

Análise de linfonodos no câncer colorretal: o impacto do uso de uma solução clareadora de gorduras

Primeira submissão em 20/06/07
Última submissão em 20/12/08
Aceito para publicação em 06/12/08
Publicado em 20/12/08

Lymph node analysis in colorectal cancer: the impact of the use of fat clearance solution

Rair Geraldo Richard Xavier¹; Túlio Pereira Júnior²; Ana Margarida M. F. Nogueira (in memoriam)³

unitermos	resumo
Carcinoma colorretal	<p>Introdução: O acometimento de linfonodos (LN) é o principal fator prognóstico em carcinomas colorretais (CCR) e recomendam-se técnicas especiais para melhorar a análise dos LN. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do uso de uma solução clareadora de gorduras na dissecação de LN em CCR. Material e método: Analisaram-se prospectivamente 74 adenocarcinomas (35 homens, média de 62,9 anos), a maioria pT3. Após o exame de rotina e dissecação de LN pelo método convencional (MC), a gordura foi imersa por 36 h (três trocas) em uma solução (SC) composta por álcool (65%), éter (20%), ácido acético (5%) e formol (10%) e realizou-se nova dissecação. Mediu-se o diâmetro dos LN e determinou-se o número de LN positivos (LN+) e negativos < 4 mm. Alguns LN+ obtidos após a SC foram submetidos à imunomarcagem por AE1/AE3. Resultados: Dissecaram-se 3.167 LN (42,8/caso): 1.814 (24,5/caso) pelo MC e 1.355 (18,3/caso) após o uso da SC; detectaram-se 196 LN+: 170 (86,7%) pelo MC e 26 (13,2%) após a SC; 1.068 LN (59%) dissecados convencionalmente eram < 4 mm (variando de 0,4-23 mm) e 1.261 LN (93%) dissecados após a SC eram < 4 mm (variando de 0,2-11 mm); 39/170 (22,9%) LN+ dissecados convencionalmente tinham menos de 4 mm e após a SC 19/26 (73%) dos LN+ eram < 4 mm ($p = 0$). O uso da SC aumentou o número de LN em 74,7% ($p = 0$), a detecção de LN pequenos em 118% ($p = 0$) e a detecção de metástases em 15,3% ($p = 0,003$). Houve modificação do pN em cinco casos ($p = 0,03$) nos quais se dissecaram inicialmente 12-20 LN; 90% dos casos com LN+ foram detectados somente após a análise de 40 LN. Conclusão: É necessário analisar grande número de LN, principalmente os pequenos, para estadiar adequadamente o carcinoma colorretal. Uma solução de clareamento de gorduras simples de usar e pouco dispendiosa pode ser de grande ajuda nesse propósito.</p>
Metástases linfonodais	
Estadiamento	
Solução clareadora de gordura	

abstract

key words

Background: Lymph node (LN) involvement is the most important prognostic factor in colorectal carcinomas and special methods are recommended to improve LN analysis. The objective of this study was to evaluate the impact of the use of a fat bleaching solution in LN dissection in colorectal carcinomas. **Method:** 74 adenocarcinomas (35 men – average age: 62.9) were prospectively analysed, most of them were pT3. After routine exam and LN dissection through conventional method, the fat was soaked in a solution containing alcohol (65%), ether (20%), acetic acid (5%) and formalin (10%) for 36 hours (three changes). A new dissection was performed subsequently. LN diameters were measured and the number of positive (LN+) and negative LN with < 4 mm was determined. Some LN+ obtained after the bleaching procedure were immunolabelled by AE1/AE3. **Results:** 3,167 LN (42.8/case) were dissected: 1,814 (24.5/case) by CM and 1,355 (18.3/case) after the bleaching procedure. 196 LN+ were detected: 170 (86.7%) detected by CM and 26 (13.2%) after the bleaching procedure. 1,068 (59%) of the LN conventionally dissected were < 4mm (range 0.4-23 mm) and 1,261 (93%) of the LN dissected after the bleaching procedure were < 4 mm (range 0.2-11 mm). 39/170 (22.9%) LN+ conventionally dissected were < 4 mm and 19/26 (73%) of the LN+ dissected after the bleaching procedure measured < 4 mm ($p = 0$). The use of bleaching solution increased the number of LN by 74.7% ($p = 0.000$), the detection of small LN by 118% ($p = 0$) and the detection of metastasis by 15.3% ($p = 0.003$). There was modification of pN in 5 cases ($p = 0.03$), from which 12-20 LN had been initially examined. 90% of all LN+ cases were detected only after the analysis of 40 LN. **Conclusion:** A large number of LN, mainly the small ones, must be analysed to stage colorectal cancer adequately. The use of a fat bleaching solution is inexpensive and may be a highly suitable procedure.

Colorectal cancer
Lymph node metastases
Staging
Fat bleaching solution

1. Médico patologista; mestrando em Patologia Médica pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).
2. Médico generalista.

3. Doutora; professora adjunta do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG; bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. Trabalho realizado no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Laboratório de Patologia Gastrointestinal, Faculdade de Medicina da UFMG, com base na dissertação de mestrado "Análise de linfonodos no câncer colorretal: o impacto do uso de uma solução clareadora de gorduras" apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia, UFMG, 2007. Apoio Financeiro: CNPq.

Introdução

O carcinoma colorretal (CCR) é importante causa de morbidade e mortalidade na população mundial, sendo o terceiro câncer mais comum em mulheres e o quarto em homens⁽³⁵⁾. Segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer do Brasil para o ano de 2008, o CCR seria o terceiro tumor maligno mais freqüente em homens e o segundo em mulheres na região sudeste do Brasil⁽²⁰⁾.

As características anatomopatológicas do tumor são os mais poderosos fatores preditivos para avaliar a evolução pós-cirúrgica no CCR^(6, 9). A presença de metástases em linfonodos (LN) regionais é, isoladamente, o fator prognóstico mais importante do CCR e o estadiamento patológico dos linfonodos (pN) é determinante no uso de quimioterapia adjuvante^(3, 4, 9, 23). Vários estudos apontam um número mínimo de LN a analisar para que o estadiamento seja considerado adequado, principalmente na ausência de metástases^(2, 3, 7, 11, 13, 15, 18, 32). Portanto, amostragem e dissecação adequadas de LN são cruciais na análise anatomopatológica e no estadiamento desses tumores, mas freqüentemente ficam aquém do desejável. Isso se deve a questões inerentes ao paciente, a variações anatômicas, à técnica cirúrgica, à ocorrência de tratamento neoadjuvante e à qualidade do exame anatomopatológico^(4, 7, 10, 14, 18, 29, 30). O número de LN pode ser menor em pacientes idosos⁽³⁰⁾ e depender do grau de resposta imunológica⁽¹⁰⁾. Características do tumor, como topografia e grau histológico, relacionam-se com o número de linfonodos comprometidos⁽³⁰⁾. Em estudo anterior observamos variação de até 89% nas médias de LN dissecados segundo a região, com a maior nos tumores do cólon ascendente (28,8 LN/caso) e a menor naqueles da flexura esplênica (14,7 LN/caso)⁽²⁹⁾. Essa variação pode depender não só de questões anatômicas, mas também da extensão do segmento ressecado. A técnica e a experiência do cirurgião são importantes e influenciam a qualidade do espécime^(7, 30). Há registros de que cirurgiões gerais tendem a ressecar segmentos menores e abordar menos agressivamente as cadeias linfáticas que os especialistas⁽¹⁴⁾.

A qualidade da análise do patologista é fundamental, pois é necessário um exame minucioso e demorado na busca de LN, principalmente dos pequenos, que são a maioria. Há evidências que muitas das metástases linfodais encontram-se em linfonodos com menos que 5 mm de diâmetro^(7, 10, 16, 31) e que o estadiamento do CCR seria dependente não somente do número dos LN estudados, mas também de seu tamanho^(10, 31) e sua localização^(29, 30).

Ao que parece, o número de LN é tão ou mais importante do que o pN. Estudos em casuísticas grandes demonstraram que a sobrevida piora com o aumento de LN positivos e que após controlar o número de LN positivos a sobrevida melhora com o aumento do número de LN examinados^(22, 25, 27, 30, 35, 36). Discute-se se há um número mínimo de LN a examinar para que se possa ter segurança no estadiamento do paciente⁽¹¹⁾. Diversos autores têm sugerido números que variam de seis a 18 LN por espécime cirúrgico^(2, 3, 7, 15, 33) e o sistema TNM (T: tumor, N: linfonodo, M: metástase) recomenda a análise de 12 LN, principalmente na ausência de metástases⁽³⁴⁾. Todavia, Goldstein *et al.*⁽¹³⁾ e Maurel *et al.*⁽²⁶⁾ observaram que a probabilidade de estadiar um tumor como TNM estágio III tinha relação direta com o número de LN examinados, atingindo um platô em 17 e 18 LN, respectivamente. Posteriormente, Goldstein⁽¹²⁾ observou que a probabilidade preditiva de se encontrar um LN positivo aumentava com o número de LN examinados, sendo necessária a análise de 38 LN para atingir 95% de probabilidade de obter um dado correto. A análise de 12 LN permitia apenas 25% de probabilidade preditiva de se encontrar um único LN comprometido, caso esse existisse. Joseph *et al.*⁽²³⁾ observaram, através de um modelo matemático, que seria necessária a análise de 29 a 42 LN para uma probabilidade de 85% de acerto no estadiamento de tumores pT4 e pT1, respectivamente.

A dissecação de LN no cólon/reto é realizada tradicionalmente recortando-se o tecido adiposo pericolônico/perirretal em fatias finas, procurando-se os LN inicialmente por visão direta (LN grandes) e por percepção tátil palpando-se o tecido adiposo (para os LN menores). A percepção de LN menores de 4 mm é muito difícil e apesar de ser possível encontrar linfonodos bem pequenos (1 a 2 mm), isso ocorre provavelmente por acaso. Métodos químicos de clareamento de gorduras têm sido propostos para melhorar a dissecação de LN. A maioria concorda que existe um ganho no número de LN dissecados, porém há controvérsias se o tempo e os recursos extras consumidos por esses processos justificam o seu emprego na rotina e mesmo se esse ganho numérico significa algum benefício para os pacientes^(5, 16, 17, 21, 24, 32, 33). Entretanto, os poucos estudos que analisaram comparativamente o número de LN dissecados convencionalmente e com o uso de soluções clareadoras de gorduras (SC) evidenciaram mudanças de estadiamento dos pacientes^(16, 17, 24, 33). O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto do uso de uma SC na detecção de LN e no estadiamento de pacientes com CCR.

Material e método

Material

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (protocolo nº 108/05). Estudaram-se prospectivamente 74 peças cirúrgicas de pacientes operados por CCR no Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, no período de novembro de 2003 a setembro de 2005, não submetidos a tratamento neoadjuvante (rádio ou quimioterapia). Todos os pacientes foram operados pela mesma equipe cirúrgica de acordo com a rotina do serviço.

Os dados como gênero e idade dos pacientes, número de registro, sede do tumor e ocorrência de tratamento neoadjuvante (rádio ou quimioterapia) foram obtidos a partir das requisições de exame. Os dados relativos ao tipo histológico do tumor e o estadiamento patológico foram obtidos do laudo anatomopatológico. Todas as lâminas referentes aos LN dissecados pelo MC foram revistas, e os LN, medidos.

Processamento dos espécimes

Todos os espécimes cirúrgicos seguiram os procedimentos rotineiros de exame no serviço, de acordo com protocolo padronizado⁽²⁸⁾. Os restos do tecido adiposo do mesocolo obtidos após a dissecação dos LN pelo MC, que seriam descartados junto com o espécime cirúrgico, foram submetidos a tratamento com SC, seguindo-se nova dissecação dos LN. A solução era composta por 65% de álcool etílico comercial a 95%, 20% de éter dietílico, 5% de ácido acético glacial e 10% de formol a 10%⁽²⁴⁾. O material foi mergulhado na solução em três banhos de 12 horas cada, usando-se volume suficiente para cobri-lo. Seguiram-se nova dissecação e processamento histopatológico rotineiro dos LN dissecados.

Análise histológica e imuno-histoquímica, estadiamento e morfometria

Após o exame histológico dos novos LN dissecados, os casos foram reestadiados quanto ao pN, de acordo com o número total de LN dissecados (número de LN dissecados pelo MC + número de LN dissecados após o uso da SC). Realizou-se imuno-histoquímica pelo método da estreptavidina-biotina peroxidase⁽¹⁹⁾ em uma amostra composta de sete LN escolhidos aleatoriamente entre os casos que apresentavam metástases após o uso da SC, a fim de veri-

ficar se o uso da SC poderia interferir na imunomarcação. Testou-se o anti-soro mais comumente usado nas pesquisas de micrometástases, anticitoqueratina monoclonal AE1/AE3 (DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) diluído a 1:30 e utilizou-se *kit* comercial Ultravision Large Volume Detection System (Labvision Corporation, Fremont, CA, USA).

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

Análise estatística

Os dados foram compilados em protocolo individual desenvolvido especificamente para o estudo, posteriormente informatizados e analisados em pacote estatístico SPSS, utilizando-se os testes de Wilcoxon, teste do χ^2 , teste-T pareado e teste-T independente para comparar os resultados pré e pós-clareamento. O nível de significância foi estabelecido para $p < 0,05$.

Resultados

Casuística

A casuística foi equilibrada em relação ao gênero, constando de 35 homens (47,3%) e 39 mulheres (52,7%) e não houve diferenças significativas quanto à média de idade (homens $64 \pm 12,7$ anos, mulheres $61 \pm 15,9$ anos; $p = 0,5$). Todos os CCRs eram adenocarcinomas. Predominaram os tumores moderadamente diferenciados ($n = 60$; 81,1%); sete casos (9,5%) eram adenocarcinomas mucinosos. Na maioria dos casos ($n = 51$; 68,9%) os tumores eram pT3, sem diferenças significativas entre os gêneros ($p = 0,1$) (**Figura 1**). Em média os tumores tinham $76,5 \text{ cm}^3$ ($\pm 100,7 \text{ cm}^3$) de volume; $5,1 \text{ cm}$ ($\pm 2,4 \text{ cm}$) de dimensão longitudinal; $4,6 \text{ cm}$ ($\pm 2,1 \text{ cm}$) de dimensão transversal e $2,4 \text{ cm}$ ($\pm 2,3 \text{ cm}$) de profundidade, medidas estas sem variações expressivas entre os gêneros ($p \geq 0,2$).

Análise dos linfonodos

Após os banhos na SC os LN eram facilmente visualizados, mesmo os muito pequenos (até 1 mm), destacando-se

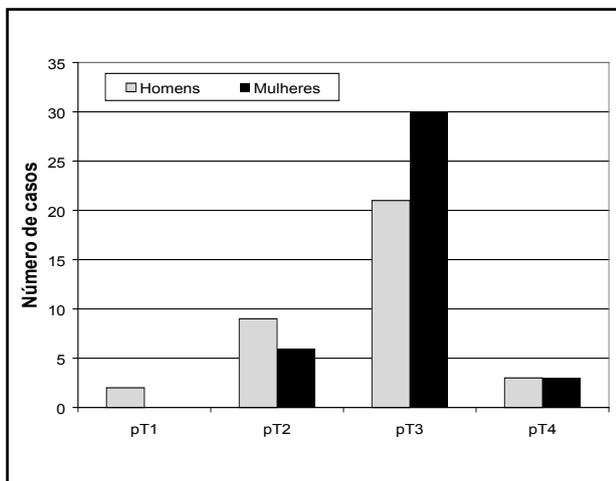


Figura 1 – Distribuição dos casos de carcinoma colorretal quanto ao pT

como pontos ou pequenos nódulos brancos sob o tecido adiposo amarelo-transparente (**Figura 2**). Não observamos alterações cromáticas nas colorações de rotina (HE) ou na imunomarcação no material submetido ao processo de clareamento. A imunomarcação pelo anti-soro anticitoqueratina AE1/AE3 foi fortemente positiva em toda a amostra testada de LN com metástases dissecados após o uso da SC (**Figura 3**).

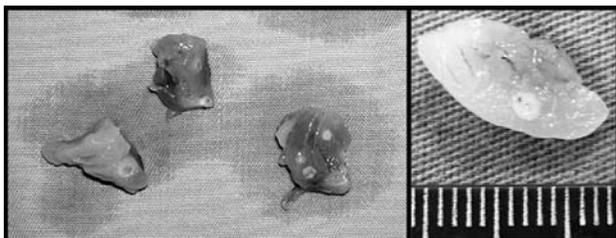


Figura 2 – Linfonodos destacados como pequenos nódulos brancos na gordura pericólica após processo de clareamento



Figura 3 – Imunomarcação de metástases de adenocarcinoma colônico por pancitokeratina (Anti-soro AE1/AE3; aumento original 100x)

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

Considerando os LN obtidos pelo MC, 1.068 (58,8% – 14,4 LN/caso) tinham até 4 mm de diâmetro. Em média, o maior LN dissecado pelo MC tinha 8,87 mm (\pm 4,07 mm; 3 a 23 mm), e o menor, 1,41 mm (\pm 0,76 mm; 0,4 a 5 mm). Considerando os LN dissecados após o tratamento com a SC, 1.261 (93% – 17 LN/caso) mediam até 4 mm de diâmetro. Em média, o maior LN dissecado após o uso da SC tinha 4,55 mm (\pm 1,67 mm; 2,2 a 11 mm), e o menor, 1,05 mm (\pm 0,57 mm; 0,2 a 3,2 mm). Entre os 170 LN comprometidos obtidos pelo MC, 39 (22,9%) mediam até 4 mm e 19 dos 26 LN comprometidos (73%) obtidos após uso da SC mediam até 4 mm ($p = 0$). A média de diâmetro do menor LN com metástases encontrado após o uso da SC foi 3,16 mm (\pm 1,75 mm; 1,4 a 7 mm). Estes resultados estão demonstrados na **Tabela 1**.

Impacto do uso da solução clareadora

Número de linfonodos

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

O número de metástases linfonodais encontradas usando-se a SC foi maior quando havia metástases no MC (pelo menos um LN positivo identificado pelo MC) ($p = 0,007$) (**Tabela 2**). Considerando-se o número total de LN dissecados pelo MC, somente após a dissecação de 40 LN foram identificados 90% dos casos em que havia metástases linfonodais (**Figura 4**).

Estadiamento

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

Tabela 1 Número de linfonodos obtidos pelo método convencional e após o clareamento

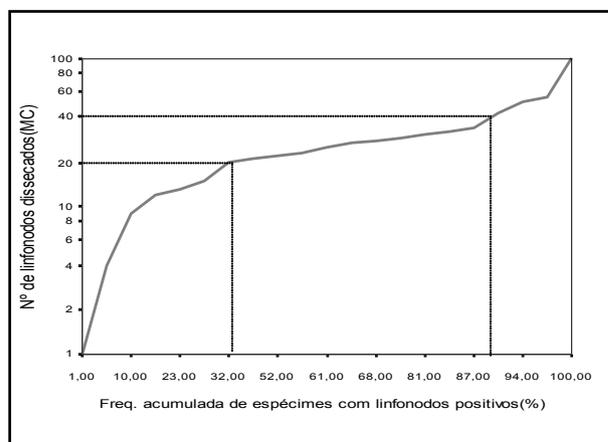
		Número total de linfonodos dissecados				
		Total	Metástases	Livres	< 4 mm	< 4 mm com metástases
MC		1.814	170	1.644	1.068	39
	Média	24,51	2,3	22,21	14,43	1,34
SC		1.355	26	1.329	1.261	19
	Média	18,31	0,35	17,96	17,04	1,26
MC + SC		3.167	196	2.973	2.329	58
	Média	42,8	2,65	40,17	31,47	1,75
Aumento (%)		74,7	15,3	80,86	118	48,71

MC: método convencional; SC: solução clareadora de gorduras.

Correlação entre a detecção de metástases linfonodais pelo método convencional e o número de LN positivos após o uso da SC**Tabela 2**

		Total de LN positivos na SC				Total
		1	2	3	6	
Metástases pelo método convencional (nº de casos)	Não	2	2			4
	Sim	7	2	1	1	11
Total		9	4	1	1	15

LN: linfonodos; SC: solução clareadora.

**Figura 4** – Relação entre o número de linfonodos dissecados pelo método convencional (MC) e a frequência acumulada de casos com metástases**Tabela 3****Mudança de grupos de estadiamento do pN em relação ao ponto de corte (12 linfonodos), após o uso da solução clareadora nos 43 carcinomas colorretais inicialmente estadiados como pN0**

		Após redissecção (solução clareadora)		Total
		< 12 linfonodos	> 12 linfonodos	
Dissecção pelo método convencional	< 12 linfonodos	1 (16,7%)	5 (83,3%)	6 (14%)
	> 12 linfonodos		37 (100%)	37 (86%)
Total		1 (2,3%)	42 (97,7%)	43 (100%)

Como podemos observar na **Tabela 4**, após a redissecção quatro casos (9,3%) inicialmente pN0 foram reestadiados como pN1 e um caso (6,7%) inicialmente pN1 foi reestadiado como pN2. No total, o estadiamento foi alterado em cinco casos (6,8%) ($p = 0,025$) e quatro deles (5,4%) mudaram

de estágio II para estágio III. Analisando-se apenas os 43 casos inicialmente estadiados como pN0, houve progressão significativa para pN1 ($p = 0,046$) após tratamento pela SC. As mudanças de estadiamento ocorreram em casos em que haviam sido dissecados de 12 a 20 LN (**Tabela 5**).

Tabela 4 Mudanças de estadiamento detectadas após o uso da solução clareadora em 74 casos de câncer colorretal

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

Tabela 5 Mudanças de estadiamento em relação ao número inicial de linfonodos dissecados convencionalmente e ao número final de linfonodos após o uso da solução clareadora

		Número final de linfonodos					Total
		16	24	25	36	40	
Número inicial (método convencional)	12	pN0→pN1					1
	13				pN0→pN1		1
	16			pN0→pN1			1
	20		pN1→pN2			pN0→pN1	2
Total		1	1	1	1	1	5

Discussão

É reconhecido que o pT e o pN, juntamente com a angioinvasão e a presença de tumor residual, são fatores com comprovada importância prognóstica, geralmente usados no manejo dos pacientes portadores de CCR⁽⁹⁾. A presença de metástases em LN regionais é, isoladamente, o fator prognóstico mais importante do CCR⁽²³⁾ e o principal determinante no uso de quimioterapia^(3, 4, 9, 23). Idealmente, todos os LN deveriam ser retirados pelo cirurgião e examinados pelo patologista, o que em termos práticos é impossível pelo método convencional baseado na palpção sistemática de cortes finos do tecido adiposo pericólico. Este método é demorado e ineficaz na dissecação de LN pequenos, freqüentemente comprometidos^(1, 10, 16). A ampla variação no número de LN dissecados registrada

na literatura demonstra claramente que esse método é inadequado e se recomendam novos métodos de dissecação de LN, com destaque para os métodos químicos^(4, 17, 24, 32, 33). Segundo alguns autores, a avaliação quantitativa correta do envolvimento metastático de LN somente seria possível usando-se técnicas de clareamento de gorduras⁽³²⁾.

Testamos a SC descrita por Koren *et al.*⁽²⁴⁾ com pequenas modificações no tempo dos banhos e na quantidade de solução usada, visando adequação à rotina do nosso serviço. Eliminamos o viés da técnica cirúrgica, do cirurgião e do patologista, porque todos os casos foram operados pela mesma equipe de cirurgiões especialistas, a dissecação convencional foi feita pela mesma equipe de residentes de patologia sob supervisão da mesma especialista (AMN) e a redissecação foi feita pelo mesmo patologista (RX). A SC não contém produtos tóxicos como xilol, empregados nas SC usadas por outros au-

tores^(5, 17, 32, 33). É pouco dispendiosa e de fácil utilização, pois não necessita de nenhum dispositivo específico, sendo composta de insumos presentes ou facilmente adquiríveis em um laboratório de patologia. Apesar de representar um custo adicional de R\$ 1 a R\$ 2 por espécime, esse valor é compensado com lucro pelo aumento de eficiência e qualidade na dissecação e pela grande economia de tempo do examinador. Seu uso não interferiu na qualidade das colorações de rotina, confirmando o observado por Koren *et al.*⁽²⁴⁾, nem no estudo imuno-histoquímico para citoqueratina.

No nosso serviço a média de LN dissecados pelo MC é alta (21 LN/caso)⁽²⁹⁾ e neste estudo foi 24,5 LN/caso, o que é o dobro do mínimo recomendado pelo sistema TNM⁽³⁴⁾ e está acima do descrito na literatura, com variações de 3,1 a 21 LN/caso (**Tabela 6**). Além disso, foi uma dissecação minuciosa com boa qualidade dentro das limitações do método, uma vez que 59% dos LN tinham menos de 4 mm, valor comparável aos obtidos por outros (49%-70%)^(10, 17, 32). Os poucos LN maiores que 4 mm recuperados posteriormente com o uso da SC, eram afilados e estavam justapostos a vasos sanguíneos, o que provavelmente ocasionou sua perda durante a dissecação convencional. O uso da SC implicou num ganho de 74% na eficiência da dissecação com uma média final de 42,8 LN/caso. Em números absolutos esse ganho é alto, comparável aos valores mais altos obtidos por outros autores utilizando métodos auxiliares de dissecação^(16, 17, 32). Hida *et al.*⁽¹⁷⁾ dissecaram 76 LN/caso, e Herreras-Ornelas *et al.*⁽¹⁶⁾, 52 LN/caso, porém esses autores usaram métodos muito complicados, dispendiosos e demorados (em torno de

duas semanas), talvez apenas admissíveis em protocolos de pesquisa.

É notório que o ganho no número de LN promovido pelo uso da SC foi devido ao aumento na capacidade de se encontrarem LN pequenos, que eram a maioria. Como observado por outros autores, que empregaram variadas técnicas de clareamento, a dissecação facilitada pelo uso da visão permite dissecar LN tão pequenos como 1 mm, eliminando a perda de LN pequenos^(16, 17, 32, 33). Hida *et al.*⁽¹⁷⁾ e Schimitz-Moorman *et al.*⁽³²⁾ relataram que 77% e 73,4% dos LN dissecados após o clareamento tinham até 4 mm de diâmetro contra 49% dos LN obtidos pelo MC. Nossos dados mostraram predominância de LN de até 4 mm de diâmetro, o que representou um ganho de 118% em relação ao MC. Observamos que em 20% dos casos com metástases o maior LN media até 4 mm. Esse índice é ligeiramente inferior ao observado por Cserni (33%), que contudo considerou como ponto de corte LN menores que 5 mm⁽¹⁰⁾. Dezenove dos 26 LN comprometidos obtidos após o uso da SC e os LN comprometidos nos quatro casos que mudaram o estadiamento de pN0 para pN1 mediam até 4 mm. Esses dados reforçam a importância da dissecação dos LN pequenos enfatizada em outros estudos^(10, 16).

O aumento no número de LN dissecados refletiu-se no aumento de 15,3% de LN comprometidos. Esse percentual é significativo e semelhante aos 17% relatados por Cohen *et al.*⁽⁵⁾, porém muito menor do que o observado por Scott e Grace⁽³³⁾, que encontraram metástases adicionais em 73,5%, e Schimitz-Moorman *et al.*⁽³²⁾, que relataram 89,3% de metástases nos LN dissecados por método auxiliar. A diferença se deve, no entanto, à baixa eficiência da

Tabela 6

Dissecação média de linfonodos (LN) pelo método convencional em casos de carcinoma colorretal, registrada na literatura e em nossa casuística

Séries	LN/caso (método convencional)
Presente série	24,5
Pereira Jr. <i>et al.</i> ⁽²⁹⁾	21
Cohen <i>et al.</i> ⁽⁵⁾	21
Joseph <i>et al.</i> ⁽²³⁾	18,5
Goldstein ⁽¹²⁾	18,4
Hida <i>et al.</i> ⁽¹⁷⁾	18,1
Cserni ⁽¹⁰⁾	12,4
Scott e Grace ⁽³³⁾	6,1
Schimitz-Moorman <i>et al.</i> ⁽³²⁾	3,1

dissecção convencional demonstrada pelos autores (seis e três LN/caso, respectivamente) (Tabela 6). Nossos dados corroboram os de outros estudos, que demonstraram que quanto mais LN eram examinados, mais metástases eram identificadas⁽¹³⁾. Le Voyer *et al.*⁽²⁵⁾ observaram que a análise de mais LN, comprometidos ou não, estava associada a maior sobrevida dos pacientes. Segundo alguns autores, a dissecção de muitos LN diminuiria a massa residual da neoplasia, podendo aumentar a eficácia de quimioterapia adjuvante, com conseqüente aumento da sobrevida desses pacientes^(15, 23). A comprovação dos benefícios diretos da dissecção de LN em nossos pacientes só poderá ser feita futuramente com análise de sobrevida.

O uso da SC permitiu a detecção de mais metástases em 15 casos, dos quais cinco mudaram o estadiamento: quatro de pN0 para pN1 e um de pN1 para pN2. Portanto, quatro dos 43 casos inicialmente estadiados como pN0 (9,3%) eram casos pN1 subestadiados. Além disso, foi possível estadiar cinco dos seis casos (83,3%) que inicialmente não haviam atingido o mínimo de 12 LN dissecados sugerido pelo sistema TNM. Não há consenso quanto ao número ideal de LN a dissecar, principalmente em casos pN0, para que se possa considerar o paciente com CCR adequadamente estadiado. Existem sugestões de valores entre sete e 18 linfonodos^(13, 15, 38), e o sistema TNM⁽³⁴⁾ sugere 12 LN. No entanto, em nosso estudo todos os casos que mudaram de estadiamento após o uso da SC tinham 12-20 LN dissecados pelo MC (Tabela 5). Além disso, apenas após a análise de 40 LN identificamos 90% dos casos com LN comprometidos (Figura 4). Esses resultados se correlacionam com os de Joseph *et al.*⁽²³⁾, que com o uso de um modelo matemático sugeriram valores em torno de 40 LN para CCR pT1-pT3 e em torno de 30 para pT4. Le Voyer *et al.*⁽²⁵⁾ demonstraram que, mesmo para os grupos de pacientes pN1 e pN2 a sobrevida geral em cinco anos foi melhor (90% e 71%)

nos pacientes em que haviam sido examinados mais de 40 LN e mais de 35 LN, respectivamente, havendo ainda uma melhora contínua com a evolução até 10 anos. Com base nesses resultados, concordamos com Goldstein⁽¹³⁾, quando este afirma que não existe um número mínimo a ser alcançado para se obter um estadiamento correto ou acurado de todos os pacientes, e com a equação de Bilchik⁽¹⁾: *More (nodes) + more (analysis) = less (mortality)*.

Conclusão

Nossos dados demonstram que o exame de muitos LN e principalmente de LN pequenos aumenta a probabilidade de se encontrarem metástases e o grau de confiança do estadiamento dos pacientes com CCR. O mínimo de 12 LN dissecados sugerido pelo sistema TNM não garante o estadiamento adequado em casos de pN0. Uma solução de clareamento de gorduras simples de usar e pouco dispendiosa pode ser de grande ajuda nesse propósito.

Agradecimentos

Agradecemos ao Prof. Dr. Konradin Metzke, coordenador do Laboratório de Anatomia Patológica Experimental no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), pela contribuição nas análises estatísticas e na discussão dos resultados, e aos colegas patologistas que realizaram a análise anatomopatológica convencional: Cynthia Koeppel Berenstein, Daniel Ribeiro Moreira, Frederico Henrique Corrêa de Melo, Luciana de Paula Lima Gazzola, Marcelo Antônio Pascoal Xavier e Mário Félix Richard de Lima.

Referências

1. BILCHIK, A. More (nodes) + more (analysis) = less (mortality): challenging the therapeutic equation for early-stage colon cancer. *Ann Surg Oncol*, v. 10, n. 3, p. 203-5, 2003.
2. CAPLIN, S. *et al.* For patients with Duke's B (TNM stage II) colorectal carcinoma, examination of six or fewer lymph nodes is related to poor prognosis. *Cancer*, v. 83, p. 666-72, 1998.
3. CIANCHI, F. *et al.* Lymph node recovery from colorectal tumor specimens: recommendation for a minimum number of lymph nodes to be examined. *World J Surg*, v. 26, n. 3, p. 384-9, 2002.
4. COHEN, A. M. *et al.* Adjuvant therapy for colorectal cancer. *Curr Probl Cancer*, v. 22, n. 1, p. 11-77, 1998.
5. COHEN, S. M. *et al.* Effect of xylene clearance of mesenteric fat on harvest of lymph nodes after colonic resection. *Eur J Surg*, v. 160, n. 12, p. 693-7, 1994.
6. COMPTON, C. C. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol*, v. 16, n. 4, p. 376-88, 2003.
7. COMPTON, C. C. Pathologic staging of colorectal cancer: an advanced users' guide. *Pathology Case Reviews*, v. 9, p. 150-62, 2004.

8. COMPTON, C. C. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the colon and rectum, excluding carcinoid tumors, lymphomas, sarcomas, and tumors of the vermiform appendix: a basis for checklists. Cancer Committee. *Arch Pathol Lab Med*, v. 124, n. 7, p. 1016-25, 2000.
9. COMPTON, C. C. et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, v. 124, n. 7, p. 979-94, 2000.
10. CSERNI, G. The influence of nodal size on the staging of colorectal carcinomas. *J Clin Pathol*, v. 55, n. 5, p. 386-90, 2002.
11. CSERNI, G. et al. Is there a minimum number of lymph nodes that should be histologically assessed for a reliable nodal staging of T3N0M0 colorectal carcinomas? *J Surg Oncol*, v. 81, n. 2, p. 63-9, 2002.
12. GOLDSTEIN, N. S. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol*, v. 26, n. 2, p. 179-89, 2002.
13. GOLDSTEIN, N. S. et al. Lymph node recovery from colorectal resection specimens removed for adenocarcinoma. Trends over time and a recommendation for a minimum number of lymph nodes to be recovered. *Am J Clin Pathol*, v. 106, n. 2, p. 209-16, 1996.
14. HERMANEK, P. Impact of surgeon's technique on outcome after treatment of rectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*, v. 42, n. 5, p. 559-62, 1999.
15. HERNANZ, F. et al. Colorectal adenocarcinoma: quality of the assessment of lymph node metastases. *Dis Colon Rectum*, v. 37, n. 4, p. 373-7, 1994.
16. HERRERA-ORNELAS, L. et al. Metastases in small lymph nodes from colon cancer. *Arch Surg*, v. 122, n. 11, p. 1253-6, 1987.
17. HIDA, J. et al. Metastases from carcinoma of the colon and rectum detected in small lymph nodes by the clearing method. *J Am Coll Surg*, v. 178, n. 3, p. 223-8, 1994.
18. HORZIC, M.; KOPLJAR, M. Minimal number of lymph nodes that need to be examined for adequate staging of colorectal cancer: factors influencing lymph node harvest. *Hepatogastroenterology*, v. 52, n. 61, p. 86-9, 2005.
19. HSU, S. M. et al. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*, v. 29, n. 4, p. 577-80, 1981.
20. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. *São Paulo: Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 2008*. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/>.
21. JASS, J. R. et al. Fat clearance method versus manual dissection of lymph nodes in specimens of rectal cancer. *Int J Colorectal Dis*, v. 1, n. 3, p. 155-6, 1986.
22. JOHNSON, P. M. et al. Increasing negative lymph node count is independently associated with improved long-term survival in stage IIIB and IIIC colon cancer. *J Clin Oncol*, v. 24, n. 22, p. 3570-5, 2006.
23. JOSEPH, N. E. et al. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. *Ann Surg Oncol*, v. 10, n. 3, p. 213-8, 2003.
24. KOREN, R. et al. Lymph node-revealing solution: simple new method for detecting minute lymph nodes in colon carcinoma. *Dis Colon Rectum*, v. 40, n. 4, p. 407-10, 1997.
25. Le VOYER, T. E. et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol*, v. 21, n. 15, p. 2912-9, 2003.
26. MAUREL, J. et al. Lymph node harvest reporting in patients with carcinoma of the large bowel: a French population-based study. *Cancer*, v. 82, p. 1482-6, 1998.
27. MERRIE, A. E. et al. Prognostic significance of occult metastases in colon cancer. *Dis Colon Rectum*, v. 46, n. 2, p. 221-31, 2003.
28. PEREIRA Jr., T. et al. Câncer colorretal: análise anatomopatológica de 476 coletomias consecutivas em Belo Horizonte (MG). *J Bras Patol Med Lab*, v. 41, n. 3, p. 175-84, 2005.
29. PEREIRA Jr, T. et al. Lymph node evaluation in colorectal cancer. *Arq Gastroenterol*, v. 43, n. 2, p. 89-93, 2006.
30. PRANDI, M. et al. Prognostic evaluation of stage B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy: results of a secondary analysis of a large scale adjuvant trial. *Ann Surg*, v. 235, n. 4, p. 458-63, 2002.
31. RODRIGUEZ-BIGAS, M. A. et al. Clinical significance of colorectal cancer: metastases in lymph nodes < 5 mm in size. *Ann Surg Oncol*, v. 3, n. 2, p. 124-30, 1996.
32. SCHMITZ-MOORMANN, P. et al. Patho-anatomical demonstration of lymph node metastases in a surgical specimen. *Pathol Res Pract*, v. 174, n. 4, p. 403-11, 1982.
33. SCOTT, K. W.; GRACE, R. H. Detection of lymph node metastases in colorectal carcinoma before and after fat clearance. *Br J Surg*, v. 76, n. 11, p. 1165-7, 1989.
34. SOBIN, L. H., WITTEKIND, C.H. Colon and rectum. In: UICC (Ed.). TNM classification of malignant tumors. 6th ed. New York: Willy-Liss, 2002. p. 72-6.
35. SWANSON, R. S. et al. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*, v. 10, n. 1, p. 65-71, 2003.
36. TEPPER, J. E. et al. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol*, v. 19, n. 1, p. 157-63, 2001.
37. WHO. International Agency for Research on Cancer. *Globocan 2002*. Disponível em: <http://www-dep.iarc.fr>.
38. WONG, J. H. et al. Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*, v. 17, n. 9, p. 2896-900, 1999.

Endereço para correspondência

Rair Geraldo Richard Xavier
 Rua Benedito Valadares, 350 – Centro
 CEP 35660-000 – Pará de Minas-MG
 e-mail: rair@citomed.com.br