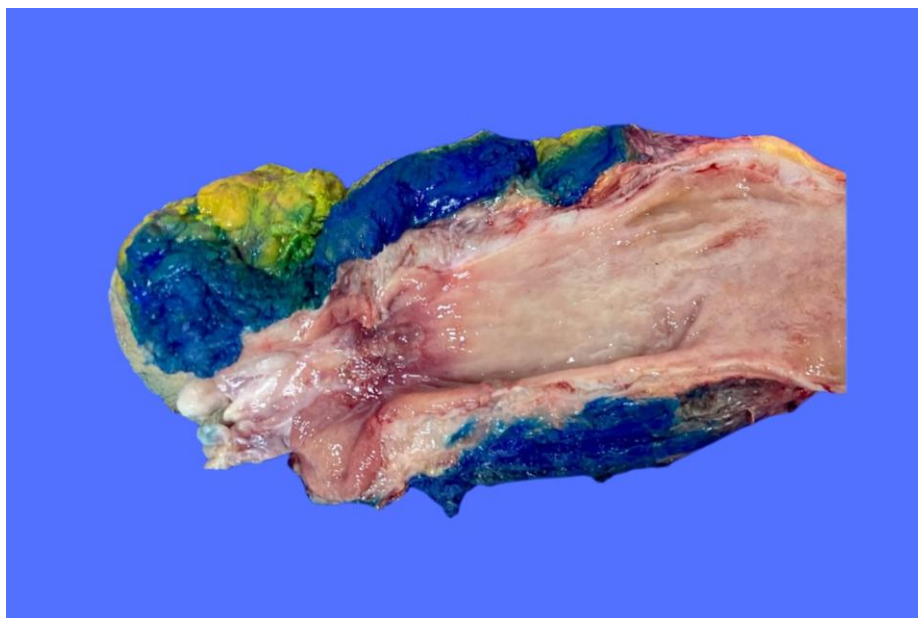
Peça operatória referente ao paciente 24 – produto de amputação abdominoperineal do reto



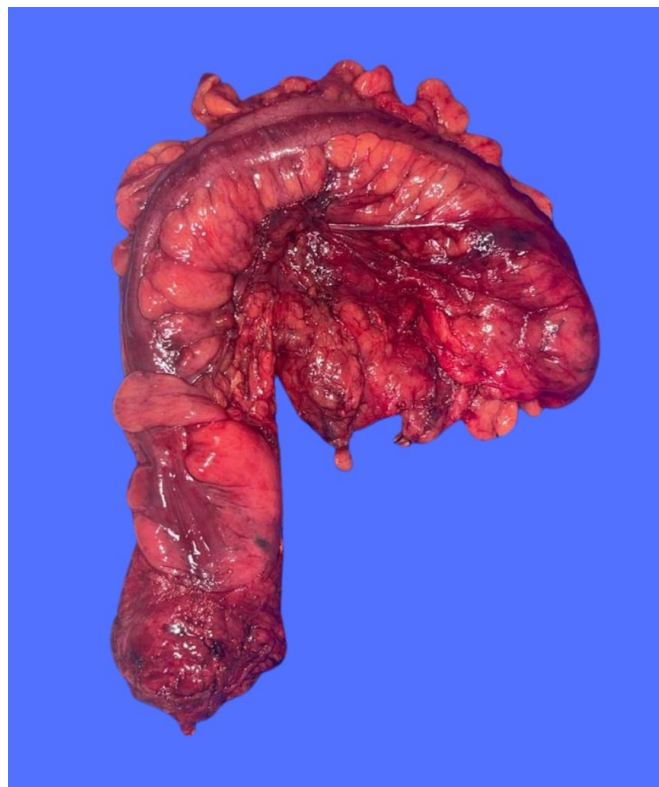
Peça operatória aberta referente ao paciente 24 – produto de amputação abdominoperineal



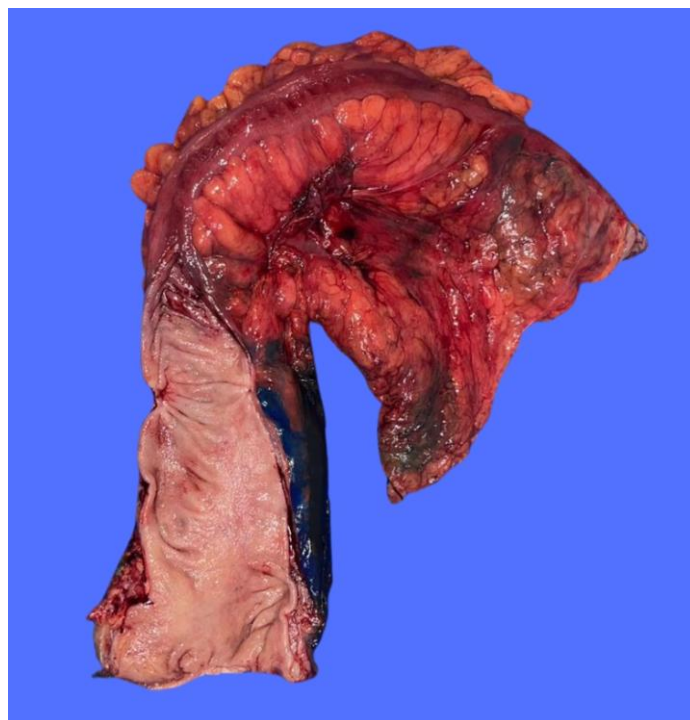
Peça operatória referente ao paciente 25 – Face anterior pintada de azul – produto de amputação abdominoperineal do reto



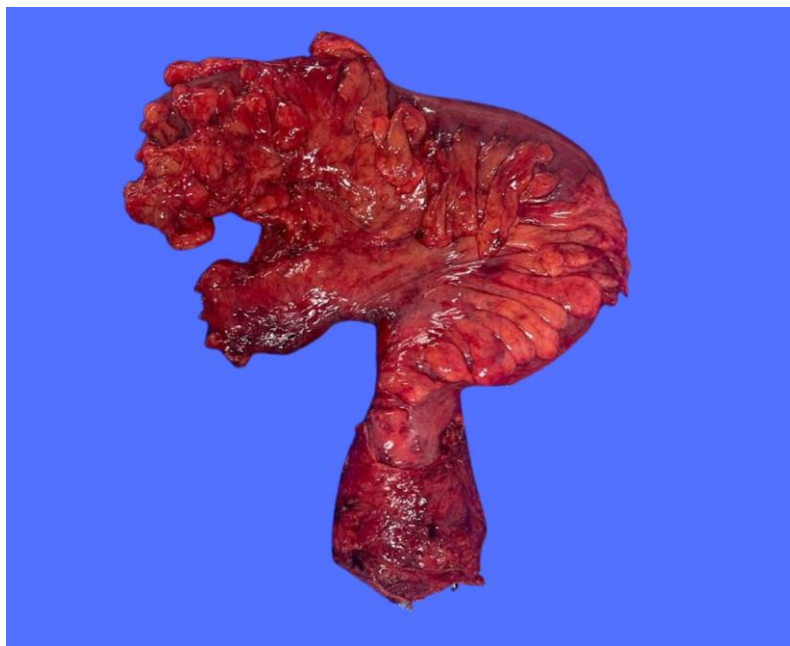
Peça operatória aberta referente ao paciente 25 – produto de amputação abdominoperineal



Peça operatória referente ao paciente 26 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 26 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 27 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 27 – produto de ressecção anterior baixa



Peça operatória referente ao paciente 28 – face anterior pintada de azul – produto de ressecção anterior baixa do reto



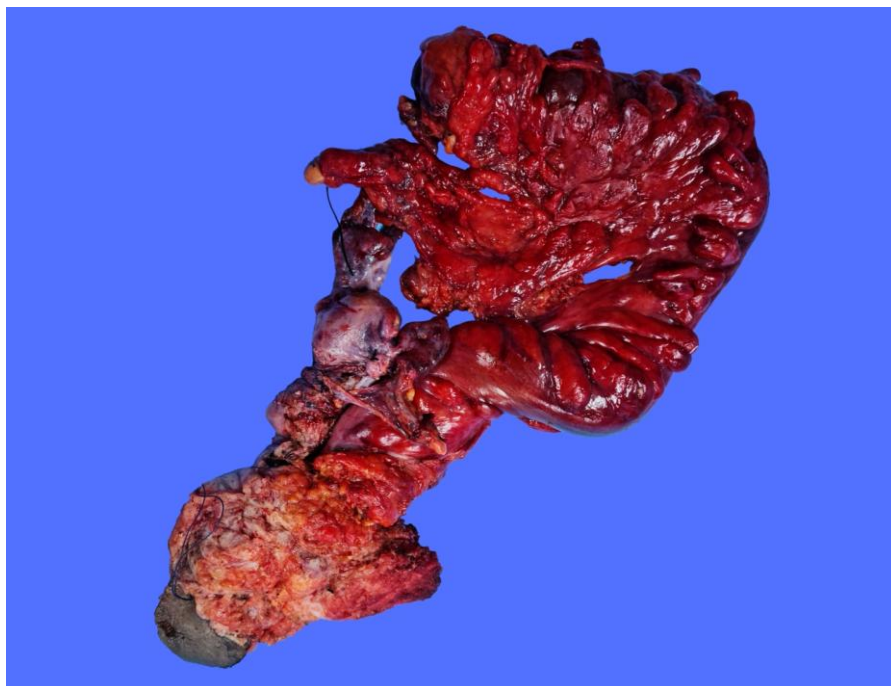
Peça operatória aberta referente ao paciente 28 – produto de ressecção anterior baixa



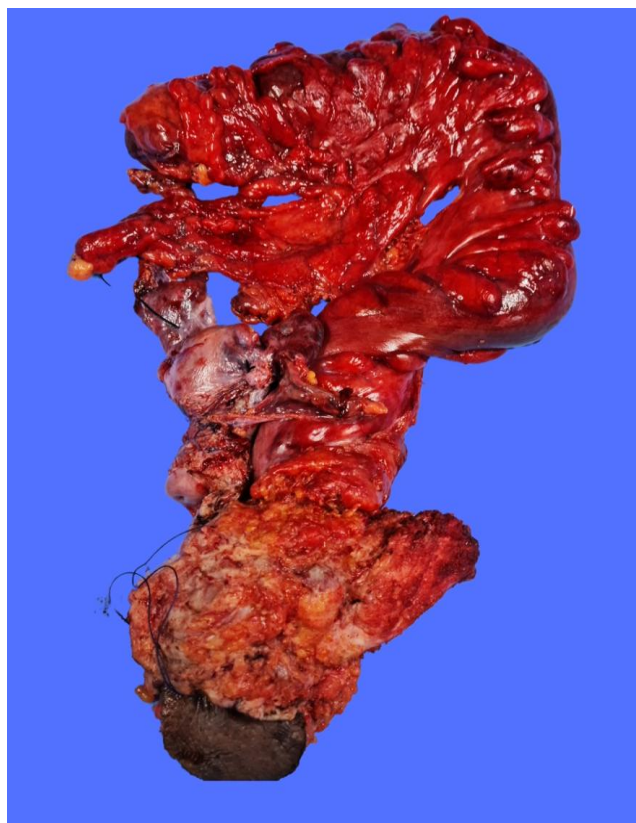
Peça operatória referente ao paciente 29 – produto de amputação abdominoperineal com colpectomia posterior



Peça operatória aberta referente ao paciente 29 – produto de amputação abdominoperineal com colpectomia posterior



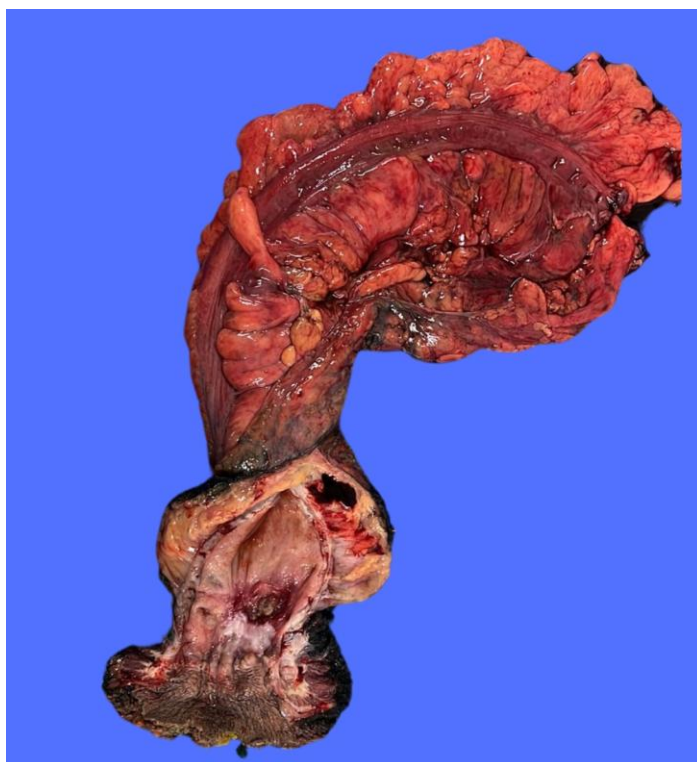
Peça operatória referente ao paciente 30 – produto de exenteração pélvica posterior infraelevadora com sacrectomia



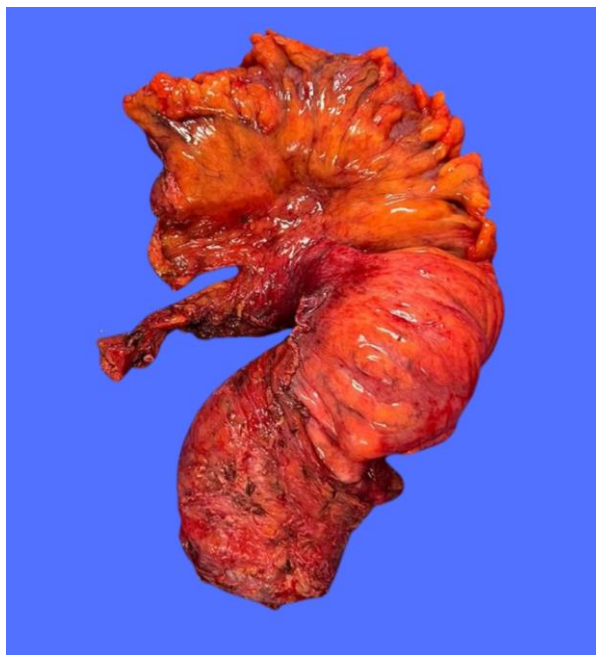
Peça operatória referente ao paciente 30 – produto de exenteração pélvica posterior infraelevadora com sacrectomia



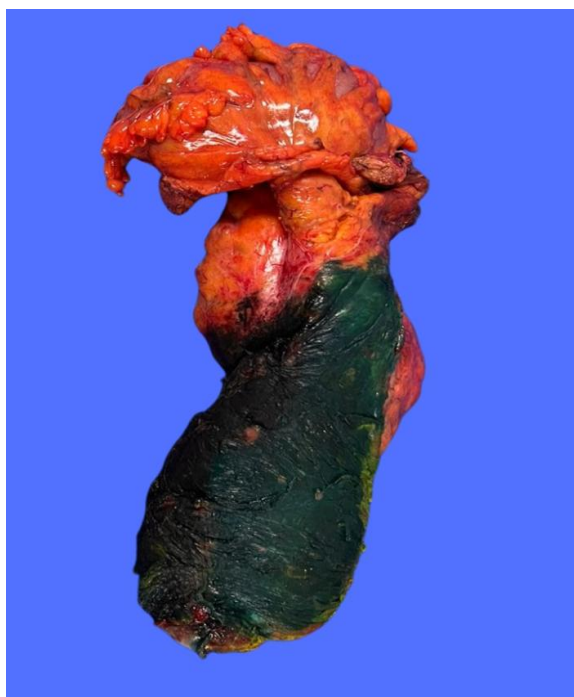
Peça operatória referente ao paciente 31 – Face anterior pintada de azul – produto de amputação abdominoperineal do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 31 – produto de amputação abdominoperineal



Peça operatória referente ao paciente 32 – produto de ressecção anterior do reto



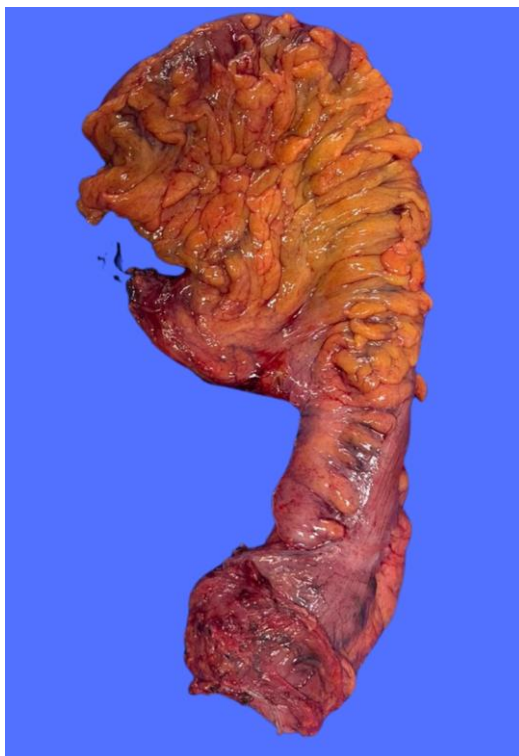
Peça operatória referente ao paciente 32 – face posterior pintada de verde – produto de ressecção anterior do reto



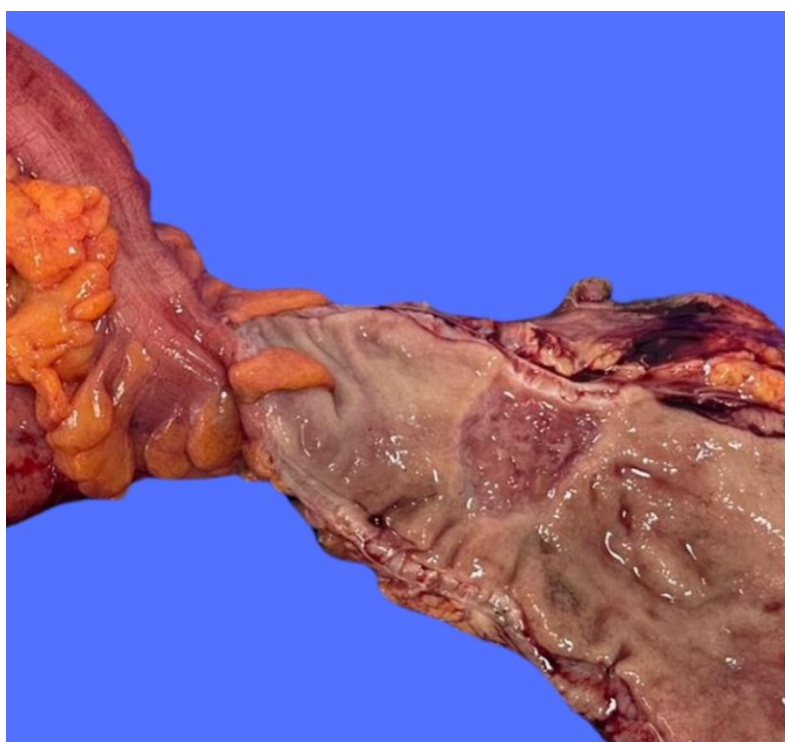
Peça operatória referente ao paciente 33 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 33 – produto de ressecção anterior baixa do reto



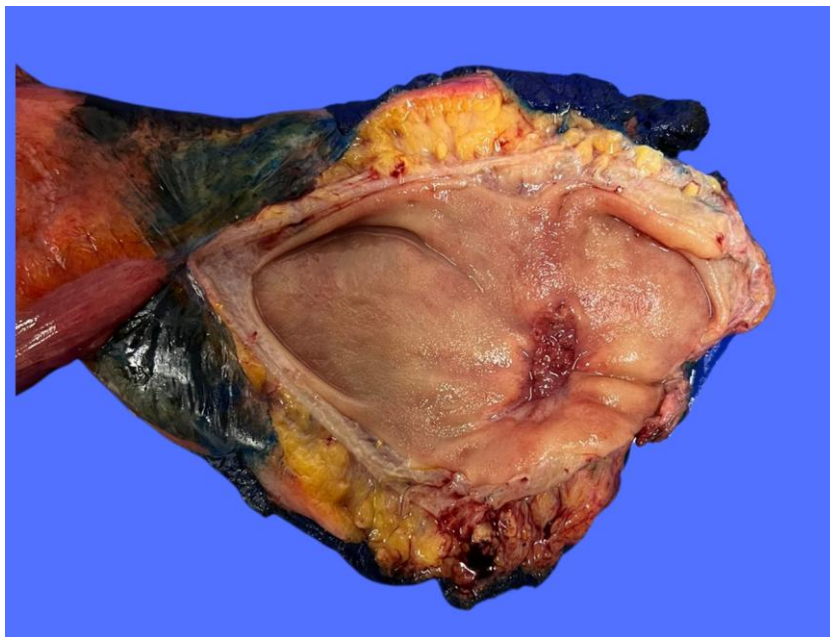
Peça operatória referente ao paciente 34 – produto de ressecção anterior baixa do reto



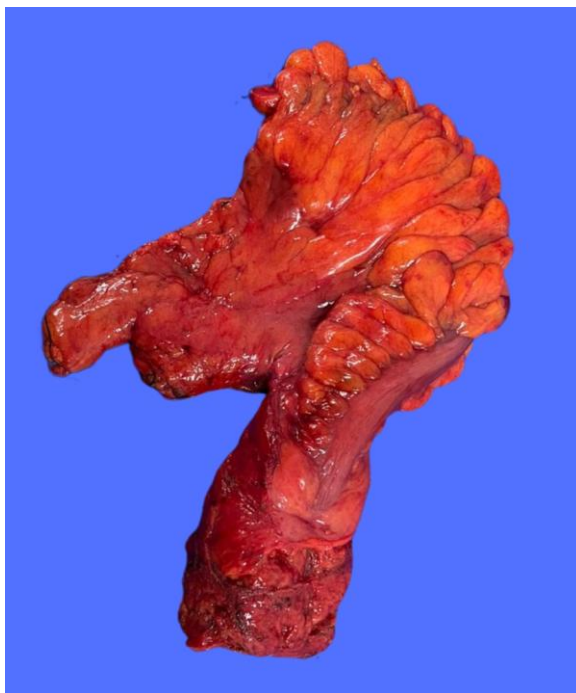
Peça operatória aberta referente ao paciente 34 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória referente ao paciente 35 – produto de ressecção anterior baixa do reto



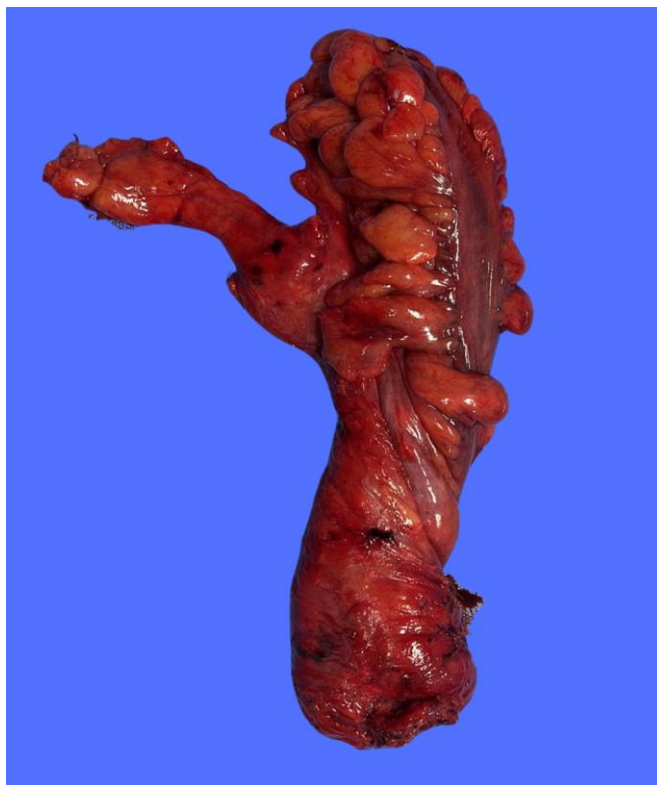
Peça operatória referente ao paciente 35 – produto de ressecção anterior baixa do reto



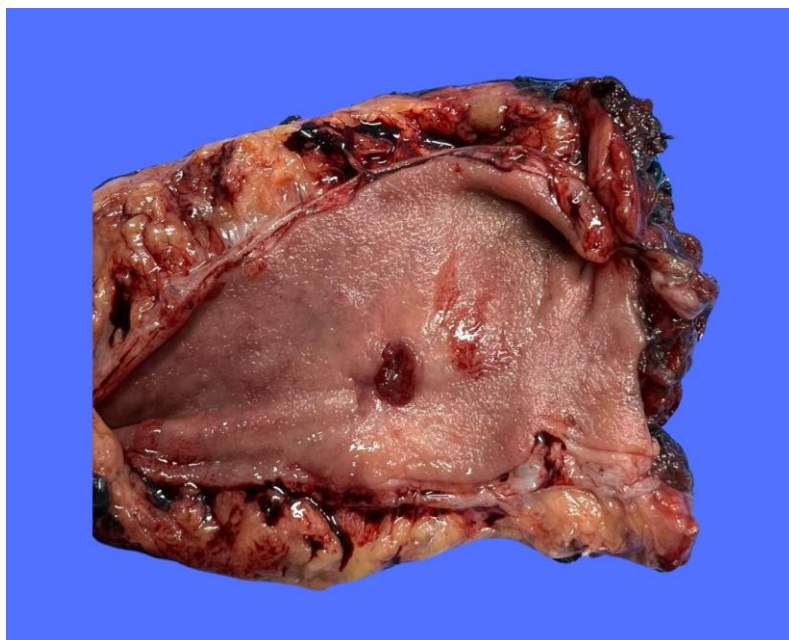
Peça operatória referente ao paciente 36 – produto de ressecção anterior baixa do reto



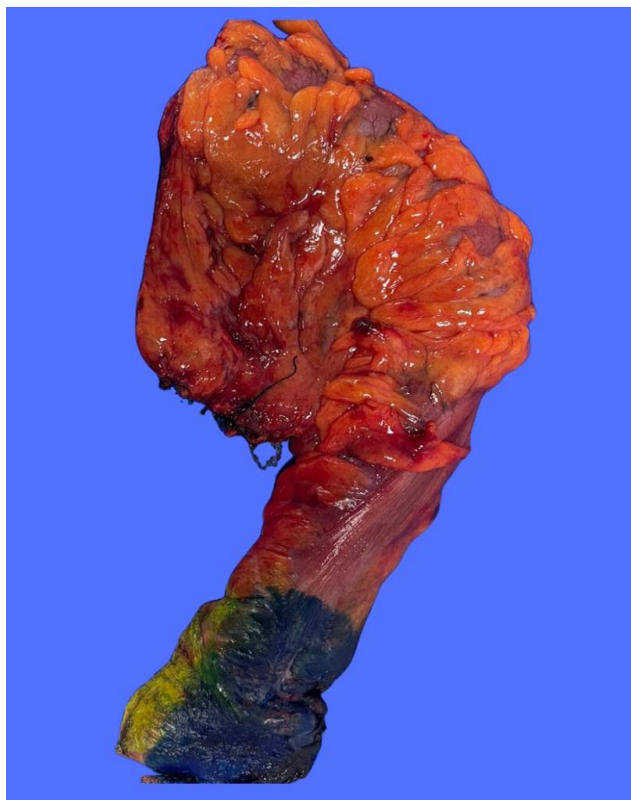
Peça operatória aberta referente ao paciente 36 – produto de ressecção anterior baixa do reto



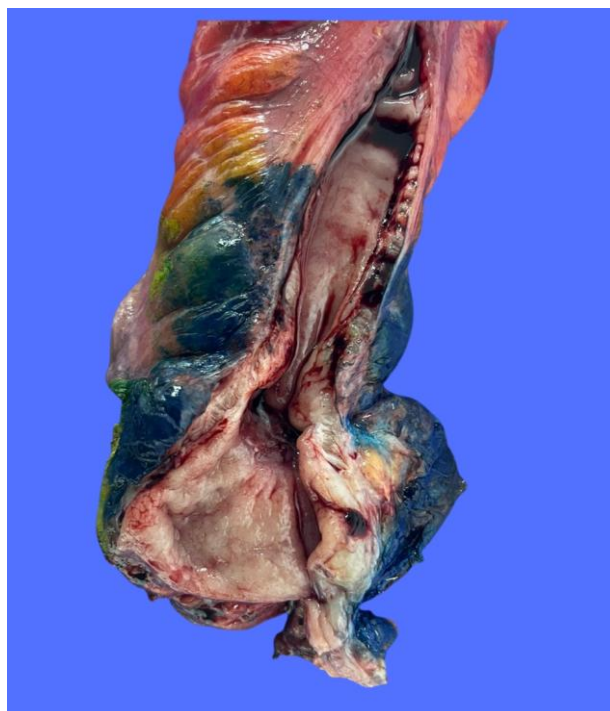
Peça operatória referente ao paciente 37 – produto de ressecção anterior baixa do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 37 – produto de ressecção anterior baixa do reto



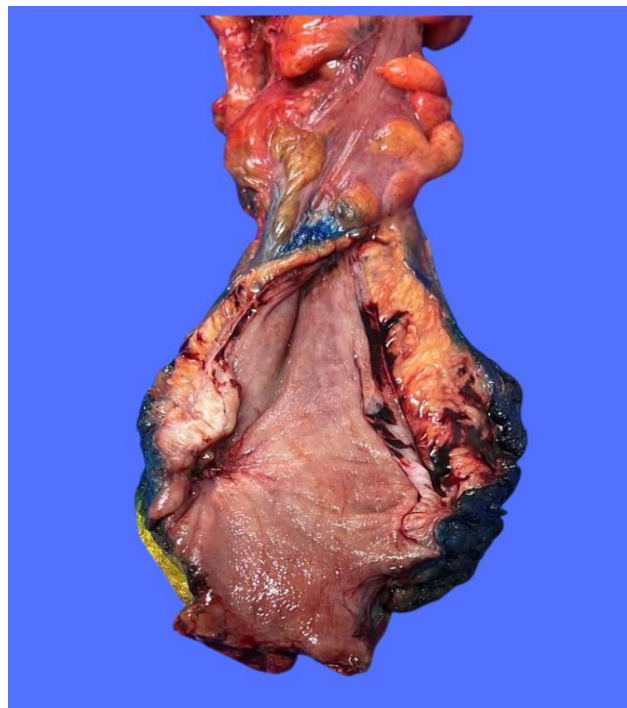
Peça operatória referente ao paciente 38 – produto de ressecção anterior do reto



Peça operatória aberta referente ao paciente 38 – produto de ressecção anterior do reto



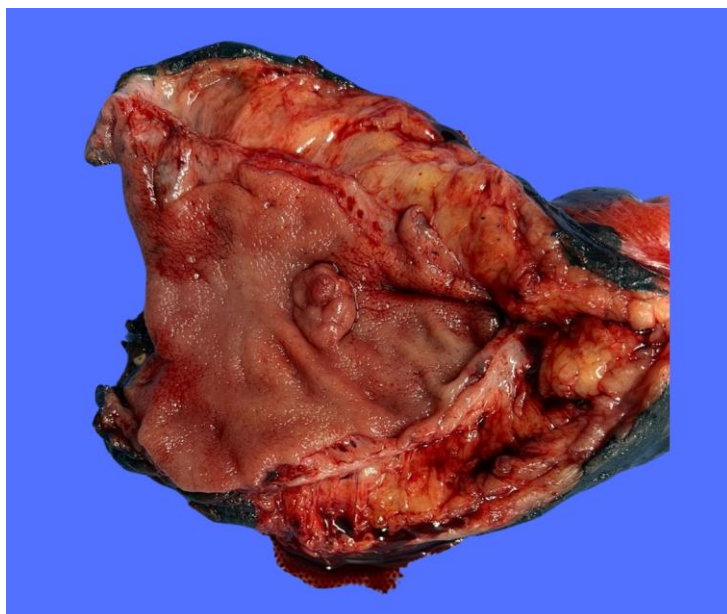
Peça operatória referente ao paciente 39 – produto de ressecção anterior baixa do reto com ressecção interesfincteriana



Peça operatória aberta referente ao paciente 39 – produto de ressecção anterior baixa do reto com ressecção interesfincteriana



Peça operatória referente ao paciente 40 – produto de ressecção anterior baixa do reto

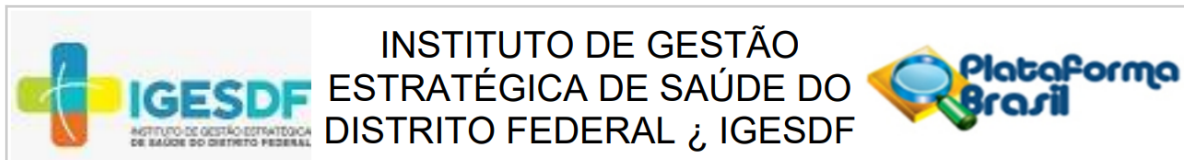


Peça operatória referente ao paciente 40 – produto de ressecção anterior baixa do reto

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Padrão de imunomarcção no adenocarcinoma de reto em pacientes com e sem resposta à neoadjuvância

Pesquisador: ALEXANDRE GHELLER

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57907222.6.0000.8153

Instituição Proponente: INSTITUTO HOSPITAL DE BASE DO DISTRITO FEDERAL -IHBDF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.739.027

Apresentação do Projeto:

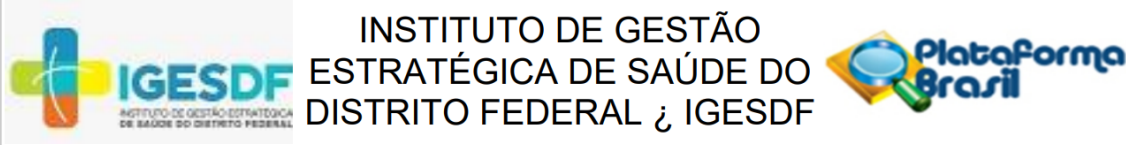
Trata-se de estudo prospectivo observacional e comparativo.

Introdução

O câncer colorretal é uma das malignidades mais prevalentes no mundo, sendo a segunda mais comum em mulheres e a terceira em homens. Estimam-se, para os Estados Unidos da América, 140 mil casos novos por ano, com aproximadamente 40 mil localizados no reto. Nas estatísticas de Câncer do Instituto Nacional de Câncer (INCA), pública em junho de 2022, o câncer de Cólon e Reto foi o segundo tipo de câncer com maior incidência no Brasil em 2020, com cerca de 41 mil casos novos no período em questão.

O tratamento do câncer do reto passou por mudanças importantes nas últimas décadas. A padronização da técnica operatória, utilização de radioterapia em doses e momentos diferentes, o uso da quimioterapia com novas drogas e em contextos diversos vem melhorando substancialmente os resultados de recorrência local e sobrevida. O uso da radioquimioterapia neoadjuvante representou grande avanço no tratamento do câncer do reto localmente avançado.

O GermanTrial é um trabalho multicêntrico, prospectivo, onde pacientes com câncer do reto estadio II ou III foram randomizados para tratamento complementar pré-operatório versus pós-operatório com radioterapia, na dose de 5040 cGy, associada à fluorouracil (5-FU) na forma de



Continuação do Parecer: 5.739.027

infusão contínua. Todos pacientes foram submetidos à excisão total do mesorreto. Houve claro benefício para o tratamento pré-operatório em relação ao pós-operatório. As taxas de recorrência local e toxicidade aguda foram menores no grupo pré-operatório, sem impacto em sobrevida global. Fato interessante passou a ser observado com o emprego da radioquimioterapia neoadjuvante, até 30% dos pacientes não apresentavam células tumorais na análise microscópica da peça operatória. Este fenômeno passa a ser chamado de resposta patológica completa (ypT0N0), e a sua ocorrência está associada a excelentes resultados e possibilita o desenvolvimento de estratégias de preservação do reto. Ao contrário da ocorrência de ypT0N0, há pelo menos outros 30% dos pacientes que não apresentam resposta a terapia neoadjuvante. Este grupo de doentes acabam sendo expostos aos efeitos deletérios da radioquimioterapia sem qualquer vantagem terapêutica.

Um dos grandes desafios no tratamento do câncer do reto é a identificação de preditores de resposta à terapia neoadjuvante. Esses possibilitariam a identificação da ocorrência de ypT0N0 e, ao mesmo tempo, identificariam os tumores resistentes à neoadjuvância. Atualmente, não há preditores de resposta à terapia neoadjuvante utilizados na prática clínica. A seleção para radioquimioterapia pré-operatória é baseada em exames de imagem, os quais possuem limitações significativas. O uso de marcadores moleculares do tumor e do seu metabolismo provavelmente seriam o método ideal para seleção dos indivíduos. Tais marcadores não existem ainda. Alguns estudos têm identificado subtipos de tumores com comportamento biológico diferente, entretanto com resultados muitas vezes conflitantes e de aplicação clínica restrita.

A amostra será composta por 50 pacientes atendidos no ambulatório de Coloproctologia do Hospital de Base do Distrito Federal com diagnóstico de adenocarcinoma de reto, submetidos a terapia neoadjuvante com radioquimioterapia.

Os pacientes realizam coletas de fragmentos do tecido retal do tumor primário após exposição a radioquimioterapia neoadjuvante para biópsia. A coleta dos materiais ocorre no dia do início da radioquimioterapia e entre a oitava e nona semana pós-neoadjuvância. A análise das peças operatórias é realizada no laboratório de anatomia patológica do respectivo hospital e os resultados são incluídos nos prontuários digitais dos pacientes. Desta forma, necessitaremos somente consultar os prontuários médicos para coletarmos os resultados das biópsias.

Critérios de Inclusão: Pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma de reto extraperitoneal;



INSTITUTO DE GESTÃO
ESTRATÉGICA DE SAÚDE DO
DISTRITO FEDERAL & IGESDF



Continuação do Parecer: 5.739.027

estadiamento clínico II e III; idade entre 18 e 90 anos na data do diagnóstico; "virgens de qualquer tratamento"; atendidos e em acompanhamento na Unidade de Coloproctologia do HBDF.

Critérios de Exclusão: Pacientes que não se encaixem nas características descritas anteriormente.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral: Comparar padrão de imunomarcção de proteínas associadas ao câncer colorretal expressas no tecido retal tumoral entre pacientes com TRG1 e 2 e TRG 4 e 5.

Objetivo Primário: Avaliar o padrão de imunomarcção expresso no tecido retal tumoral em paciente com câncer colorretal.

Objetivo Secundário: Comparar o padrão de imunomarcção entre pacientes com TRG1 e 2 e TRG 4 e 5.

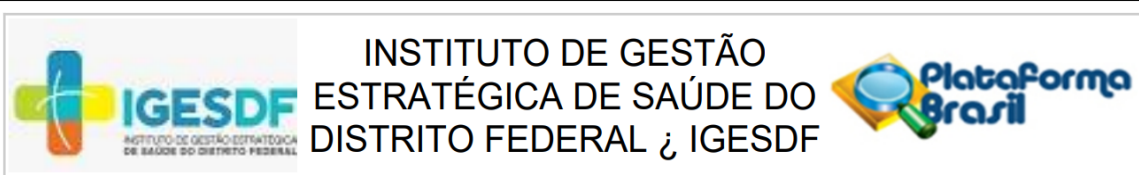
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Existe risco de exposição de dados pessoais e de prontuário de pacientes participantes do estudo. Para evitar este tipo de risco, as informações serão colhidas em lugar seguro e de acesso restrito, não obstante, informações pessoais, que possibilitem a identificação do participante não serão coletadas. Iremos também codificar informações de controle nas planilhas com códigos que possibilitem somente o pesquisador identificar quem são os participantes do estudo que tem os dados incluídos na tabela. Esse código seguirá colocando a sequência da data de admissão do paciente na instituição, por exemplo, o primeiro paciente que foi admitido e tem os critérios de inclusão para este estudo receberá o código PC01 e assim por diante.

Benefícios: Estudar o perfil de imunomarcção no tecido retal tumoral de pacientes com adenocarcinomas do reto extraperitoneal, no intuito de detectar alterações passíveis de aplicação clínica, em especial na predição de resposta à radioquimioterapia neoadjuvante.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto se mostra com relevância para a assistência e academia



Continuação do Parecer: 5.739.027

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos foram entregues adequadamente e o TCLE com os ajustes necessários relacionados às pendências

Recomendações:

nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A partir da reescritura do Projeto e das respostas positivas às pendências , com os ajustes solicitados em vários documentos, sugere-se a aprovação

Considerações Finais a critério do CEP:

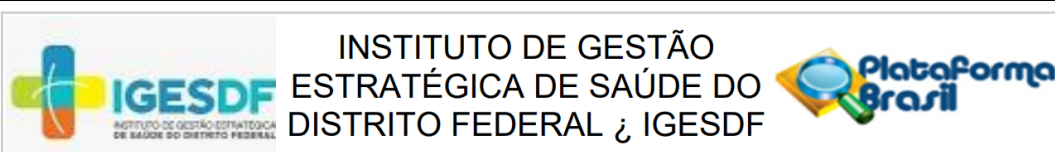
O colegiado do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Gestão Estratégica de Saúde do Distrito Federal (CEP/IGESDF), de acordo com as atribuições definidas pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS) na resolução do 466/2012 e na norma operacional 001/2013, em reunião, realizada no dia 08/04/2021, deliberou pela liberação da "APROVAÇÃO" de protocolo de pesquisa, AD REFERENDUM, quando se tratar de cumprimento de pendências de readequação de cronograma, apresentação de relatório parcial, documentos complementares que serão sujeitos à simples conferência .

O colegiado do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Gestão Estratégica de Saúde do Distrito Federal (CEP/IGESDF), de acordo com as atribuições definidas pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS) na resolução do 466/2012 e na norma operacional 001/2013, em reunião, realizada no dia 08/04/2021, deliberou pela liberação da "APROVAÇÃO" de protocolo de pesquisa, AD REFERENDUM, quando se tratar de cumprimento de pendências de readequação de cronograma, apresentação de relatório parcial, documentos complementares que serão sujeitos à simples conferência .

Fica APROVADO nesta data de 04/11/2022, "AD REFERENDUM" este relatório que cumpriu adequadamente as pendências e vai assinado pelo Coordenador do CEP.

O pesquisador deve seguir o disposto no item recomendações e demais aspectos éticos vigentes, emitindo relatórios parciais semestrais e final sucinto quando da conclusão do projeto, por meio de notificação, via Plataforma Brasil. Além disso, deve seguir o protocolo como apresentado e aprovado.

Qualquer alteração que seja feita, inclusive se houver necessidade de interrupção da pesquisa, também deve ser imediatamente comunicada ao CEP/IGESDF, via Plataforma Brasil.



Continuação do Parecer: 5.739.027

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1647745.pdf	19/10/2022 13:02:05		Aceito
Declaração de Pesquisadores	RespostaPendencia_5484549.pdf	19/10/2022 13:01:38	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	19/10/2022 13:00:45	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa_Atualizado.docx	19/10/2022 13:00:33	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Atualizado.pdf	19/10/2022 13:00:20	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Cronograma	Cronogramafinal.pdf	29/07/2022 15:38:03	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	20/01/2022 18:01:37	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Alexandre_Gheller.pdf	20/01/2022 18:00:33	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_anuencia_Alexandre.pdf	20/01/2022 17:59:56	ALEXANDRE GHELLER	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso_e_confidencialidade.pdf	20/01/2022 17:59:47	ALEXANDRE GHELLER	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 04 de Novembro de 2022

Assinado por:
OSORIO LUIS RANGEL DE ALMEIDA
(Coordenador(a))

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa “Padrão de imunomarcção no adenocarcinoma de reto em pacientes com e sem resposta à neoadjuvância” sob responsabilidade do pesquisador Alexandre Gheller da Unidade de Coloproctologia do Hospital de Base do Distrito Federal. Esse estudo tem como objetivo comparar padrões moleculares em pacientes expostos à radioquimioterapia neoadjuvante para neoplasia de reto.

A sua participação se dará em nos conceder autorização de consulta ao prontuário eletrônico disponível no Hospital de Base do Distrito Federal.

Todos os pacientes com sua condição de saúde passam aqui no Hospital por uma triagem, no qual será realizada avaliação clínica, endoscópica e anatomopatológica. Após a triagem, poderá ocorrer coleta de fragmentos do tecido (biópsia) tumoral, antes e após exposição à radioquimioterapia neoadjuvante. A coleta dos materiais ocorrerá no dia do início da radioquimioterapia e entre a oitava e nona semana pós-neoadjuvância. O material após a coleta é encaminhado para o laboratório de anatomia patológica deste hospital. Desta forma, precisaremos somente dos resultados da biópsia após análise do laboratório, este resultado é incluído em seu prontuário eletrônico aqui na instituição.

É possível que você tenha que passar por procedimentos endoscópicos e por coleta de material biológico como biópsias tumorais, no entanto todos os cuidados relacionados à segurança do paciente serão tomados e a todo o momento, você será acompanhado pela equipe da Unidade de Coloproctologia deste hospital. A sua participação pode ajudar a entendermos melhor o câncer de reto e desenvolvermos novas maneiras de lidar com esta doença.

Durante sua participação nesse estudo você será acompanhado pela Unidade de Coloproctologia durante todo o tratamento da doença, desde seu diagnóstico, até

a realização de procedimentos cirúrgico, caso necessário e acompanhamento pós-operatório. Sua participação é voluntária, ou seja, você tem direito a se recusar a participar ou se retirar da pesquisa em qualquer momento, sem nenhum prejuízo. Não haverá pagamento ou recompensa financeira pela sua participação nesse estudo. Você não terá nenhuma despesa adicional com sua participação nesse estudo. Haverá garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.



Diretoria de Inovação, Ensino e Pesquisa
Gerência de Pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Garantimos que seu nome e dados não serão divulgados, sendo mantidos em sigilo pela equipe de pesquisadores. Os resultados desse estudo poderão ser divulgados nessa instituição, em revistas e/ou encontros científicos, sempre garantindo a sua privacidade.

Caso tenha dúvidas ou considerações relacionadas a esta pesquisa, entre em contato com o pesquisador responsável Alexandre Gheller por meio do telefone (61)991156949, email ghelleralexandre@yahoo.com.br. Página 1 de 2

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do IGESDF (e-mail: cep@igesdf.org.br, telefone: (61) 3550-9167, Endereço: Setor Médico Hospitalar Sul – Asa Sul – Brasília/DF – CEP: 70335-900). Entre em contato caso tenha ou queira alguma informação a respeito dos aspectos éticos envolvendo este estudo.

Se concordar em participar, você receberá uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e a outra via será arquivada pelo pesquisador.

Brasília, _____ de _____.

Eu _____ aceito participar desse estudo.

_____ Assinatura do participante

_____ Assinatura do pesquisador

ANEXO C – Artigo Publicado



OPEN ACCESS

EDITED BY
Arthur Sun Myint,
Clatterbridge Hospital, United Kingdom

REVIEWED BY
Krzysztof Bujko,
Maria Skłodowska-Curie National Research
Institute of Oncology, Poland
Soledad Iseas,
Hospital Udaondo, Argentina
Nina (Ri Na) Yoo,
The Catholic University of Korea,
Republic of Korea

*CORRESPONDENCE
Alexandre Gheller
✉ ghelleralexandre@yahoo.com.br

RECEIVED 15 February 2024
ACCEPTED 10 June 2024
PUBLISHED 21 June 2024

CITATION
Gheller A, Basílio DB, da Costa MCR,
Tuma SA, Ferreira OMTA, Lyrio FG,
Girardi DdM and de Sousa JB (2024)
Identification of radiologic and
clinicopathologic variables associated with
tumor regression pattern and distribution of
cancer cells after short-course radiotherapy
and consolidation chemotherapy in
patients with rectal cancer.
Front. Oncol. 14:1386697.
doi: 10.3389/fonc.2024.1386697

COPYRIGHT
© 2024 Gheller, Basílio, da Costa, Tuma,
Ferreira, Lyrio, Girardi and de Sousa. This is an
open-access article distributed under the terms
of the Creative Commons Attribution License
(CC BY). The use, distribution or reproduction
in other forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright owner(s)
are credited and that the original publication
in this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Identification of radiologic and clinicopathologic variables associated with tumor regression pattern and distribution of cancer cells after short-course radiotherapy and consolidation chemotherapy in patients with rectal cancer

Alexandre Gheller^{1*}, Dunya Bachour Basílio²,
Marília Cristina Rosa da Costa², Sussen Araújo Tuma²,
Oscar Miguel Túlio Andrade Ferreira¹,
Fernando Gonçalves Lyrio¹, Daniel da Motta Girardi³
and João Batista de Sousa⁴

¹Colorectal Surgery Department, Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília, DF, Brazil, ²Anatomopathology Department, Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília, DF, Brazil, ³Clinical Oncology Department, Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília, DF, Brazil, ⁴Division of Colorectal Surgery, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil

Background: Knowledge of the pattern of regression and distribution of residual tumor cells may assist in the selection of candidates for rectum-sparing strategies.

Objective: To investigate and identify factors associated with tumor regression pattern and distribution of residual tumor cells.

Methods: We conducted a prospective study of patients with T3/T4 N0/N+ adenocarcinoma of the middle and lower third of the rectum (≤ 10 cm) treated with radiotherapy (5x5 Gy) followed by 6 cycles of CAPOX chemotherapy. The pattern of tumor regression was classified as fragmented or solid. Microscopic intramural spread was measured. We used a model of distribution of residual tumor cells not yet applied to rectal cancer, defined as follows: type I (luminal), type II (invasive front), type III (concentric), and type IV (random).

Results: Forty patients were included with a median age of 66 years; 23 (57.5%) were men. A fragmented pattern was identified in 18 patients (45.0%), and a solid pattern in 22 (55.0%). Microscopic intramural spread was identified in 25 patients (62.5%), extending from 1 to 18 mm (median, 4 mm). There were 14 cases (35.0%) of microscopic intramural spread ≥ 10 mm. All cases of fragmented regression pattern, except one, showed microscopic intramural spread. Within the fragmented pattern, microscopic intramural spread was 4–8 mm in 4 cases and ≥ 10 mm in the remaining cases. All cases of microscopic intramural spread

≥ 10 mm were within the fragmented pattern. Regarding the distribution pattern of residual tumor cells, 11 cases (31.5%) were classified as type I, 14 (40.0%) as type II, 10 (28.5%) as type III, and none as type IV. Carcinoembryonic antigen levels >5 ng/mL, downsizing $<50\%$, residual mucosal abnormality >20 mm, and anatomopathologic lymph node involvement were significantly associated with the occurrence of fragmentation ($P<0.05$). Having received all 6 cycles of CAPOX chemotherapy and absence of microscopic intramural spread were significantly associated with the type I distribution pattern ($P<0.05$).

Conclusion: The occurrence of a fragmented regression pattern is common, as is the presence of microscopic intramural spread. We could identify radiologic and clinicopathologic factors associated with the pattern of tumor regression and a type I distribution pattern.

KEYWORDS

rectal cancer, fragmentation, distribution, tumor response, neoadjuvant (chemo)radiotherapy

1 Introduction

The treatment of rectal cancer has undergone a substantial change in recent decades. The surgical technique, total mesorectal excision (TME), has been standardized and associated with decreased local recurrence and increased overall survival (1, 2). The subsequent use of preoperative (neoadjuvant) chemoradiotherapy has further reduced the rate of local recurrence permitting more sphincter-sparing operations to be performed (3).

Neoadjuvant chemoradiotherapy leads to a complete destruction of tumor cells in up to one-third of cases (pathologic complete response [pCR]) (4, 5), which has allowed the implementation of rectum-sparing strategies, such as local excision and watch and wait (6, 7). In this scenario, proper identification of candidates can be challenging.

To apply rectum-sparing strategies, homogeneous tumor regression is advisable, where tumor cells are destroyed from deeper layers toward the lumen, with a consequent correspondence between gross and microscopic tumor. Unfortunately, this is not what happens in all cases. Up to 50% of tumors show a fragmented regression pattern, with clusters of tumor cells spreading across the different layers of the rectal wall (8–10).

The identification of a pattern of distribution and regression may facilitate the selection of potential candidates for organ-sparing approaches, as well as for radical surgery. However, few articles have described how residual tumor cells (RTCs) are distributed throughout the rectum and how the tumor regresses (11, 12).

Therefore, this study aimed to investigate the pattern of regression and distribution of RTCs and identify possible associated factors.

2 Methods

The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Institute of Strategic Health Care Management of the Federal District – Hospital de Base of the Federal District, Brazil. No changes to the study protocol or methods were made after study commencement.

We conducted a prospective study of consecutive patients with extraperitoneal T3/T4 N0/N+ rectal adenocarcinomas, located 10 cm or less from the anal verge, who were treated and operated on at the Hospital de Base of the Federal District from January 2022 to June 2023. Patients were excluded if they had synchronous colorectal cancers or other non-colorectal cancers, had stage IV disease, had rectal cancer in the setting of inflammatory bowel disease or familial adenomatous polyposis, had undergone palliative resection, had previously received radiotherapy or chemotherapy, showed loss of expression of DNA repair enzymes, or had achieved a clinical complete response (cCR).

For all patients, baseline assessment and staging included a thorough proctoscopic examination, colonoscopy, dedicated pelvic magnetic resonance imaging (MRI) for rectal cancer, computed tomography of the chest and abdomen, and measurement of carcinoembryonic antigen (CEA) levels. Restaging was performed in all patients at the end of chemotherapy, between 1 and 6 weeks before surgery, and consisted of a thorough proctoscopic examination, flexible rectosigmoidoscopy, and pelvic MRI. During staging and restaging, information provided by pelvic MRI scanning was standardized according to the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines for Rectal Cancer (13). On restaging MRI, information was added on downsizing $\geq 50\%$ (defined as an at

least 50% reduction in the largest tumor diameter) and downstaging (stage regression).

Neoadjuvant therapy consisted of short-course radiotherapy (5×5 Gy) followed by 6 cycles of CAPOX chemotherapy (capecitabine 1000 mg/m^2 orally twice daily on days 1–14, oxaliplatin 130 mg/m^2 intravenously on day 1, and a chemotherapy-free interval between days 15–21) (14). Patients who achieved a cCR (absence of identifiable tumor on digital rectal examination, endoscopic ultrasound, and MRI) were offered the watch-and-wait strategy. Patients underwent surgery between 2 and 8 weeks after the end of chemotherapy. Surgery consisted of TME with or without sphincter preservation.

2.1 Anatomopathologic examination

A protocol was developed for the anatomopathologic examination of the surgical specimens in this study. All specimens were examined grossly and photographed before formalin fixation. The quality of TME was assessed according to Nagtegaal et al. (15). The outer surface of the rectum was inked with different colors, as follows: blue, anterior wall; green, posterior wall; yellow, right lateral wall; and black, left lateral wall (Figure 1A). The resected specimens were opened longitudinally to spare the tumor. The location, appearance, size, and distal margin of the residual tumor were described (Figure 1B). After fixation in 4% formalin for at least 48 hours, the specimens were marked from the superior, inferior, and lateral margins of the residual tumor to a distance of 4 cm in each direction (Figures 1C, D). In cases where there was no tissue within 4 cm, the entire existing segment was analyzed. Subsequently, this area (consisting of the entire tumor or margins at the 4-cm level) was divided into 1×1 cm squares in total thickness (Figures 1E, F). The remainder of the surgical specimen was cut transversely and perpendicular to the longitudinal axis of the rectum up to the vascular pedicle, with an approximate thickness of 1 cm. Tissue samples were embedded in paraffin, and $3\text{-}\mu\text{m}$ -thick sections were cut and stained with hematoxylin and eosin. Microscopic examination was performed by a single pathologist in accordance with the protocol established by the College of American Pathologists (16). Tumor regression grade was analyzed using Mandard's grading system (17). The distribution of residual disease in the rectal wall and mesorectum was examined. If residual disease was identified, the presence of RTCs in the mucosa, submucosa, muscularis propria, and subserosa/mesorectum was reported for each paraffin block analyzed from each patient. A model of RTC distribution across all layers of the rectal wall, which had been previously used in esophageal cancer (18), was adapted for use in this study as follows (Figure 2):

Type I – regression toward the lumen, with more tumor cells in the mucosa and submucosa.

Type II – regression toward the invasive front, with more tumor cells in the muscularis propria and subserosa/mesorectum.

Type III – concentric regression, with more tumor cells in the submucosa and muscularis propria.

Type IV – random regression, with comparable amount of tumor cells in all layers.

The pattern of tumor regression was classified as fragmented or solid and with or without microscopic intramural spread (MIS) of tumor. The fragmented pattern was defined as the presence of clusters of tumor cells separated from each other by fibrotic or normal tissue, scattered at least 1 mm apart. The solid pattern was defined as a single cluster of tumor cells surrounded by fibrotic or normal tissue (Figure 2). Because the solid regression pattern represents homogeneous regression with a better prognosis and pCR shares similar characteristics, the pCR cases were considered to have a solid regression pattern. MIS of tumor was defined as the presence of tumor cells underlying normal-appearing mucosa by at least 1 mm, that is, the presence of tumor cells outside the boundaries of the gross residual lesion in any direction (19). MIS was measured when present.

2.2 Immunohistochemistry

Tissue samples of rectal adenocarcinoma, obtained from pre-neoadjuvant biopsies, were fixed in formalin and embedded in paraffin for histological analysis. Serial $3\text{-}\mu\text{m}$ -thick histological sections were cut from each paraffin block, stained with hematoxylin and eosin, and reviewed to select the sites for removal of the tissue cylinders used to construct the tissue microarray.

2.2.1 Assessment for CD8 and CD3

CD8 and CD3 staining was positive when detected in the cytoplasm or cell membrane of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), and the samples were examined by microscopy (NIKON Eclipse 55i) according to the intensity of CD8+ and CD3+ TILs. The samples were examined at $40\times$ magnification, and the area with the highest density of CD8+ and CD3+ TILs adjacent to the neoplastic cells was counted at $400\times$ magnification (number of CD8+/CD3+ TILs). The average number of CD8+/CD3+ TILs in 5 high-power fields was included in the evaluation. A count of zero CD8+/CD3+ TILs in a high-power field received a score of 0, a count of 1–3 CD8+/CD3+ TILs received a score of 1, a count of 4–10 CD8+/CD3+ TILs received a score of 2, and a count of > 10 CD8+/CD3+ TILs received a score of 3 (20). Scores of 0 and 1 were defined as low CD3 and CD8 T-cell infiltration, and scores of 2 and 3 were defined as high CD3 and CD8 T-cell infiltration.

2.2.2 Assessment for PD-L1

A modified H-score (MHS) was used to assess tumor PD-L1 expression with the anti-PD-L1 antibody clone 22C3. This method sums up the expression of tumor cells and mononuclear inflammatory cells within tumor that express PD-L1 as membrane staining, with different weights for each intensity of the PD-L1 expression: weak (1+), moderate (2+), and strong (3+).

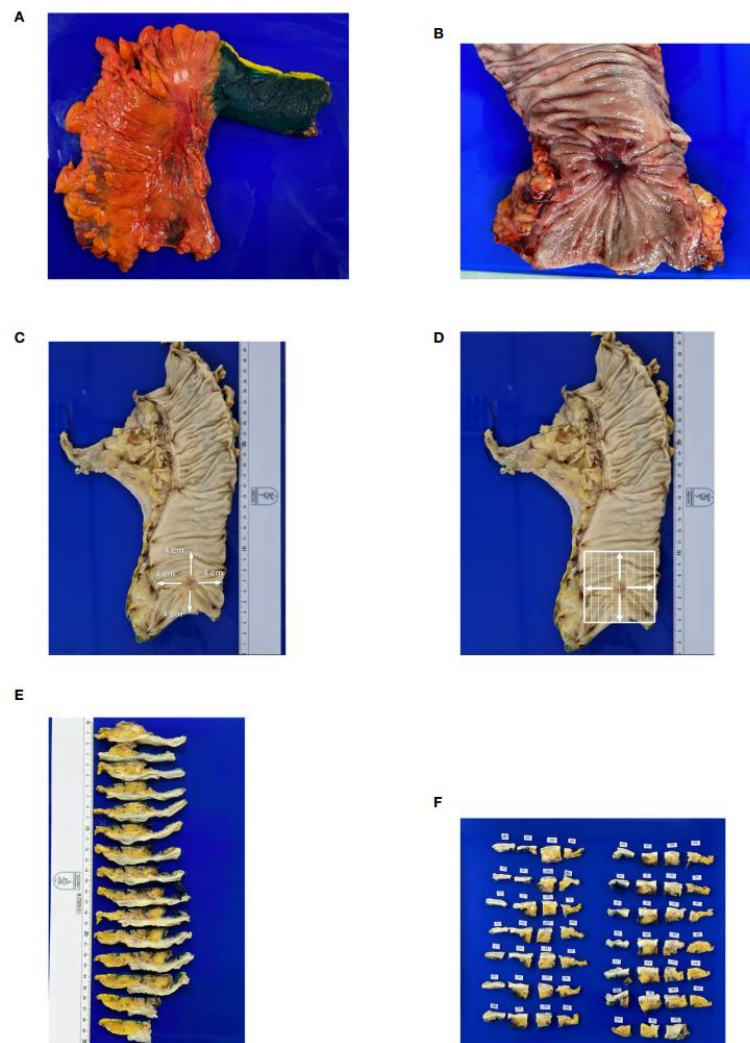


FIGURE 1
Standardization of gross examination of surgical specimens. Specimen (A) inking and (B) opening. (C, D) Specimen marked in 4 directions from the center of the residual tumor for a 4 x 4 cm square field. (E) Cross sections and (F) mapping.

The final value is calculated using the following formula: $MHS = [(\% \text{ positive cells at } 1+) \times 1] + [(\% \text{ positive cells at } 2+) \times 2] + [(\% \text{ positive cells at } 3+) \times 3]$, with the result ranging from 0 to 300 and being considered positive when $MHS \geq 1$ (21).

2.2.3 Assessment for expression of DNA repair enzymes

Regarding immunoreactivity for MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2, the result is considered negative (loss of expression) when

there is no nuclear staining in tumor cells in the presence of nuclear staining in epithelial cells and lymphocytes.

2.3 Statistical analysis

The number of patients with rectal adenocarcinoma receiving neoadjuvant chemoradiotherapy during the study period determined the sample size. Poisson regression with robust

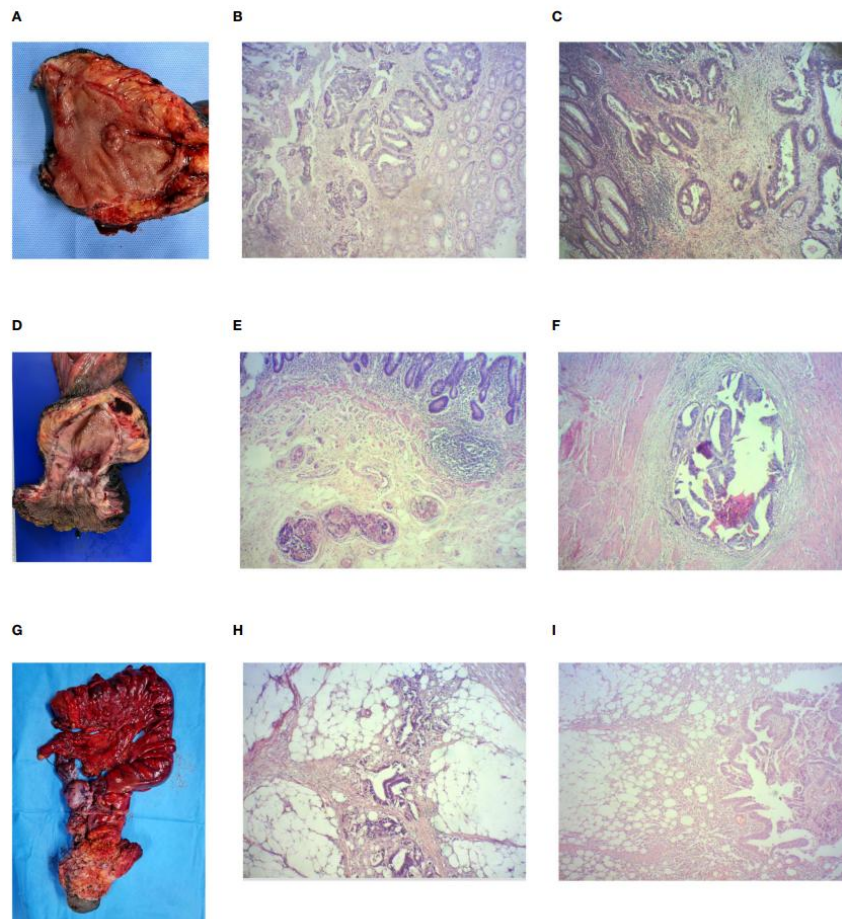


FIGURE 2
Surgical specimens with their pattern of tumor regression and distribution of residual tumor cells. (A) Resected specimen of low anterior open rectal resection: (B) solid regression pattern and (C) type I distribution pattern (hematoxylin & eosin, 40x magnification). (D) Resected specimen of open abdominoperineal resection: (E) fragmented regression pattern and (F) type III distribution pattern (hematoxylin & eosin, 40x magnification). (G) Resected specimen of infraflexor posterior pelvic exenteration with combined sacrectomy: (H) fragmented regression pattern and (I) type II distribution pattern (hematoxylin & eosin, 40x magnification).

variance was used to determine demographic and clinicopathologic factors associated with the occurrence of fragmentation and type I distribution pattern, using prevalence ratio (PR) and the respective 95% CI as the effect measure. Bivariate and multivariate analyses were performed. Initially, simple Poisson models were adjusted for each variable, and those with a P value < 0.05 were included in the multivariate Poisson model. The variables were then adjusted using a stepwise procedure, and only those with a P value < 0.05 were retained in the final model. Multicollinearity among the independent variables was assessed, and a tolerance value > 0.60 indicated the presence of multicollinearity. P values < 0.05 were

considered statistically significant. Data were analyzed using SAS, version 9.4.

3 Results

3.1 Demographic and clinicopathologic data

Of 45 individuals eligible for the study, 5 were excluded: 4 achieved a cCR and were offered the watch-and-wait strategy, and 1

showed loss of MLH1 and PMS2 expression. Therefore, the sample consisted of 40 patients with a median age of 66 years (range, 36 to 83 years); 23 (57.5%) were men. Demographic and clinicopathologic data are shown in Table 1.

Twenty-eight patients (70.0%) received all 6 cycles of CAPOX chemotherapy. Six patients received 5 cycles and 6 patients received 4 cycles due to toxicity (neuropathy and neutropenia). On restaging, there were 14 stage I, 17 stage II, and 9 stage III cases. Downstaging occurred in 29 patients (72.5%), and downsizing $\geq 50\%$ occurred in 23 (57.5%).

The time interval between the start of radiotherapy and surgery ranged from 20 to 35 weeks, with a median of 28 weeks. In 32 cases, this interval was ≤ 30 weeks. Low anterior resection was performed in 32 cases, including 1 intersphincteric resection and 1 total pelvic exenteration. Abdominoperineal resection was performed in 8 cases, including 1 case of combined sacrectomy. The pathologic staging of the surgical specimens was as follows: stage I, 14 cases; stage II, 9 cases; and stage III, 12 cases. Five patients achieved a pCR.

Lymphovascular invasion was diagnosed in 15 cases, and perineural invasion in 10 cases.

3.2 Pattern of tumor regression and microscopic intramural spread

A fragmented pattern was identified in 18 patients (45.0%), and a solid pattern in 22 (55.0%). MIS was identified in 25 patients (62.5%), extending from 1 to 18 mm (median, 4 mm). Seven cases of solid regression pattern showed MIS, ranging from 1 to 3 mm. All cases of fragmented regression pattern, except one, showed MIS. Within the fragmented pattern, 4 cases had MIS of 4–8 mm, and the remaining cases had MIS ≥ 10 mm. When the value of 1 cm, easily applicable to clinical practice, was used to dichotomize this variable, there were 14 cases (35.0%) of MIS ≥ 10 mm. All cases of MIS ≥ 10 mm were within the fragmented pattern.

After adjusting the multivariate Poisson model, the following variables were associated with the occurrence of a fragmented pattern of tumor regression: CEA levels > 5 ng/mL, downsizing $< 50\%$, residual mucosal abnormality > 20 mm, and anatomopathologic lymph node involvement (ypN+) ($P < 0.05$) (Table 2).

3.3 Distribution pattern of residual tumor cells

For patients who did not achieve a pCR ($n = 35$), the distribution of RTCs in each layer of the rectal wall was as follows: 29 patients (82.8%) had RTCs in the mucosa; 31 (88.5%) in the submucosa; 30 (85.7%) in the muscularis propria; and 20 (57.1%) in the subserosa/perirectal fat. All 3 patients staged as ypT1 had RTCs in the mucosa (100%) and in the submucosa (100%). Among 11 patients staged as ypT2, RTCs were found in the mucosa in 10 (90.9%), in the submucosa in 9 (81.8%), and in the muscularis propria (100%). Among 20 patients staged as ypT3, RTCs were found in the mucosa in 15 (75.0%), in the submucosa in 18 (90.0%), in the muscularis propria in 19 (95.0%), and in subserosa/mesorectum (100%). The only patient staged as ypT4 (100%) had RTCs in the mucosa, submucosa, muscularis propria, and subserosa/mesorectum. According to the model of RTC distribution used in this study, 11 cases (31.5%) were classified as type I, 14 (40.0%) as type II, 10 (28.5%) as type III, and none (0%) as type IV.

After adjusting the multivariate Poisson model, the type I distribution pattern was significantly associated with having received all 6 cycles of CAPOX chemotherapy and absence of MIS of tumor ($P < 0.05$) (Table 3).

4 Discussion

For rectal cancer, the pattern of tumor regression is classified as solid or fragmented. The solid pattern represents homogeneous regression and consists of a single cluster of RTCs, being associated with a better prognosis. The fragmented pattern is characterized by

TABLE 1 Demographic and clinicopathologic characteristics of patients.

Variable	Frequency (n = 40)	Percentage
Sex		
Female	17	42.5
Male	23	57.5
Age		
< 60 years	17	42.5
≥ 60 years	23	57.5
Height		
≤ 5 cm	20	50.0
> 5 cm	20	50.0
CEA level		
≤ 5.0 ng/mL	26	65.0
> 5.0 ng/mL	14	35.0
Initial clinical staging		
II	6	15.0
III	34	85.0
Pathologic staging		
0 and I	19	47.5
II and III	21	52.5
CD3 and CD8 T-cell infiltration		
Low	16	37.5
High	24	55.0
PD-L1 expression		
Present	3	7.5
Absent	37	92.5

CEA, carcinoembryonic antigen.

TABLE 2 Distribution of study variables according to the Poisson regression model with robust variance for the occurrence of fragmentation (n = 40).

Variable (Frequency n = 40/percentage)	Unadjusted		Adjusted	
	PR (95% CI)	P value	PR (95% CI)	P value
Stenosis (n/%)		0.0329	-	-
No (25/62.5)	1	-	-	-
Yes (15/37.5)	2.08 (1.06–4.09)	0.0329	-	-
Passable by the colonoscope (n/%)		0.0236	-	-
No (8/20.0)	1	-	-	-
Yes (32/80.0)	2.00 (1.10–3.64)	0.0236	-	-
Extramural venous invasion – Initial staging (n/%)		< 0.0001	-	-
No (33/82.5)	1	-	-	-
Yes (7/17.5)	2.47 (1.67–3.64)	< 0.0001	-	-
Lymphovascular invasion (n/%)		0.0015	-	-
No (25/62.5)	1	-	-	-
Yes (15/37.5)	3.33 (1.59–7.00)	0.0015	-	-
Tumor deposits in the mesorectum – AP (n/%)		< 0.0001	-	-
No (34/85.0)	1	-	-	-
Yes (6/15.0)	2.83 (1.80–4.47)	< 0.0001	-	-
Microscopic intramural spread (n/%)		< 0.0001	-	-
< 10 mm (26/65.0)	1	-	-	-
≥ 10 mm (14/35.0)	6.50 (2.64–16.01)	< 0.0001	-	-
Pathologic T stage (n/%)		0.0036	-	-
T0, T1, and T2 (19/47.5)	1	-	-	-
T3 and T4 (21/52.5)	7.24 (1.91–27.44)	0.0036	-	-
Pathologic N+ stage (n/%)		0.0001		0.0017
No (28/70.0)	1	-	1	-
Yes (12/30.0)	3.67 (1.89–7.12)	0.0001	2.29 (1.36–3.85)	0.0017
Downsizing (n/%)		0.0005		0.0052
≥ 50% (23/57.5)	1	-	1	-
< 50% (17/42.5)	6.76 (2.32–19.71)	0.0005	4.03 (1.51–10.71)	0.0052
CEA level (n/%)		0.0131		0.0095
≤ 5.0 ng/mL (26/65.0)	1	-	1	-
> 5.0 ng/mL (14/35.0)	2.32 (1.19–4.51)	0.0131	2.27 (1.22–4.23)	0.0095
CD3 and CD8 T-cell infiltration (n/%)		0.0021	-	-
High (24/60.0)	1	-	-	-
Low (16/40.0)	10.27 (2.72–38.75)	0.0006	-	-
Tumor size – Restaging MRI (n/%)		< 0.0001	-	-
> 6 cm (2/5.0)	1	-	-	-
≤ 6 cm (38/95.0)	2.37 (1.64–3.45)	< 0.0001	-	-
Size of residual mucosal abnormality (n/%)		< 0.0001		0.0484

(Continued)

TABLE 2 Continued

Variable (Frequency n = 40/percentage)	Unadjusted		Adjusted	
	PR (95% CI)	P value	PR (95% CI)	P value
≤ 20 mm (24/60.0)	1	–	1	–
> 20 mm (16/40.0)	2.57 (1.71–3.87)	< 0.0001	2.18 (1.01–4.73)	0.0484

PR, prevalence ratio; AP, anatomopathologic examination; CEA, carcinoembryonic antigen; MRI, magnetic resonance imaging.

tumor heterogeneity and consists of areas of complete response interspersed with tumor cell clusters, being associated with a worse prognosis. In the fragmented pattern, tumor cells are commonly found outside the boundaries of the gross residual lesion (MIS of tumor) (22). Since little is known about the factors that drive the development of one regression pattern over the other and that a possible explanation may lie in the relationship between tumor cells and the patient's immune response, we performed immunostaining for CD3 and CD8 T-cell infiltration and PD-L1 expression in pre-neoadjuvant biopsy samples (23).

The importance of investigating the pattern of tumor regression and distribution of RTCs lies in the possibility of producing knowledge to be used in rectum-sparing strategies, as well as in radical surgery. Therefore, in rectal tumors with a fragmented regression pattern, due to the risk of leaving RTCs, the resection margins should be calculated based on the boundaries of the gross lesion before neoadjuvant therapy rather than on the residual lesion

after chemoradiotherapy. Moreover, understanding the distribution of RTCs in the rectal wall and mesorectum may indicate the points where to increase imaging resolution, as well as the sites where to perform the biopsy after neoadjuvant therapy.

Our study identified a fragmented tumor regression pattern in 45% of cases. The variables associated with this pattern were residual mucosal abnormality > 20 mm, CEA levels > 5 ng/mL, downsizing < 50%, and anatomopathologic lymph node involvement. The size of residual mucosal abnormalities has been associated with pathologic T stage (ypT), with increasing diameters being associated with more advanced ypT (24). A similar relationship exists between the occurrence of a fragmented regression pattern and ypT, and therefore it seems reasonable to associate the size of residual mucosal abnormalities with fragmentation. The occurrence of downsizing < 50% reflects a poorer response to neoadjuvant therapy, which is also characteristic of fragmented regression (8, 9). Above-normal CEA

TABLE 3 Distribution of study variables according to the Poisson regression model with robust variance for type I distribution pattern (n = 35).

Variable (Frequency n=40/percentage)	Unadjusted		Adjusted	
	PR (95% CI)	P value	PR (95% CI)	P value
Consolidation TNT CAPOX 6 cycles (n%)		0.0494	–	0.0053
No (12/30.0)	1	–	1	–
Yes (28/70.0)	2.41 (1.00–6.00)	0.0494	2.95 (1.38–6.32)	0.0053
Microscopic intramural spread (n%)		0.0008		< 0.0001
Yes (25/62.5)	1	–	1	–
No (15/37.5)	6.67 (2.21–20.14)	0.0008	7.41 (2.77–19.85)	< 0.0001
Downsizing (n%)		0.0237	–	–
< 50% (17/42.5)	1	–	–	–
≥ 50% (23/57.5)	9.44 (1.35–66.10)	0.0237	–	–
Differentiation grade (n%)		0.0494	–	–
Moderately differentiated (31/77.5)	1	–	–	–
Well differentiated (9/22.5)	2.41 (1.00–6.00)	0.0494	–	–
MRI TRG (n%)		0.0110	–	–
1 and 2 (8/20.0)	2.91 (1.28–6.61)	0.0110	–	–
3 and 4 (32/80.0)	1	–	–	–
Pathologic TRG (n%)		0.0020	–	–
1 and 2 (13/32.5)	4.05 (1.67–9.83)	0.0020	–	–
3 and 4 (27/67.5)	1	–	–	–

PR, prevalence ratio; TNT, total neoadjuvant therapy; MRI, magnetic resonance imaging; TRG, tumor regression grade.

levels have been associated with an increased likelihood of metastatic disease, increased tumor volume, and poor prognosis, characteristics also common to the fragmented pattern (25). The relationship between fragmented regression and anatomopathologic lymph node involvement has been previously described, where the occurrence of a fragmented pattern is associated with decreased lymph node sterilization in the mesorectum (8). Therefore, all 4 variables associated with the fragmented pattern in the current study indicate less tumor regression in response to the action of neoadjuvant chemoradiotherapy and poorer prognosis, factors consistent with this regression pattern. An interesting aspect is that CEA levels, as well as downsizing and the size of residual mucosal abnormalities, can be easily measured and used for preoperative prediction of the regression pattern.

MIS of tumor occurred in most patients ($n = 25$, 62.5%), extending from 1 to 18 mm. As expected, all but one case of fragmented regression showed MIS. Furthermore, the fact that all cases of MIS ≥ 10 mm showed a fragmented regression pattern leads us to believe that these cases represent situations of exuberant fragmented regression. However, we identified that nearly one-third of patients with solid regression (7 out of 22) had MIS, which was unexpected by definition. It is worth mentioning that these measurements were obtained from formaldehyde-fixed specimens, which are known to have no perfect correlation with *in vivo* tissue. Based on these data, we believe that a margin of 20 mm distally and laterally is sufficient for radical surgery.

A retrospective analysis of local excision specimens, from a sample of patients with residual tumors up to 3 cm in diameter, identified a fragmented regression pattern in 37% and the presence of MIS in 53% of the specimens, with a maximum spread of 7.2 mm (19). These rates are slightly lower than ours, but there are differences between the two studies. In the current study, cases were not excluded according to the size of residual tumor and the neoadjuvant chemoradiotherapy regimen was different. Another retrospective analysis of patients undergoing TME identified higher rates of fragmented pattern (80% of cases) and MIS (71% of surgical specimens) (26) than those reported in the current study. However, the largest extension of MIS was measured in our study (9×18 mm). These differences may be explained by the different study designs (prospective vs retrospective), where, in our study, we used a dedicated anatomopathologic examination protocol for a complete sampling of the tumor and surrounding area, controlling for direction and thickness. No less important, the chemoradiotherapy regimens and timing of surgery were different. In a meta-analysis consisting of 5 studies, with 349 patients in total, MIS was identified in 20% of patients, with an extension of 0 to 20 mm (27). Our discrepant results may be explained by differences in neoadjuvant chemoradiotherapy regimens, timing of surgery, and surgical techniques used.

It is our understanding that the investigation of how a tumor regresses should be accompanied by an investigation of how it is distributed, because altogether this information can impact the management of rectal cancer. As in previous studies, in our study the presence of RTCs was described across the different layers of the rectal wall. Duldulao et al. (11), in a secondary analysis of data

obtained from a prospective phase II study of patients with stage II or stage III rectal cancer, found RTCs in the mucosa in 14% of cases, in the submucosa in 42%, and in the muscularis propria in 60%. Our findings are different, with rates of 82%, 88%, and 85%, respectively. Possible explanations for such a difference are suggested. Our study was designed and conducted with the aim of investigating the pattern of regression and distribution of RTCs using a detailed and comprehensive anatomopathologic examination protocol. There is no information in this regard in the study by Duldulao et al. Perhaps the discrepancy between anatomopathologic examination methods can explain the difference. Other factors may help explain this disparity, such as the use of different neoadjuvant chemoradiotherapy regimens and different timing of surgery.

It is important to note that the identification of RTCs in the mucosa, or in any other layer of the rectal wall, does not mean that they will be found in this layer in all histological sections of the tumor. Contrariwise, there were cases of RTCs in the most superficial layers in only one or two histological sections, which did not occur in dozens of other sections. In these same cases, a large number of RTCs were commonly identified in the deeper layers. Therefore, it is our understanding that an endoscopic biopsy, with a sampling of only the mucosa, will be unlikely to identify RTCs in more than 80% of cases.

Simply describing the presence of RTCs in a layer does not indicate where these cells will be most concentrated. It would therefore be interesting to use a classification that represents the distribution pattern of RTCs. To date, to our knowledge, there is no such classification for rectal cancer. In the current study, we used a classification that had been previously applied to esophageal cancer (18). It consists of 4 distribution patterns: type I (luminal), with RTCs concentrated in the mucosa and submucosa; type II (invasive front), with RTCs concentrated in the muscularis propria and subserosa/mesorectum; type III (concentric), with RTCs concentrated in the submucosa and muscularis propria; and type IV (random), with comparable amount of RTCs in all layers.

In this study, we found similar rates of type I (31.5%), type II (40.0%), and type III (28.5%) distribution, with no type IV cases. In multivariate analysis, having received all 6 cycles of CAPOX chemotherapy and absence of MIS were associated with type I distribution. Assuming that the type I distribution pattern represents situations of increased tumor response and sensitivity to neoadjuvant therapy, it seems reasonable to consider its association with the completion of all cycles of consolidation chemotherapy, where more drugs have been administered and the interval between the start of radiotherapy and surgery is longer. The association between type I distribution pattern and absence of MIS is also possible, as both represent situations of favorable tumor response to neoadjuvant therapy. Given that the type I distribution pattern represents tumor regression toward the lumen (more superficial layers) and is associated with the absence of MIS (gross and microscopic responses are similar), the occurrence of this distribution pattern fulfills some of the criteria for local excision. Unfortunately, we were unable to compare our results with those of previous studies on the distribution pattern of RTCs in rectal cancer because there is none.

We acknowledge that this study has limitations. The study was conducted in a real-world setting, making it difficult to accurately control for some variables, such as timing of restaging, completion of all cycles of consolidation chemotherapy, and timing of surgery. However, strengths of this study include its prospective design with the use of an exclusive and comprehensive anatomopathologic examination protocol. In addition, the anatomopathologic examination was performed by a pathologist dedicated to gastrointestinal tract pathology, which reinforces the reliability of the results. The study also describes the pattern of regression and distribution of RTCs in a context of short-course radiotherapy followed by consolidation chemotherapy, along the lines of the RAPIDO trial (14); to date, there are no similar data in the literature.

5 Conclusion

After the use of short-course radiotherapy followed by consolidation chemotherapy, we could identify a fragmented regression pattern in almost half of the cases. We also identified factors associated with the occurrence of this pattern of tumor regression. Regarding the distribution of RTCs across the different layers of the rectal wall, we could identify RTCs in the most superficial layers in most cases. However, their concentration (distribution pattern) had a homogeneous distribution.

Data availability statement

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Ethics statement

The studies involving humans were approved by Research Ethics Committee of the Institute of Strategic Health Care Management of the Federal District – Hospital de Base of the Federal District, Brazil. The studies were conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements. The

participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

AG: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Validation, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing. DB: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Validation, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing. MC: Data curation, Formal analysis, Validation, Writing – review & editing. ST: Data curation, Formal analysis, Validation, Writing – review & editing. OF: Data curation, Formal analysis, Validation, Writing – review & editing. FL: Supervision, Writing – review & editing. DG: Supervision, Writing – review & editing. JS: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Writing – original draft, Writing – review & editing.

Funding

The author(s) declare that no financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

References

1. Heald RJ, Husband EM, Ryall RDH. The mesorectum in rectal cancer surgery - the clue to pelvic recurrence? *BJS*. (1982) 69:613–6. doi: 10.1002/bjs.1800691019
2. Heald RJ, Ryall RDH. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet*. (1986) 327:1479–82. doi: 10.1016/S0140-6736(86)91510-2
3. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med*. (2004) 351:1731–40. doi: 10.1056/NEJMoa040694
4. García-Aguilar J, Hernandez de Anda E, Sirivongs P, Lee SH, Madoff RD, Rothenberge DA. A pathologic complete response to preoperative chemoradiation is associated with lower local recurrence and improved survival in rectal cancer patients treated by mesorectal excision. *Dis Colon Rectum*. (2003) 46:298–304. doi: 10.1007/s10350-004-6545-x
5. Maas M, Nelemans PJ, Valentini V, Das P, Rödel C, Kuo LJ, et al. Long-term outcome in patients with a pathological complete response after chemoradiation for rectal cancer: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. (2010) 11:835–44. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70172-8
6. Habr-Gama A, Perez RO. Non-operative management of rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation. *BJS*. (2009) 96:125–7. doi: 10.1002/bjs.6470
7. Smith FM, Waldron D, Winter DC. Rectum-conserving surgery in the era of chemoradiotherapy. *BJS*. (2010) 97:1752–64. doi: 10.1002/bjs.7251
8. Hav M, Libbrecht L, Geboes K, Ferdinande L, Boterberg T, Ceelen W, et al. Prognostic value of tumor shrinkage versus fragmentation following radiochemotherapy and surgery for rectal cancer. *Virchows Archiv*. (2015) 466:517–23. doi: 10.1007/s00428-015-1723-x