

Estado da publicação: Não informado pelo autor submissor

# ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DOS MARCADORES ALCAM E ALDH1 EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL E ASSOCIAÇÃO COM DESFECHOS CLINICOPATOLÓGICOS

Cecilia Neves de Vasconcelos, Carmen Australia Paredes Marcondes Ribas, Rodrigo Ketzer Krebs, Ana Maria Waaga-Gasser, Martin Gasser, Nicolau Gregori Czezko, Osvaldo Malafaia

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.4208>

Submetido em: 2022-05-31

Postado em: 2022-06-01 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

## **ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DOS MARCADORES ALCAM E ALDH1 EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL E ASSOCIAÇÃO COM DESFECHOS CLINICOPATOLÓGICOS**

### *IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF ALCAM AND ALDH1 MARKERS IN PATIENTS WITH COLORRECTAL ADENOCARCINOMA AND ASSOCIATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL OUTCOMES*

Cecilia Neves de **VASCONCELOS**<sup>1,3</sup>, Carmen Austrália Paredes Marcondes **RIBAS**<sup>1,2</sup>, Rodrigo K. **KREBS**<sup>1</sup>, Ana Maria Waaga **GASSER**<sup>2</sup>, Martin **GASSER**<sup>1</sup>, Nicolau Gregori **CZECZKO**<sup>1</sup>, Osvaldo **MALAFAIA**<sup>1,3</sup>

Trabalho realizado na <sup>1</sup>Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>2</sup>Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Molecular Oncology and Immunology and Renal Division, Boston, MA, USA; <sup>3</sup>Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil.

#### **ORCID**

Cecilia Neves de Vasconcelos - 0000-0002-5108-3163

Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas - 0000-0002-6195-046X

Rodrigo Ketzer Krebs - 0000-0003-3043-219X

Ana Maria Waaga-Gasser - 0000-0001-5437-716X

Martin Gasser - 0000-0002-0797-169X

Nicolau Gregori Czeckzo - 0000-0002-5926-150X

Osvaldo Malafaia - 0000-0002-1829-7071

#### **Correspondência:**

Cecilia Neves de Vasconcelos

Email: [cvasconcelos.krebs@gmail.com](mailto:cvasconcelos.krebs@gmail.com)

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Nenhum

#### **Contribuição dos autores**

Conceituação: Ana Maria Waaga-Gasser

Análise formal: Cecilia Neves de Vasconcelos

Metodologia: Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas

Administração do projeto: Rodrigo Ketzer Krebs

Supervisão: Martin Gasser

Redação (esboço original): Nicolau Gregori Czeckzo

Redação (revisão e edição): Osvaldo Malafaia

#### **Mensagem Central**

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

## Perspectiva

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

**RESUMO – Racional:** O câncer colorretal apresenta alta mortalidade global e marcadores tumorais têm surgido como sinalizadores de diagnóstico, manejo e prognóstico. Novos marcadores estão sendo estudados. **Objetivo:** Verificar se há correlação da expressão por imunistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 em tecido com adenocarcinoma colorretal com as características epidemiológicas e clinicopatológicas, em particular o seu impacto na progressão de doença e no óbito. **Método:** Estudo observacional, unicêntrico, analítico, retrospectivo, através da investigação de pacientes submetidos à ressecção cirúrgica por câncer colorretal. Foram avaliados 122 pacientes. Em relação a progressão, mostrou-se que nos indivíduos com ALCAM positiva (n=40), 14/40 (35%) tiveram progressão, e para ALDH positiva (n=54), 22/54 (40,7%). Para óbito, a análise da ALCAM positiva (n=40), 24/40 (60%) morreram, e ALDH1 positivo (n=54), 33/54 (61,1%). **Conclusão:** A expressão imunistoquímica dos marcadores ALCAM e ALDH1 não apresentou associação com a progressão de doença e óbito; também não foi possível observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

**DESCRITORES** - Câncer colorretal. ALCAM. ALDH1.

**ABSTRACT - Background:** Colorectal cancer has a high global mortality and tumor markers have emerged as diagnostic, management and prognostic indicators. New markers are being studied. **Objective:** To verify if there is a correlation between the immunohistochemical expression of ALCAM and ALDH1 proteins in colorectal adenocarcinoma tissue with epidemiological and clinicopathological characteristics, in particular their impact on disease progression and death. **Method:** Observational, single-center, analytical, retrospective study, through the investigation of patients undergoing surgical resection for colorectal cancer. 122 patients were evaluated. Regarding progression, it was shown that in individuals with positive ALCAM (n=40), 14/40 (35%) had progression, and for positive ALDH (n=54), 22/54 (40.7%). For death, the analysis of ALCAM positive (n=40), 24/40 (60%) died, and ALDH1 positive (n=54), 33/54 (61.1%). **Conclusion:** The immunohistochemical expression of ALCAM and ALDH1 markers was not associated with disease progression and death; it was also not possible to observe a correspondence relationship with the evaluated markers.

**KEYWORDS** - Colorectal cancer. ALCAM. ALDH1

## INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é a terceira causa mais comum de morte por câncer no mundo (mortalidade 8.9%) (GLOBOCAN, 2020). Os pilares de seu tratamento constituem-se de procedimento cirúrgico, quimioterapia e radioterapia (ASMIS; SALTZ, 2008; HUNDT; HAUG; BRENNER, 2007). Embora procedimento cirúrgico

possa ser potencialmente curativo, menos de 25% dos casos são operáveis com taxas de recorrência de até 70%. Tumores inoperáveis, recidivas ou tumores metastáticos são tratados por quimioterapia paliativa, em geral. (NEO et al, 2010) Apesar destes, o prognóstico de tumores metastáticos permanece reservado (JEMAL et al., 2009; RATTO et al., 1998; ZHAO et al., 2015).

Determinar a fase de progresso (estadio), a extensão e a gravidade de um tumor no momento do diagnóstico é essencial para que se estabeleça a estratégia do tratamento e para estimar a evolução da doença. As classificações utilizadas para definir seu estágio são: grau de diferenciação celular, estadios clínico e patológico (TNM, Astler-Coller, Dukes), acometimento de linfonodos e presença de metástase à distância. (WEICHERT et al., 2004)

O câncer colorretal restrito à parede do intestino (estágios I e II) é potencialmente curável devido à detecção e tratamento precoces (MARKOWITZ, 2015). Apresenta sobrevida em 5 anos entre 70-90%; no entanto, a maioria dos países não possui programa de rastreamento que permita sua detecção precoce (SIEGEL, 2017). Em contraste, a sobrevida média de 5 anos em estágio regional (estádio III) e distante (metastático; estágio IV) é de aproximadamente 50-70% e 10-14%, respectivamente (GHONCHEN, 2016; MARKOWITZ, 2015; SIEGEL, 2017). Estas taxas são atribuídas principalmente ao rompimento da parede intestinal pelo tumor e sua disseminação linfática para órgãos à distância através da corrente sanguínea. A incidência de CCR aumenta após os 50 anos de idade, com 90% dos casos estando dentro desta faixa etária (HAGGAR, 2009; SIEGEL, 2017).

Serão investigados dois marcadores específicos, ALCAM e ALDH1 para verificar se existe expressão aumentada deles nos tecidos com adenocarcinoma de cólon, quando comparados ao tecido sadio

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

## MÉTODOS

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

Foram estudados pacientes do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil, que foram submetidos à ressecção cirúrgica por câncer colorretal e com prontuários acessíveis para consulta. Da mesma forma, era necessário haver disponibilidade dos blocos de parafina que confirmassem o diagnóstico adenocarcinoma colorretal e também serem submetidos à novas divisões. Foram excluídos pacientes menores de 18 anos, com diagnóstico de câncer colorretal não adenocarcinoma, impedimentos acerca das informações clinicoepidemiológicas e também inviabilidade de se obter os referidos blocos de parafina (por dano pelo tempo ou pouca amostragem).

A amostra inicial foi de 219 pacientes. Deste total, 29 não dispunham do bloco

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

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

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

Como variáveis, considerou-se a idade do diagnóstico, tabulou-se a faixa etária por décadas e, com o objetivo de aperfeiçoar a comparação, agruparam-se as seguintes décadas: menores de 50 anos, entre 50-65 e acima dos 65 anos. Quanto ao gênero, classificou-se em masculino e feminino, conforme informado em seu prontuário. A topografia estava de acordo com informações do prontuário ou laudo da anatomia patológica em cólon ascendente, transverso, descendente, sigmoide e reto. Em casos de informação incerta precisa, classificou-se como indeterminado. Optou-se por agrupar os pacientes de tumores de cólon ascendente e transverso. Desta forma obteve-se 4 grupos: cólon ascendente/ transverso, cólon descendente, sigmoide e reto.

Em casos de metástase no momento do diagnóstico, foi fixada sua localização: hepática, pulmonar, peritoneal ou outros locais (diferentes locais de metástase que não os já contemplados).

Classificaram-se os pacientes em estadio clínico 0 à IV, de acordo com classificação da American Joint Commission Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC), Cancer Staging Manual 6<sup>a</sup> edição, de 2002.

Documentou-se a progressão de doença a partir da evidência de recidiva local ou metástase à distância. Recidiva local referia-se aos pacientes que já possuíam critérios de cura e apresentaram doença no local da ressecção da doença primária em

seu seguimento. Metástases referia-se à evidência de da neoplasia em outros sítios, como sítio cirúrgico (linfonodos, peritônio, órgãos contíguos) ou à distância (fígado, pulmão, peritônio ou outros locais) e foram avaliadas para sua inserção como progressão de doença local ou à distância. Calculou-se o tempo livre da doença em meses, levando em conta o período em que o paciente permaneceu sem sinais e sintomas da doença.

O tempo de sobrevida foi determinado em meses e definido como do momento do diagnóstico do adenocarcinoma colorretal até o momento em que o paciente evoluiu a óbito.

O tempo de seguimento foi determinado em meses e definido como do momento diagnóstico do adenocarcinoma colorretal até a data do último contato, por consulta médica ambulatorial ou contato telefônico.

O estadiamento patológico foi realizado através do laudo de anatomia patológica, que subsidiou o estadiamento patológico (pTNM) pós-operatório das lesões colorretais de adenocarcinoma utilizadas na pesquisa. Manteve-se como base a 6ª edição do AJCC, conforme utilizado à época no hospital.

Com relação aos dados do status pós-ressecção cirúrgica, utilizou-se o laudo da anatomia patológica para a sua definição, observando-se informações quanto à ressecabilidade e margens envolvidas.

Para a informação do grau de diferenciação tumoral histopatológico utilizou-se o laudo da anatomia patológica após ressecção cirúrgica, também de acordo com a mesma edição do AJCC.

### **Análise dos biomarcadores tumorais**

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

Seguiram-se os seguintes passos, na montagem dos blocos mustiamostrais: 1) seleção das áreas que continham maior representação da neoplasia nas lâminas coradas em H&E, e sinalizadas com caneta de retroprojeter; 2) marcação desta sinalização no respectivo bloco de parafina, intitulado como bloco doador; 3) criou-se planilha Excel com os casos, semelhante a um mapa cartesiano com 10 colunas e 6 linhas, sendo que a primeira célula ficava em branco pois servia de marcação para o início da leitura das lâminas e nas demais células foram anotados os números de registros dos casos; 4) bloco multiamostrado confeccionado a partir de um molde de parafina contendo 60 orifícios com diâmetros de 2 mm cujo objetivo era seguir a ordem relacionada na planilha de Excel® criada; 5) extração da área marcada do bloco doador com o equipamento de TMA; 6) alocação nos orifícios correspondentes no molde de parafina, obedecendo a ordem criada na planilha Excel®; 7) na determinação do ponto inicial da leitura da lâmina a primeira célula, correspondente ao primeiro orifício deste molde, era destinado a um tecido não relacionado ao estudo, neste caso um fragmento de placenta; 8) molde emblocado em parafina; 9) microtomia de 5 µm com material obtido colocado em lâminas Superfrost Plus (hidrofílica) para se iniciar a imunomarcagem imunistoquímica.

A técnica de imunistoquímica foi realizada no instrumento Ventana Bench Mark Ultra TM com processamento 3 em 1 integrado. Nesse, as lâminas de TMA foram preparadas com desparafinização, re-hidratação, recuperação antigênica com tampões Cell Conditioning 1 (pH alto) e Cell Conditioning 2 (pH baixo). Os anticorpos

primários, (Tabela 1), foram incubados por 16-20 min em temperatura ambiente.

**TABELA 1** - Descrição dos anticorpos primários com seus respectivos fabricantes

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

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

#### **Análise estatística**

Os dados foram analisados pelo programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA. Os resultados de variáveis quantitativas foram descritos por médias, desvios-padrão, medianas, e valores mínimos e máximos. Variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais. Para a análise de fatores associado ao tempo até a progressão da doença (PEVENT) foram ajustados modelos de Fine e Gray considerando-se o óbito como risco competitivo. Após o ajuste, a medida de associação estimada foi a subdistribution hazard ratio (SHR). Para a análise de sobrevida foram ajustados modelos de regressão de Cox e estimados os valores de hazard ratio. Para ambos os modelos o teste de Wald foi usado para avaliar a significância das variáveis. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA.

## **RESULTADOS**

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

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

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

metástase para mais de um local.

De acordo com a UICC 6ª edição, do total, 1 (0,8%) era estadios 0, 14 (11,5%) do I, 33 (27%) do II, 39 (32%) do III e 35 (28,7%). Os casos com comprometimento local (estadios 0/I/II) representaram 39,3% (48 casos), enquanto os com envolvimento linfonodal e metastático (III/IV) de 60,7% (74 casos).

Do total de casos, 43 (35,2%) apresentaram recidiva ou progressão da neoplasia, enquanto 79 (64,8%) não, sendo que 14 tinham progressão da doença em mais de um órgão. O local mais comum da progressão foi para o fígado, com 16 casos (13,1%), seguido pelo peritônio, com 13 casos (10,7%) e pulmão com 12 (9,8%). Outros locais totalizaram 20 (16,4%). Houve aumento de pacientes com progressão da doença ao longo do tempo.

O tempo mediano de sobrevida estimado pelo método de Kaplan-Meier foi de 30 meses no grupo estudado, com variação de 0-85,7 meses. Do total de 122 pacientes, 68 (55,7%) morreram. Nos demais, houve mediana de seguimento de 35,9 meses (Tabela 16). A mediana do tempo de sobrevida dos pacientes que evoluíram ao óbito foi de 15,6 meses.

**TABELA 1 - Tempo de seguimento durante o período estudado**

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

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

**TABELA 2 - Distribuição dos pacientes conforme TNM**

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

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

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

### Imunomarcção com ALCAM e ALDH1

Após revisão histopatológica, confecção de TMA e reação de imunoistoquímica de ALCAM e ALDH1, avaliou-se sua expressão em tecido com carcinoma colorretal.

A positividade de ALCAM foi de 32,8% (n=40), enquanto ALDH1 foi de 44,3% (n=54, Tabela 3). Não foi observado significância estatística na presença ou ausência dos marcadores ALCAM e ALDH1 em relação à idade, ao diagnóstico dos pacientes, ao gênero, ao grau de diferenciação, ao estadiamento clínico ou metástases em qualquer sítio.

**TABELA 3 - Imunomarcção com ALCAM e ALDH1**

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

### Avaliação de fatores associados à progressão de doença

A análise não mostrou significância estatística para presença ou ausência de marcação do ALCAM e ALDH1. Também não se encontrou diferença estatística ao relacionar tempo de progressão da doença com idade ao diagnóstico, gênero, grau de diferenciação, topografia primária do tumor, estadiamento clínico ao diagnóstico, presença ou não de metástases e margem de ressecção cirúrgica comprometida (ressecção R1 e R2, Tabela 4).

**TABELA 4 - Análise univariada para o evento progressão da doença**

Variável	Classif	n	%	p*	SHR	IC 95%
Idade no dx	< 50	22	10 (45,5)			
	50 a 65	45	17 (37,8)	0,300	0,67	0,31 – 1,43
	> 65	55	16 (29,1)	0,124	0,54	0,25 – 1,18
Gênero	Fem	59	16 (27,1)			
	Masc	63	27 (42,9)	0,127	1,63	0,87 – 3,04
Grau de diferenciação*	Bem diferenc	8	3 (37,5)			
	Moderado	101	39 (38,6)	0,738	1,19	0,42 – 3,38
	Pouco diferenc	10	1 (10,0)	0,360	0,34	0,04 – 3,36
Topografia do tumor primário**	Cólon direito/transverso	42	12 (28,6)			
	Cólon esquerdo	17	5 (29,4)	0,681	1,27	0,41 – 3,89
	Retossigmóide	31	12 (38,7)	0,495	1,31	0,60 – 2,88
	Reto	27	12 (44,4)	0,332	1,47	0,68 – 3,19
Metástase pulmonar	Não	117	39 (33,3)			
	Sim	5	4 (80,0)	0,019	4,33	1,27 – 14,7
Metástase hepática	Não	98	34 (34,7)			
	Sim	24	9 (37,5)	0,557	1,26	0,58 – 2,72
Metástase peritoneal	Não	113	40 (35,4)			
	Sim	9	3 (33,3)	0,806	0,86	0,27 – 2,80
Metástase para outros sítios	Não	112	41 (36,6)			
	Sim	10	2 (20,0)	0,531	0,64	0,16 – 2,59
Presença de metástase	Não	87	30 (34,5)			
	Sim	35	13 (37,1)	0,360	1,37	0,70 – 2,69
UICC	0/I	15	5 (33,3)			
	II	33	10 (30,3)	0,572	0,75	0,28 – 2,00
	III	39	16 (41,0)	0,394	1,50	0,59 – 3,85
	IV	35	12 (34,3)	0,662	1,25	0,46 – 3,44
UICC agrupado	0/I/II	48	15 (31,2)			

	III/IV	74	28 (37,8)	0,085	1,68	0,93 – 3,05
Status de ressecção cirúrgica	R0	85	31 (36,5)			
	R1	23	8 (34,8)	0,739	1,14	0,53 – 2,48
	R2	10	3 (30,0)	0,944	0,95	0,26 – 3,55
Tratamento	Operação	105	30 (28,6)			
	Outros	17	13 (76,5)	<0,001	3,30	1,88 – 5,79
ALCAM	Negativo	54	20 (37,0)			
	Positivo	40	14 (35,0)	0,607	0,84	0,43 – 1,65
	Inconclusivo	28	9 (32,1)	0,938	0,97	0,44 – 2,12
ALDH1	Negativo	41	10 (24,4)			
	Positivo	54	22 (40,7)	0,182	1,64	0,79 – 3,40
	Inconclusive	27	11 (40,7)	0,060	2,30	0,97 – 5,50

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

Entretanto, ao relacionar tempo de progressão da doença com o tratamento instituído, observou-se que pacientes submetidos ao tratamento não cirúrgico (SHR 3,30; 1,88 – 5,79) apresentaram menor sobrevida ( $p<0,001$ ). Também se observou pior prognóstico quando existia doença metastática para pulmão (SHR 4,33; 1,27 – 14,7) ( $p<0,05$ ). A avaliação da progressão de doença conforme imunomarcagem não mostrou relevância estatística. A análise univariada mostrou nos indivíduos com ALCAM positiva ( $n=40$ ), 14/40 (35%) tiveram progressão,  $p=0,607$ , SHR 0,84 (IC: 0,43-1,65) e para ALDH1 positiva ( $n=54$ ), 22/54 (40,7%) tiveram progressão,  $p=0,182$ , SHR 1,64 (IC: 0,79-3,40). A avaliação da progressão de doença conforme o estadió UICC agrupado não mostrou relevância estatística.

#### **Avaliação de fatores associados a óbito**

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

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

**TABELA 5 - Avaliação de fatores associados ao óbito**

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

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

### Avaliação de fatores associados ao tempo de seguimento e sobrevida

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

**TABELA 6 - Tempo de seguimento**

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

IV	35	19,4	15,6	0,03	85,7	20,0
----	----	------	------	------	------	------

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

**TABELA 7 - Tempo de sobrevida global e classificação conforme estadiamento clínico**

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

### Avaliação de fatores associados aos biomarcadores

Em nossa amostra, ALCAM marcou positivo em 16 casos em doença local (estadio 0, I, II), sendo que destes, 5 (31,2%) evoluíram ao óbito. Nos casos de presença de metástase linfonodal ou à distância (estadio III e IV), observaram-se 24 casos com ALCAM positivo, e 19 (79,2%) deles morreram. Apesar de valores relevantes, estes dados não obtiveram significância estatística (Tabela 81).

**TABELA 8 - Relação da expressão do marcador ALCAM com estadio clínico**

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

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

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

**TABELA 9 - Relação da expressão do marcador ALDH1 com estadio clínico**

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

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

### Avaliação de concordância entre ALCAM e ALDH1 e multivariada

A concordância entre eles mostrou-se fraca, com 22,1% de concordância em ambos positivos (27 casos) e 22,1% (27 casos) em ambos negativos de um total de 122 pacientes avaliados. Na análise multivariada entre os fatores metástase pulmonar, estadio clínico e marcador ALCAM observou-se significância estatística na presença de metástase pulmonar. Já na análise multivariada entre os fatores

metástase pulmonar, estadió clínico e marcador ALDH1 não se observou significância estatística.

#### **Análise multivariada sem a presença dos marcadores**

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

## **DISCUSSÃO**

A idade dos pacientes no momento do diagnóstico do câncer colorretal é fator muito importante para avaliar medidas de rastreio em políticas de saúde. Diversos estudos clássicos mostram baixa incidência abaixo dos 50 anos, sendo a idade mediana ao diagnóstico em torno de 70 anos em países desenvolvidos. No entanto, no presente estudo observou-se idade média de 61,9 anos. Com relação à distribuição dos pacientes por faixa etária verificou-se o diagnóstico em 18% dos casos na população abaixo dos 50 anos, grande parcela na faixa entre 50-65, que representa 36,9% dos casos e, na faixa acima, 45,1%. Esse dado é importante pois pode representar sinal de alerta de que o câncer colorretal se apresenta com tendência de surgimento cada vez mais precoce. A demonstração de aparecimento abaixo dos 50 anos de forma significativa pode ter efeito sobre os programas de rastreamento, que hoje preconizam exames complementares a partir dos 50 anos na população geral (BRAY *et al.*, 2017; ISSA; NOUREDDINE, 2017; MILLER *et al.*, 2016; SIEGEL *et al.*, 2008).

Uma hipótese para esse fenômeno é a relação entre o desenvolvimento do câncer colorretal com fatores relacionados à dieta ocidental e estilo de vida moderno. Davis *et al.*<sup>xx</sup> avaliou a epidemiologia americana, encontrando aumento na incidência do câncer colorretal especialmente na população entre 40-50 anos, correspondendo a um aumento de 70% entre 1988 e 2006. Isso traz efeitos na sobrevivência, pois geralmente são diagnosticados de forma mais tardia, por estarem fora da faixa etária submetida ao rastreamento e pela provável influência de fatores genéticos envolvidos na precocidade do câncer. (CAMPOS, 2017; HUBBARD; GROTHEY, 2013; ISSA; NOUREDDINE, 2017)

Embora seja descrito que mutações no gene BRCA estejam relacionadas com aumento do risco de câncer colorretal, com alguns estudos trazendo a hipótese de que mulheres de forma geral teriam também risco aumentado, nossos resultados mostram distribuição similar entre homens e mulheres, com leve desvio para o gênero masculino (51,6%). Os estudos epidemiológicos populacionais mostram distribuição semelhante (49-52% homens), o que sugere a possibilidade de causas diferentes de acordo com o gênero, pois se alguns fatores aumentam o risco no gênero feminino, outros aumentariam no masculino. (KIM *et al.*, 2015; MILLER *et al.*, 2016; SIEGEL *et al.*, 2017; SOPIK *et al.*, 2015)

Outro dado que corrobora com a ideia de que o mecanismo etiológico pode ser diferente entre homens e mulheres, é a diferença significativa na localização do tumor. Enquanto e especialmente em mulheres mais velhas, a porção mais acometida é o cólon proximal, nos homens a maioria envolve o cólon distal e reto. Nossos dados mostram distribuição menor no cólon proximal (35,9%) em relação ao distal e reto que, quando comparados com outros estudos, apresentam variações não significativas. (JEMAL *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2015; MILLER *et al.*, 2016; SIEGEL *et al.*, 2012)

Diversos estudos mostraram associação de formas mais agressivas da doença no cólon proximal, e pior prognóstico em mulheres, já que são mais propensas a esta localização. Dentre os fatores que podem justificar essa diferença de comportamento, está a possível diferença entre os mecanismos etiológicos e fatores relacionados ao próprio diagnóstico, como a maior chance de resultado colonoscópico falso negativo nos tumores de cólon proximal. No entanto, o resultado do presente estudo não mostrou diferença significativa da progressão da doença, tanto em relação à localização quanto ao gênero. Pelo contrário, os dados foram mais próximos de um risco maior de em homens, porém não de forma significativa estatisticamente (SHR 1,63; IC 0,87-3,04) (KIM *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2015; SIEGEL *et al.*, 2017).

A progressão da doença, nesta análise, foi caracterizada como nova evidência de doença após o primeiro tratamento, seja como recidiva local, piora no estadiamento TN ou ainda aparecimento de metástases. Nesta amostra, 35,2% dos pacientes tiveram algum tipo de recorrência do tumor em até 5 anos, sendo que não foi possível observar picos de incidência, ou seja, a recorrência teve distribuição linear. Os dados sobre recorrência variam na literatura entre 23-45% entre os pacientes submetidos à ressecção com intenção curativa. Esse número levanta várias hipóteses tanto sobre a fisiopatologia da recorrência, fatores que podem estar associados com aumento ou diminuição desse risco, e também quanto ao acompanhamento pós-cirúrgico (LASH *et al.*, 2017; WILHELMSSEN *et al.*, 2014).

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

Wilhelmsen *et al.* (2014)<sup>100</sup> mostraram que inúmeros fatores podem estar relacionados à recorrência, como mutações no gene K-ras, instabilidades microssatélites, entre outras. Seu estudo propõe subdivisões dentro dos estadiamentos clínicos, baseados na resposta do tratamento, para melhor definir o risco de recorrência nesses pacientes específicos. Alguns autores estudaram associações que possam reduzir o risco de progressão da doença, como uso de estatina após o primeiro tratamento, mas os resultados não mostraram impacto na progressão em si, embora tenham efeito na sobrevida global. (BRENNER; KLOOR; POX, 2014; CORTET *et al.*, 2013; GUNAWARDENE *et al.*, 2018; LASH *et al.*, 2017; WILHELMSSEN *et al.*, 2014)

Em relação aos marcadores analisados, não foi possível afirmar que existe relação prognóstica em sua expressão. Com relação à ALCAM (CD166) os resultados mostraram que a minoria dos tumores apresentava sua expressão, de forma diferente ao encontrado na literatura. No entanto, não caracterizou-se de forma específica a

expressão quantitativa e o sítio celular detalhado. (LUGLI *et al.*, 2010; TACHEZY *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2017).

A maioria dos estudos que avaliam associação da ALCAM com prognóstico não apresentaram dados relativos à progressão da doença. Nossos resultados mostraram que não houve correlação significativa entre a expressão de ALCAM e a recorrência (SHR 0,84; IC 0,43 – 1,65). Lugli *et al.*<sup>57</sup> obteve resultados semelhantes, onde não houve significância estatística na correlação com recorrência local ou metástases. (LUGLI *et al.*, 2010)

A expressão de ALDH1 é encontrada em 70-80% dos cânceres colorretais, segundo estudos prévios. Porém, nesta amostra encontrou-se ALDH1 positiva em 44,3% de 122 casos. Uma possível explicação para essa diferença foi o elevado número de amostras inconclusivas para ALDH1 (11%, 27 casos), ou seja, a dificuldade técnica de se obter esse resultado pode ter subestimado o número de casos com positividade para ALDH1. (HOLAH *et al.*, 2017; HOU; LIU; ZHAO, 2013; KOPPAKA *et al.*, 2012; VASILIOU; NEBERT, 2005).

A relação da expressão de ALDH1 com a recorrência da doença apresenta alguns resultados não significativos estatisticamente e outros mostrando relação de risco aumentado que, quando agrupados em metanálise, correlacionam a ALDH1 com pior taxa de sobrevida livre de doença em 5 anos, ou seja, mais eventos de recorrência. Nossos resultados não mostraram significância estatística nessa associação, mas sugerem que, se agrupados com outros estudos, podem reforçar a correlação de ALDH1 com maior progressão da doença (SHR 1,64; IC 0,79-3,40) (CHEN *et al.*, 2015).

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

Ao analisar-se toda a amostra os fatores de maior impacto no risco de óbito em 5 anos foram grau de diferenciação tumoral com neoplasia pouco diferenciada (HR 17,6; IC 3,5-88,6), localização do tumor no reto (HR 2,25; IC 1,13-4,48); a progressão de doença na forma ou recidiva local foi o fator de maior impacto no risco de óbito em 5 anos (HR 5,91; IC 3,37-10,4). Além destas variáveis, a presença de metástase hepática também relacionou-se ao óbito (HR 2,02; 1,17- 3,47). A correlação entre a idade aumentada e menor sobrevida concorda com diversos estudos recentes; porém, ainda existe controvérsia sobre a provável causa dessa correlação, se seriam comorbidades associadas, grau de diferenciação do tumor, ou fator de risco isolado (HASSAN *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2014).

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

Benedix *et al.* (2010)<sup>3</sup> afirmaram que, apesar de metástases à distância serem mais comuns nos tumores à esquerda, a sobrevida é significativamente pior no lado direito, quando agrupados por estadiamento clínico. Outros estudos mostram resultados similares, porém contrastam com publicação recente que, utilizando dados multicêntricos, mostrou ausência de diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, com exceção ao estadiamento 3. (BENEDIX *et al.*, 2010; MEGUID *et al.*, 2008; SUTTIE *et al.*, 2011; WEISS *et al.*, 2011)

Além disso, é possível que as diferenças encontradas sejam devido à outras

variáveis possivelmente dependentes da localização do tumor, como grau de diferenciação e diferenças imunológicas, pois os resultados mostram associação apenas em análises univariadas, não sendo encontradas publicações com análises multivariadas (LEE *et al.*, 2015).

Concordando com a literatura, o estadiamento clínico no diagnóstico foi um importante fator de risco para o óbito em 5 anos, com pacientes estadio III e IV tendo um risco 2,52 vezes maior (IC 1,49-4,25). Esse dado reforça a importância do diagnóstico precoce; porém, mesmo com os programas de rastreamento vigentes, mais da metade (60,4%) dos pacientes foi diagnosticada já nos estadiamentos mais avançados (III e IV). Esse dado é semelhante ao de países emergentes, como mostra, por exemplo, estudo da Malásia onde 58,6% também se encontravam nos estádios tardios no momento do diagnóstico (HASSAN *et al.*, 2016)<sup>32</sup>.

Regiões desenvolvidas apesar de apresentarem as maiores incidências do câncer colorretal, têm também as maiores taxas de sobrevida em 5 anos. O diagnóstico precoce tem grande influência nessa estatística, pois apenas 25% aproximadamente são diagnosticados nos estadiamentos mais avançados (SIEGEL *et al.*, 2017; TORRE *et al.*, 2015).

Neste estudo a expressão de ALCAM (CD166) não mostrou correlação estatisticamente significativa com a sobrevida global, concordando com o encontrado por Lugli *et al.* (2004)<sup>57</sup>, que utilizaram a maior amostra encontrada na literatura. Embora nesta metanálise tenha sido demonstrada a associação da ALCAM com pior prognóstico (HR 1.94; IC 1,05-3,58), a existência de estudos contraditórios e limítrofes pesam mais para a ausência de impacto do CD166 do que para sua utilização como marcador prognóstico independente (LUGLI *et al.*, 2010; TACHEZY *et al.* 2012; WEICHERT *et al.*, 2004; ZHANG *et al.*, 2017).

Uma possível explicação para os resultados conflitantes é a falta de padronização na pesquisa da ALCAM no câncer colorretal, embora o primeiro estudo que investigou a associação prognóstica já tenha observado diferenças nessa expressão em diferentes sítios da mesma célula, podendo mascarar os resultados obtidos de forma menos específica. Outro aspecto apresentado pela ALCAM é relação não linear ao grau de diferenciação celular, o que pode indicar a necessidade de aplicação de algum fator de correção em sua expressão de acordo com a classificação histológica para esclarecimento do padrão evolutivo. No entanto, nossos resultados mostraram o mesmo padrão de expressão se estratificados de acordo com o estadiamento clínico. Quando comparado aos estádios I e II apresentou HR 0,36 (IC 0,13 – 1,03) e HR 1,43 (0,74 – 2,79) nos estádios III e IV. (BURKHARDT *et al.*, 2006; HORST *et al.*, 2009; TOMITA\* *et al.*, 2003; WEICHERT *et al.*, 2004)

A associação de ALCAM com outros tipos de câncer e os resultados que, embora controversos, mostram relação com prognóstico nos pacientes com câncer colorretal mantém essa proteína como potencial biomarcador com relevância clínica; porém, os vieses ainda são grandes para estabelecê-la como forte marcador prognóstico. (KAHLERT *et al.*, 2009; KING *et al.*, 2004; ZHANG *et al.*, 2017).

Os resultados também não mostraram associação significativa da ALDH1 com a sobrevida global dos pacientes (HR 1,09; IC 0,62 – 1,90). Estudos anteriores o mostraram como forte marcador de óbito em até 5 anos, porém sua expressão apresenta subgrupos com características específicas e, da mesma forma que ocorre com a ALCAM, os resultados podem ser contaminados pela falta de especificidade na técnica de pesquisa. (CHEN *et al.*, 2015; HOLAH *et al.*, 2017)

O refinamento da ALDH1 para melhor análise em relação à sobrevida deve ser realizado de forma quantitativa e qualitativa, separando em subgrupos para

identificação mais específica do seu papel como marcador tumoral. Fitzgerald et al.<sup>23</sup> mostra que mesmo entre os casos com expressão positiva de ALDH1, existe diferença significativa entre a expressão alta e baixa. Outros autores afirmam que a ALDH1 deve ser dividida em subgrupos de acordo com seu sítio específico de expressão celular. O mecanismo exato da ação dela na patogênese do câncer colorretal não é conhecido, porém diversos estudos correlacionam sua expressão com grau de invasão local e metástases linfonodais. (CHEN *et al.*, 2015; FITZGERALD *et al.*, 2014; HESSMAN *et al.*, 2012; HORST *et al.*, 2009; HOU; LIU; ZHAO, 2013; ZHOU *et al.*, 2014).

### Perspectivas futuras

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

## CONCLUSÕES

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

## REFERÊNCIAS

1. ARMSTRONG, L. *et al.* Phenotypic characterization of murine primitive hematopoietic progenitor cells isolated on basis of aldehyde dehydrogenase activity. **Stem cells** (Dayton, Ohio), v. 22, n. 7, p. 1142–51, dez. 2004.
2. BACCELLI, I.; TRUMPP, A. The evolving concept of cancer and metastasis stem cells. **The Journal of cell biology**, v. 198, n. 3, p. 281–93, 6 ago. 2012.
3. BENEDIX, F. *et al.* Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. **Diseases of the colon and rectum**, v. 53, n. 1, p. 57–64, jan. 2010.
4. BOMAN, B. M.; HUANG, E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 26, n. 17, p. 2828–38, 10 jun. 2008.
5. BOWEN, M. A.; ARUFFO, A. Adhesion molecules, their receptors, and their regulation: analysis of CD6-activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM/CD166) interactions. **Transplantation proceedings**, v. 31, n. 1–2, p. 795–6, 1999.
6. BRAY, C. *et al.* Colorectal Cancer Screening. WMJ: official publication of the State
7. **Medical Society of Wisconsin**, v. 116, n. 1, p. 27–33, 2017.
8. BRENNER, H.; KLOOR, M.; POX, C. P. Colorectal cancer. **The Lancet**, v. 383, n. 9927, p. 1490–1502, 26 abr. 2014.
9. BURKHARDT, M. *et al.* Cytoplasmic overexpression of ALCAM is prognostic of disease progression in breast cancer. **Journal of clinical pathology**, v. 59, n. 4, p. 403–9, 1 abr. 2006.
10. BURKHARDT, M. *et al.* Cytoplasmic overexpression of ALCAM is prognostic of disease progression in breast cancer. **Journal of clinical pathology**, v. 59, n. 4, p. 403–9, 1 abr. 2006.

11. CAMPBELL, I. G. *et al.* Molecular cloning of the B-CAM cell surface glycoprotein of epithelial cancers: a novel member of the immunoglobulin superfamily. **Cancer research**, v. 54, n. 22, p. 5761–5, 15 nov. 1994.
12. CAMPOS, F. G. Colorectal cancer in young adults: A difficult challenge. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 28, p. 5041–5044, 28 jul. 2017.
13. CARDELLA, J. *et al.* Compliance, attitudes and barriers to post-operative colorectal cancer follow-up. **J Eval Clin Pract**, 2008 Jun;14(3):407-15. doi: 10.1111/j.1365- 2753.2007.00880.x.Epub 2008 Mar 24.
14. CARPENTINO, J. E. *et al.* Aldehyde dehydrogenase-expressing colon stem cells contribute to tumorigenesis in the transition from colitis to cancer. **Cancer research**, v. 69, n. 20, p. 8208–15, 15 out. 2009.
15. CHANG, P. M.-H. *et al.* Transcriptome analysis and prognosis of ALDH isoforms in human cancer. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2713, 9 dez. 2018.
16. CHANG, P. M.-H. *et al.* Transcriptome analysis and prognosis of ALDH isoforms in human cancer. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2713, 9 dez. 2018.
17. CHEN, J. *et al.* Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0145164, 18 dez. 2015.
18. CHEN, J. *et al.* Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0145164, 18 dez. 2015.
19. CHEN, Y. *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1B1 (ALDH1B1) is a potential biomarker for human colon cancer. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 405, n. 2, p. 173–9, 11 fev. 2011.
20. CORTET, M. *et al.* Patterns of recurrence of obstructing colon cancers after surgery for cure: a population-based study. **Colorectal Disease**, v. 15, n. 9, p. n/a-n/a, maio 2013.
21. DEGEN, W. G. *et al.* MEMD, a new cell adhesion molecule in metastasizing human melanoma cell lines, is identical to ALCAM (activated leukocyte cell adhesion molecule). **The American journal of pathology**, v. 152, n. 3, p. 805–13, mar. 1998.
22. ESTEY, T. *et al.* Mechanisms Involved in the Protection of UV-induced Protein Inactivation by the Corneal Crystallin ALDH3A1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 7, p. 4382–4392, 16 fev. 2007.
23. FITZGERALD, T. L. *et al.* The impact of Aldehyde dehydrogenase 1 expression on prognosis for metastatic colon cancer. **Journal of Surgical Research**, v. 192, n. 1, p. 82–89, nov. 2014.
24. FITZGERALD, T. L. *et al.* The impact of Aldehyde dehydrogenase 1 expression on prognosis for metastatic colon cancer. **Journal of Surgical Research**, v. 192, n. 1, p. 82–89, nov. 2014.
25. GHONCHEH M., MOHAMMADIAN M., MOHAMMADIAN-HAFSHEJANI A., *et al.* The
26. Incidence and Mortality of Colorectal Cancer and Its Relationship With the Human Development Index in Asia. **Ann Glob Health** 2016;82:726–37.
27. GINESTIER, C. *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. **Cell stem cell**, v. 1, n. 5, p. 555– 67, nov. 2007.
28. GLOBOCAN. **Cancer Today Globocan**. Disponível em: [www.cgo.iarc.fr](http://www.cgo.iarc.fr). Acesso em 15 de agosto de 2020
29. GUNAWARDENE, A. *et al.* Disease recurrence following surgery for colorectal cancer: five-year follow-up. **The New Zealand medical journal**, v. 131, n. 1469, p. 51–58, 2018.
30. HAGGAR F.A., BOUSHEY R.P. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. **Clin Colon Rectal Surg** 2009;22:191–7.
31. HANSEN, A.; SWART, G.; ZIJLSTRA, A. ALCAM. **AfCS-Nature Molecule Pages**, v. 2011, 1 fev. 2011.
32. HASSAN, M. R. A. *et al.* Survival Analysis and Prognostic Factors for Colorectal Cancer Patients in Malaysia. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 17, n. 7, p. 3575–81, 2016.
33. HESSMAN, C. J. *et al.* Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. **American journal of surgery**, v. 203, n. 5, p. 649–653, maio 2012.
34. HESSMAN, C. J. *et al.* Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. **American journal of surgery**, v. 203, n. 5, p. 649–653, maio 2012.
35. HOLAH, N. S. *et al.* Evaluation of the Role of ALDH1 as Cancer Stem Cell Marker in Colorectal Carcinoma: An Immunohistochemical Study. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 1, p. EC17-EC23, jan. 2017.
36. HORST, D. *et al.* Prognostic Significance of the Cancer Stem Cell Markers CD133, CD44, and CD166 in Colorectal Cancer. **Cancer Investigation**, v. 27, n. 8, p. 844– 850, jan. 2009.
37. HOU, Y.; LIU, Y.-Y.; ZHAO, X.-K. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 in colon cancer. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 6, n. 7, p. 574–7, jul. 2013.
38. HUANG, E. H. *et al.* Aldehyde Dehydrogenase 1 Is a Marker for Normal and Malignant Human Colonic Stem Cells (SC) and Tracks SC Overpopulation during Colon Tumorigenesis. **Cancer Research**, v. 69, n. 8, p. 3382–3389, 7 abr. 2009.
39. HUBBARD, J. M.; GROTHEY, A. Adolescent and Young Adult Colorectal Cancer. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 11, n. 10, p. 1219– 1225, 1 out. 2013.
40. ISSA, I. A.; NOUREDDINE, M. Colorectal cancer screening: An updated review of the available options. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 28, p. 5086– 5096, 28 jul. 2017.
41. JACKSON, B. *et al.* Update on the aldehyde dehydrogenase gene (ALDH) superfamily. **Human genomics**, v. 5, n. 4, p. 283–303, maio 2011.
42. JEMAL, A. *et al.* Cancer statistics, 2009. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 59, n. 4, p. 225–249,

- 2009.
43. KAHLERT, C. *et al.* Increased expression of ALCAM/CD166 in pancreatic cancer is an independent prognostic marker for poor survival and early tumour relapse. *British journal of cancer*, v. 101, n. 3, p. 457–64, 4 ago. 2009.
  44. KAHLERT, C. *et al.* Increased expression of ALCAM/CD166 in pancreatic cancer is an independent prognostic marker for poor survival and early tumour relapse. **British journal of cancer**, v. 101, n. 3, p. 457–64, 4 ago. 2009.
  45. KIM, S.-E. *et al.* Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 17, p. 5167, 7 maio 2015.
  46. KING, J. A. *et al.* Activated leukocyte cell adhesion molecule in breast cancer: prognostic indicator. **Breast cancer research: BCR**, v. 6, n. 5, p. R478-87, 2004.
  47. KOPPAKA, V. *et al.* Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application. **Pharmacological reviews**, v. 64, n. 3, p. 520–39, jul. 2012.
  48. KOZOVSKA, Z. *et al.* ALDH1A inhibition sensitizes colon cancer cells to chemotherapy. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 656, 15 jun. 2018.
  49. KRISTIANSEN, G. *et al.* ALCAM/CD166 is up-regulated in low-grade prostate cancer and progressively lost in high-grade lesions. **The Prostate**, v. 54, n. 1, p. 34–43, 1 jan. 2003.
  50. KUMAR, R. *et al.* Colorectal Cancer Survival: An Analysis of Patients With Metastatic Disease Synchronous and Metachronous With the Primary Tumor. **Clinical Colorectal Cancer**, v. 13, n. 2, p. 87–93, jun. 2014.
  51. LASH, T. L. *et al.* Associations of Statin Use With Colorectal Cancer Recurrence and Mortality in a Danish Cohort. **American Journal of Epidemiology**, v. 186, n. 6, p. 679–687, 15 set. 2017.
  52. LAUWAET, T. *et al.* Molecular mechanisms of invasion by cancer cells, leukocytes and microorganisms. **Microbes and infection**, v. 2, n. 8, p. 923–31, jul. 2000.
  53. LEE, G. H. *et al.* Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? – A systematic review. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, v. 41, n. 3, p. 300–308, mar. 2015.
  54. LEHMANN, J. M.; RIETHMULLER, G.; JOHNSON, J. P. MUC18, a marker of tumor
  55. progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 24, p. 9891–9895, 1 dez. 1989.
  56. LINDAHL, R. Aldehyde Dehydrogenases and Their Role in Carcinogenesis. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 27, n. 4–5, p. 283–335, 26 jan. 1992.
  57. LUGLI, A. *et al.* Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer. **British journal of cancer**, v. 103, n. 3, p. 382–90, 27 jul. 2010.
  58. MARCHITTI, S. A. *et al.* Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 4, n. 6, p. 697–720, 8 jun. 2008.
  59. MARKOWITZ S.D, BERTAGNOLLI M.M. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. **N Engl J Med** 2009;361:2449–60.
  60. MCCABE, K. E. *et al.* An engineered cysteine-modified diabody for imaging activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM)-positive tumors. **Molecular imaging and biology**, v. 14, n. 3, p. 336–47, 1 jun. 2012.
  61. MEGUID, R. A. *et al.* Is There a Difference in Survival Between Right- Versus Left- Sided Colon Cancers? **Annals of Surgical Oncology**, v. 15, n. 9, p. 2388–2394, 12 set. 2008.
  62. MEZZANZANICA, D. *et al.* Subcellular localization of activated leukocyte cell adhesion molecule is a molecular predictor of survival in ovarian carcinoma patients. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, v. 14, n. 6, p. 1726–33, 15 mar. 2008.
  63. MILLER, K. D. *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 66, n. 4, p. 271–289, jul. 2016.
  64. MODARAI, S. R. *et al.* The anti-cancer effect of retinoic acid signaling in CRC occurs via decreased growth of ALDH+ colon cancer stem cells and increased differentiation of stem cells. **Oncotarget**, v. 9, n. 78, p. 34658–34669, 5 out. 2018.
  65. NEBERT, D. W.; WAIN, H. M. Update on human genome completion and annotations: gene nomenclature. **Human genomics**, v. 1, n. 1, p. 66–71, nov. 2003.
  66. NEO J.H., AGER E.I, ANGUS P.W, *et al.* Changes in the renin angiotensin system during the development of colorectal cancer liver metastases. **BMC Cancer** 2010;10:134.
  67. O'BRIEN, C. A. *et al.* A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. **Nature**, v. 445, n. 7123, p. 106–10, 4 jan. 2007.
  68. OFORI-ACQUAH, S. F.; KING, J. A. Activated leukocyte cell adhesion molecule: a new paradox in cancer. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*, v. 151, n. 3, p. 122–8, mar. 2008.
  69. PARSONS, S. F. *et al.* The Lutheran blood group glycoprotein, another member of the immunoglobulin superfamily, is widely expressed in human tissues and is developmentally regulated in human liver. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 12, p. 5496–500, 6 jun. 1995.

70. RICCI-VITIANI, L. *et al.* Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. **Nature**, v. 445, n. 7123, p. 111–5, 4 jan. 2007.
71. SANDERS, M. A.; MAJUMDAR, A. P. N. Colon cancer stem cells: implications in carcinogenesis. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 16, p. 1651–62, 1 jan. 2011.
72. SAWHNEY, M. *et al.* Cytoplasmic accumulation of activated leukocyte cell adhesion molecule is a predictor of disease progression and reduced survival in oral cancer patients. **International journal of cancer**, v. 124, n. 9, p. 2098–105, 1 maio 2009.
73. SHMELKOV, S. V. *et al.* CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133–metastatic colon cancer cells initiate tumors. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 6, p. 2111–20, 1 maio 2008.
74. SIEGEL RL, MILLER KD, FEDEWA SA, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2017. **CA: A Cancer J Clinicians** 2017.
75. SIEGEL, R. *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 62, n. 4, p. 220–41, jul. 2012.
76. SIEGEL, R. L. *et al.* Colorectal cancer statistics, 2017. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, n. 3, p. 177–193, 6 maio 2017.
77. SIEGEL, R. L. *et al.* Trends in the incidence of colorectal cancer in relation to county- level poverty among blacks and whites. **Journal of the National Medical Association**, v. 100, n. 12, p. 1441–1444, dez. 2008.
78. SKONIER, J. E. *et al.* Mutational Analysis of the CD6 Binding Site in Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule. **Biochemistry**, v. 35, n. 47, p. 14743–14748, 26jan. 1996.
79. SOBREIRA, T. J. P. *et al.* Structural shifts of aldehyde dehydrogenase enzymes were instrumental for the early evolution of retinoid-dependent axial patterning in metazoans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 1, p. 226–31, 4 jan. 2011.
80. SOPIK, V. *et al.* BRCA1 and BRCA2 mutations and the risk for colorectal cancer. **Clinical Genetics**, v. 87, n. 5, p. 411–418, maio 2015.
81. SUTTIE, S. A. *et al.* Outcome of right- and left-sided colonic and rectal cancer following surgical resection. **Colorectal Disease**, v. 13, n. 8, p. 884–889, ago. 2011.
82. SWART, G. Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166/ALCAM): Developmental and mechanistic aspects of cell clustering and cell migration. **European Journal of Cell Biology**, v. 81, n. 6, p. 313–321, jun. 2002.
83. TACHEZY, M. *et al.* Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166)--its prognostic power for colorectal cancer patients. **The Journal of surgical research**, v. 177, n. 1, p. e15-20, set. 2012.
84. TOMITA, H. *et al.* Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 10, 8 mar. 2016.
85. TOMITA, K. *et al.* Coordinate recruitment of E-cadherin and ALCAM to cell-cell contacts by alpha-catenin. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 267, n. 3, p. 870–4, 27 jan. 2000.
86. TOMITA\*, K. *et al.* Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule (ALCAM) Expression is Associated with a Poor Prognosis for Bladder Cancer Patients. **UroOncology**, v. 3, n. 3–4, p. 121–129, 16 set. 2003.
87. TORRE, L. A. *et al.* Global cancer statistics, 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 65, n. 2, p. 87–108, mar. 2015.
88. VAN AKEN, E. *et al.* Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. **Virchows Archiv: an international journal of pathology**, v. 439, n. 6, p. 725–51, dez. 2001.
89. VAN KEMPEN, L. C. *et al.* Molecular basis for the homophilic activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM)-ALCAM interaction. **The Journal of biological chemistry**, v. 276, n. 28, p. 25783–90, 13 jul. 2001.
90. VASILIOU, V. *et al.* Eukaryotic aldehyde dehydrogenase (ALDH) genes: human polymorphisms, and recommended nomenclature based on divergent evolution and chromosomal mapping. **Pharmacogenetics**, v. 9, n. 4, p. 421–34, ago. 1999.
91. VASILIOU, V.; NEBERT, D. W. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family. **Human genomics**, v. 2, n. 2, p. 138–43, jun. 2005.
92. VASILIOU, V.; PAPPAS, A.; PETERSEN, D. R. Role of aldehyde dehydrogenases in endogenous and xenobiotic metabolism. **Chemico-biological interactions**, v. 129, n. 1–2, p. 1–19, 1 dez. 2000.
93. VASSALLI, G. Aldehyde Dehydrogenases: Not Just Markers, but Functional Regulators of Stem Cells. **Stem cells international**, v. 2019, p. 3904645, 2019.
94. VERMA, A. *et al.* MEMD/ALCAM: a potential marker for tumor invasion and nodal metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. **Oncology**, v. 68, n. 4–6, p. 462–70, 2005.
95. WEICHERT, W. *et al.* ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. **Journal of clinical pathology**, v. 57, n. 11, p. 1160–4, 1 nov. 2004.
96. WEIDLE, U. H. *et al.* ALCAM/CD166: cancer-related issues. **Cancer genomics & proteomics**, v. 7, n. 5, p. 231–43, 2010.
97. WEINER, H. Systematic nomenclature for mammalian aldehyde dehydrogenases. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 13, n. 4, p. 599–600, ago. 1989.
98. WEISS, J. M. *et al.* Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: analysis of surveillance, epidemiology, and end results--Medicare data. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 29, n. 33, p. 4401–9, 20 nov. 2011.
99. WIIGER, M. T. *et al.* A novel human recombinant single-chain antibody targeting CD166/ALCAM inhibits

- cancer cell invasion in vitro and in vivo tumour growth. **Cancer immunology, immunotherapy**: CII, v. 59, n. 11, p. 1665–74, 16 nov. 2010.
100. WILHELMSSEN, M. *et al.* Determinants of recurrence after intended curative resection for colorectal cancer. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 49, n. 12, p. 1399–1408, 5 dez. 2014.
  101. ZHANG, W.-W. *et al.* Activated leukocyte cell adhesion molecule regulates the interaction between pancreatic cancer cells and stellate cells. **Molecular medicine reports**, v. 14, n. 4, p. 3627–33, out. 2016.
  102. ZHANG, Y. *et al.* Meta-analysis indicating that high ALCAM expression predicts poor prognosis in colorectal cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 29, p. 48272–48281, 18 jul. 2017.
  103. ZHOU, F. *et al.* Expression and prognostic value of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma. **Oncology Letters**, v. 7, n. 2, p. 507–512, fev. 2014.

## Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.