



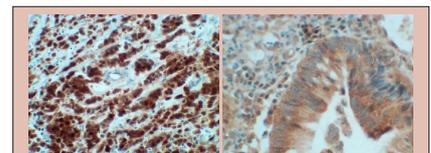
OS IMUNOMARCADORES CDX2, BETA-CATENINA E WNT SÃO ÚTEIS PARA AVALIAR A CHANCE DE PROGRESSÃO DE DOENÇA OU A EVOLUÇÃO PARA ÓBITO EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL?

Are CDX2, beta-catenin and WNT immunomarkers useful for evaluating the chance of disease progression or evolution to death in patients with colorectal cancer?

Fabiola Pabst BREMER^{1,2}, Nicolau Gregori CZECZKO¹, Luiz Martins COLLAÇO¹, Letícia Elizabeth Augustin Czczko RUTZ¹, Guilherme GIONEDIS¹, Camila Kienen YAMAKAWA¹

RESUMO – Racional: O câncer colorretal (CCR) é um dos tipos mais comuns no mundo. As células epiteliais intestinais podem sofrer mutações que ocasionam vantagem proliferativa e culminam com o surgimento do câncer. Mutações da via da beta-catenina foram descritas entre as que podem ocasioná-lo. **Objetivo:** Verificar a existência de relação entre a expressão de Wnt3, beta-catenina e CDX2 em amostras de câncer colorretal com os eventos clínicos progressão de doença e óbito. **Método:** Foi realizada análise imunohistoquímica de Wnt3a, beta-catenina e CDX2 em blocos multiamostrais de CRC (n=122), e avaliada a relação entre a expressão dos biomarcadores e os desfechos progressão de doença e óbito. **Resultados:** Não foram encontradas diferenças significativas entre a expressão ou ausência de CDX2, beta-catenina ou Wnt3a e estágio clínico, grau de diferenciação tumoral, presença de progressão de doença ou evolução ao óbito. **Conclusão:** Os marcadores CDX2, beta-catenina e Wnt3a não são úteis para prever prognóstico em pacientes com CCR.

DESCRIPTORIOS - CDX2. Beta-catenina. Wnt3. Câncer colorretal.



Imunomarcacão: beta-catenina intra-nuclear e Wnt3a

Mensagem central

Os marcadores tumorais CDX2, beta-catenina e Wnt3a não são bons preditores de prognóstico em pacientes com câncer colorretal.

ABSTRACT - Background: Colorectal cancer (CRC) is one of the most common types of cancer in the world. Over time, intestinal epithelial cells undergo mutations that may lead to proliferative advantage and the emergence of cancer. Mutations in the beta-catenin pathway are amongst those described in the development of CRC. **Aim:** To verify the existence of a relation between the presence of Wnt3, beta-catenin and CDX2 in colorectal cancer samples and clinical outcomes such as disease progression or death. **Method:** Wnt3a, beta-catenin and CDX2 immunohistochemistry was performed on CRC tissue microarray samples (n=122), and analysis regarding the relation between biomarker expression and disease progression or death was performed. **Results:** No significant difference was found between the presence or absence of CDX2, beta-catenin or Wnt3a expression and clinical stage, tumor grade, disease progression or death. **Conclusion:** CDX2, beta-catenin and Wnt3a are not useful to predict prognosis in patients with CRC.

HEADINGS: CDX2. Beta-catenin. Wnt3. Colorectal cancer.

Perspectiva

Ao contrário da literatura recente, este estudo de imunohistoquímica demonstra baixa aplicabilidade dos marcadores tumorais CDX2, beta-catenina e Wnt3a na predição de desfechos clínicos como progressão de doença ou evolução ao óbito no contexto do câncer colorretal.



www.facebook.com/abcdrevista



www.instagram.com/abcdrevista



www.twitter.com/abcdrevista

Trabalho realizado no ¹Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; ²Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil.

Como citar esse artigo: Bremer FP, Czczko NG, Collaço LM, Rutz LEAC, Gionedis G, Yamakawa CK. Os imunomarcadores CDX2, beta-Catenina e WNT são úteis para avaliar a chance de progressão de doença ou a evolução para óbito em pacientes com câncer colorretal? ABCD Arq Bras Cir Dig. 2020;33(3):e1534. DOI: /10.1590/0102-672020200003e1534

Correspondência

Fabiola Pabst Bremer
E-mail: fabiolabremer@outlook.com

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Conflito de interesse: não há
Recebido para publicação: 15/04/2020
Aceito para publicação: 03/07/2020

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é o terceiro tipo de câncer mais incidente no mundo, sendo no Brasil o terceiro mais comum nos homens e o segundo nas mulheres¹³. Anualmente, são realizados mais de um milhão de diagnósticos no mundo, com mortalidade estimada de 600.000 indivíduos por ano²³. Apenas no Brasil, estima-se que serão 20.520 casos novos em homens e 20.470 em mulheres para cada ano do triênio 2020-2022¹⁴. A sobrevida em cinco anos possui relação direta com o estadiamento⁹, e varia de 90%, se doença localizada, a 14% na vigência de metástase^{12,22}.

O desenvolvimento do CCR se inicia com a ocorrência de mutações nas células do epitélio intestinal, que ocasionam vantagens proliferativas¹⁰. A proliferação aumentada origina a formação de pólipos adenomatosos benignos, que podem evoluir para a gênese de tumores malignos¹⁰. O tempo de evolução entre o adenoma e o desenvolvimento de câncer é de cerca de 10 anos⁵. Várias mutações já foram relacionadas ao desenvolvimento do câncer colorretal, entre elas as dos genes APC (adenomatous polyposis coli), KRAS, p53, do gene da beta-catenina, entre outras⁵.

As proteínas Wnt são glicoproteínas que atuam no controle do desenvolvimento, proliferação e morte celular a partir da ativação da via Wnt/beta-catenina²⁵. Nesta via, as proteínas Wnt1, Wnt3a e Wnt7a estimulariam a inativação da formação do complexo de destruição da beta-catenina (formado por caseína quinase 1 – CK1, glicogênio sintase quinase 3 – GSK3, proteína axin e proteína APC), ocasionando acúmulo intracelular de beta-catenina²¹. Este acúmulo leva a ativação de genes-alvo da via Wnt/beta-catenina, responsáveis pelo controle da proliferação celular. Quando há desregulação desta via, tanto por hiperestimulação por Wnt quanto por outras mutações que levem ao aumento da beta-catenina livre intracelular, gera-se proliferação celular acentuada, que pode originar o CCR²⁵.

O fator de transcrição CDX2 (caudal type homeobox type 2) faz parte do conjunto de proteínas codificadas pelos genes do grupo homeobox, que são responsáveis pela formação de fatores essenciais ao desenvolvimento inicial do embrião, assim como padronização e identificação celular⁷. Após o nascimento, a expressão do CDX2 passa a ser importante para a morfogênese do epitélio intestinal, onde se mantém presente por toda a vida⁴; pode, portanto, ser utilizado como marcador específico de tecido colorretal em estudos imunoistoquímicos¹⁶.

Acredita-se que, além de definir o fenótipo intestinal nas células epiteliais, o CDX2 também possui função de supressão tumoral⁶, uma vez que sua ausência se correlaciona com menor diferenciação histológica e estadiamento avançado em tumores malignos colorretais^{3,20}. O mecanismo desta supressão não está totalmente esclarecido, porém acredita-se que o fator de transcrição CDX2 atue bloqueando a via de sinalização Wnt/beta-catenina¹².

Este trabalho objetiva relacionar a imunomarcagem de amostras de cânceres colorretais para CDX2, beta-catenina e Wnt3a com a presença de progressão de doença e a evolução ao óbito.

MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil sob nº. 1.999.670.

Retrospectivamente foram incluídos 122 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma colorretal realizado entre os anos de 2010 e 2015 no Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, em Curitiba, PR, Brasil. As amostras de tecidos destes pacientes foram separadas no laboratório de patologia do hospital e enviadas para imunomarcagem. Para a avaliação

imunoistoquímica, realizou-se a confecção de blocos multiamostrais por meio do aparelho manual Tissue Tek Quick-Array™, que utiliza pinças acopladas com diâmetros de 1-3 mm para extração da área registrada.

Os blocos multiamostrais permitiram a obtenção de até 60 fragmentos dos tecidos tumorais, sendo posteriormente processados e submetidos à técnica de imunoperoxidase, realizada pelo instrumento Benchmark Ultra™. As leituras foram realizadas após amplificação da marcação pelos anticorpos primários, por dois patologistas em tempos diferentes. Os resultados foram classificados como positivos (na presença de marcação), negativos (na ausência de marcação) ou indeterminados. Foram utilizados os seguintes clones para marcação: CDX-2 clone EPR2764Y, fabricado pela Cell Marque; beta-catenina clone 14, fabricado pela Ventana; e Wnt3a policlonal, fabricado pela Genetex.

A coleta de dados foi realizada entre os meses de março e julho de 2018, por meio da análise de prontuários físicos e eletrônicos, laudos de anatomia patológica, exames de imagens e laudos para solicitação de procedimentos de alto custo (quimioterapia).

Análise estatística

Os resultados das 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 associados 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 subdistribuição 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

Dos 122 pacientes, 63 eram homens (51,6%) e 59 mulheres (48,4%). A maior parte dos casos possuía entre 50-70 anos de idade no momento do diagnóstico ($n=69$, 56,6%); o grau de diferenciação histológica mais comum foi o moderadamente diferenciado ($n=101$, 82,8%). A maioria dos casos possuía estadiamento avançado na ocasião do diagnóstico (UICC III e IV, $n=74$, 60,7%, Tabela 1).

TABELA 1 - Dados epidemiológicos ($n=122$)

	n	%
Idade no diagnóstico		
<50 anos	22	18
50-70 anos	69	56,5
>70 anos	31	25,4
UICC (estadio clínico)		
0, I ou II	48	39,3
III e IV	74	60,7
Grau de diferenciação		
Pouco diferenciado	10	8,2
Moderadamente diferenciado	101	82,8
Bem diferenciado	8	6,6
Indeterminado	3	2,5
Total	122	100

A expressão de CDX2 foi encontrada em 67,2% ($n=82$), a de beta-catenina em 42,6% ($n=52$) e a de Wnt3a em 43,4% ($n=53$) dos casos. A taxa de resultados inconclusivos variou entre 11,5 e 15,6% (Tabela 2). Não foi encontrada diferença significativa entre a presença ou ausência dos marcadores CDX2, beta-catenina e Wnt3a com idade ao diagnóstico, gênero, estágio clínico e grau de diferenciação tumoral.

TABELA 2 - Resultados encontrados na imunomarcação

Marcador		n	%
CDX2	negativo	25	20,5
	positivo	82	67,2
	inconclusivo	15	12,3
Beta-catenina	negativo	56	45,9
	positivo	52	42,6
	inconclusivo	14	11,5
WNT3a	negativo	50	41
	positivo	53	43,4
	inconclusivo	19	15,6
Total		122	100

Foi realizada análise para verificar quais fatores poderiam estar relacionados com a presença de progressão (Tabela 3). Não houve diferença significativa em relação à presença ou ausência de marcação para CDX2, beta-catenina e Wnt3a e a ocorrência de progressão de doença. Também não houve diferenças estatísticas entre idade no diagnóstico, estágio clínico no diagnóstico e gênero com a ocorrência ou não de progressão de doença.

TABELA 3 - Análise das variáveis em relação à presença de progressão de doença

Variável	Classificação	n	% de casos com progressão	p*	SHR	IC 95%
Idade no dx	<50 (ref)	22	10 (45,5)			
	50 a 70	69	25 (36,2)	0,225	0,64	0,31–1,31
	>70	31	8 (25,8)	0,143	0,49	0,20–1,27
Sexo	Fem (ref)	59	16 (27,1)			
	Masc	63	27 (42,9)	0,127	1,63	0,87–3,04
Grau de diferenciação (excluídos "indet")	Pouco diferenc (0)	10	1 (10,0)			
	Bem diferenc (ref) (2)	8	3 (37,5)	0,241	3,46	0,44–27,5
	Moderado (1)	101	39 (38,6)	0,360	2,90	0,30–28,2
UICC	0/I/II	48	15 (31,2)			
	III/IV	74	28 (37,8)	0,085	1,68	0,93–3,05
CDX2	Negativo (ref)	25	9 (36,0)			
	Positivo	82	28 (34,1)	0,982	0,99	0,47–2,08
	Inconclusivo	15	6 (40,0)	0,489	1,46	0,50–4,26
Beta-catenina	Negativo (ref)	56	18 (32,1)			
	Positivo	52	21 (40,4)	0,610	1,18	0,63–2,20
	Inconclusivo	14	4 (28,6)	0,902	1,08	0,34–3,43
WNT3	Negativo (ref)	50	20 (40,0)			
	Positivo	53	17 (32,1)	0,094	0,58	0,30–1,10
	Inconclusivo	19	6 (31,6)	0,364	0,66	0,25–1,63

SHR=subdistribution hazard ratio; IC95%: 95% confidence interval

Em relação à evolução para o evento óbito, não foi encontrada diferença significativa entre a presença ou ausência dos marcadores estudados e a ocorrência de tal desfecho. Foi encontrada diferença estatisticamente relevante quando avaliados o grau de diferenciação tumoral, o estadiamento no diagnóstico e a presença de progressão de doença. O evento óbito foi mais encontrado nos tumores pouco diferenciados (HR 17,6; 3,5–88,6), nos estádios mais avançados (HR 2,52; 1,49–4,25) e nos pacientes que apresentaram progressão de doença (HR 5,91; 3,37–10,4, Tabela 4).

TABELA 4 - Análise das variáveis em relação ao evento óbito

Variável	Classificação	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
Idade no dx	<50 (ref)	22	9 (40,9%)			
	50 a 70	69	42 (60,9%)	0,361	1,40	0,68–2,88
	>70	31	17 (54,8%)	0,099	1,98	0,88–4,45
Gênero	Masc (ref)	63	32 (50,8%)			
	Fem	59	36 (61,0%)	0,134	1,44	0,89–2,34
Grau de diferenciação (excluídos "indet")	Bem diferenc (ref)(2)	8	2 (25,0%)			
	Moderado (1)	101	58 (57,4%)	0,078	3,55	0,87–14,6
	Pouco diferenc (0)	10	7 (70,0%)	0,001	17,6	3,5–88,6
UICC (agrupado)	0/I/II	48	22 (45,8%)			
	III/IV	74	46 (62,2%)	<0,001	2,52	1,49–4,25
Evento de progressão	Não	79	41 (51,9)			
	Sim	43	27 (62,8)	<0,001	5,91	3,37–10,4
CDX2	Negativo (ref)	25	9 (36,0%)			
	Positivo	82	28 (34,1%)	0,373	1,33	0,71–2,51
	Inconclusivo	15	6 (40,0%)	0,855	1,10	0,41–2,94
Beta-catenin	Negativo (ref)	56	28 (50,0%)			
	Positivo	52	35 (67,3%)	0,480	1,20	0,73–1,97
	Inconclusivo	14	5 (35,7%)	0,791	0,88	0,34–2,28
Wnt3	Negativo (ref)	50	30 (60,0%)			
	Positivo	53	30 (56,6%)	0,204	0,72	0,43–1,20
	Inconclusivo	19	8 (42,1%)	0,268	0,64	0,29–1,40

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

DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, verificou-se a ausência de CDX2 em 20,5% das amostras analisadas, semelhante ao previamente descrito na literatura, onde pouca expressão ou ausência de CDX2 foi encontrada em 5–29% dos CCR^{1,2,19}. De forma similar, Kaimaktchiev et al. encontraram este marcador superexpresso em 85,7% de suas amostras de CCR e em 97,9% de suas amostras de adenomas colorretais¹⁶.

Ao contrário dos achados do presente estudo, pesquisas anteriores relacionaram a ausência de expressão de CDX2 com menor diferenciação histológica e estágio mais avançado no diagnóstico^{2,3,20}, assim como menores taxas de sobrevida livre de doença e livre de progressão^{3,8,20}. Nolte et al. demonstraram que a menor expressão de CDX2 se relaciona de forma inversamente proporcional à probabilidade de certos fatores, como gênero feminino, histologia mucinosa, maior grau patológico tumoral, maior estadiamento pT, maior classificação TNM, menor sobrevida livre de doença (41% vs. 74% em tumores CDX2 positivos) e menor sobrevida global em cinco anos (33% vs. 59%), mantendo significância mesmo em análises multivariáveis que excluía gênero, grau tumoral e estágio clínico²⁰. Neste estudo, não foi encontrada relação entre a ausência de CDX2 e aumento de risco significativo para desfechos como progressão de doença, óbito e evolução em estadiamento clínico ou em grau de diferenciação tumoral.

A expressão de Wnt3a no presente estudo, em 43,4% das amostras avaliadas, foi notadamente menor do que o descrito na pesquisa de Qi et al., onde 172 (88,2%) de 203 amostras de CCR demonstraram expressão positiva de Wnt3a, e os casos com forte expressão se relacionaram com tumores menos diferenciados, estágio clínico avançado, presença de metástase e com recorrência tumoral²². Foi notada redução da sobrevida global conforme a expressão de Wnt3a, sendo de 76,4 meses para os pacientes

sem expressão deste marcador e de 41,7 meses para aqueles que possuíam forte expressão nas células tumorais. Não houve diferença significativa na expressão de Wnt3a quando avaliada idade dos pacientes, gênero ou tamanho tumoral²².

Já a pesquisa de Madison et al. encontrou Wnt3a expresso em 89,9% dos casos de CCR (de forma fraca em 44,7% e forte em 45,2%), e relação entre a positividade para Wnt3a com a presença de mimetismo vasculogênico (VM). A presença de VM esteve associada com tumores pouco diferenciados (56,6% vs. 7,1% em tumores bem diferenciados), estágio clínico avançado (58,3% em EC IV vs. 0% em EC I) e presença de metástase ou recorrência (31,2% vs. 10,7% quando ausência de metástase ou recorrência). Os pesquisadores não encontraram diferença significativa na expressão de Wnt3a em relação a gênero e idade, assim como em relação ao grau de diferenciação tumoral, progressão de doença, evolução para óbito ou estadiamento clínico no diagnóstico. Considerando que não existe um guia para leitura da imunomarcagem, podem ter sido consideradas negativas algumas amostras que em outros estudos foram consideradas fracamente positivas.

Já a expressão de beta-catenina nuclear foi observada em 42,6% das amostras, semelhante ao encontrado por Morikawa et al, onde a positividade deste marcador foi registrada em 323 (47%) de 724 casos de CCR¹⁸. Uma vez que mutações na via Wnt/beta-catenina são frequentemente associadas com o desenvolvimento de câncer - mas a expressão de beta-catenina só é encontrada em menos da metade dos tumores -, imagina-se que existam outros mecanismos que demonstrem a ativação desta via gênica²⁵.

O presente estudo demonstrou importantes diferenças em relação à literatura recente, principalmente em relação ao prognóstico, uma vez que não se encontrou nenhum marcador dentre os estudados que possa ser utilizado como indicativo de probabilidade para progressão da doença ou evolução para óbito. Isso pode ser explicado por possíveis diferenças entre estudos na interpretação das amostras, uma vez que não existem critérios únicos que padronizem a leitura da expressão de biomarcadores na imunoanálise.

CONCLUSÃO

Os marcadores tumorais CDX2, beta-catenina e Wnt3a não se mostraram bons instrumentos para avaliar a chance de progressão de doença ou a possibilidade de evolução ao óbito no contexto do câncer colorretal.

REFERÊNCIAS

- Baba Y, Noshio K, Shima K, Freed E, Irahara N, Philips J et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2009; 15(14): 4665–4673. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0401
- Bae JM, Lee TH, Cho NY, Kim TY, Kang GH. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*. 2015; 21(5): 1457–1467. doi:10.3748/wjg.v21.i5.1457
- Bakar S, Çetinkaya A, Ezberci F, Ekerbicer H. Expression of homeodomain protein CDX2 in colorectal adenoma and adenocarcinoma. *Histology and histopathology*. 2008; 23: 1043–7. doi:10.14670/HH-23.1043
- Beck F, Stringer EJ. The role of Cdx genes in the gut and in axial development. *Biochemical Society Transactions*. 2010; 38 (2): 353–357. doi: https://doi.org/10.1042/BST0380353
- Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology*. 2014; 27(1): 9–14. PMID: 24714764; PMCID: PMC3959535.
- Bonhomme C, Duluc I, Martin E, Chawengsaksophak K, Chenard MP, Kedinger M et al. The Cdx2 homeobox gene has a tumour suppressor function in the distal colon in addition to a homeotic role during gut development. *Gut*. 2003; 52(10): 1465–1471. doi:10.1136/gut.52.10.1465
- Cillo C, Cantile M, Faiella A, Boncinelli E. Homeobox genes in normal and malignant cells. *Journal of Cellular Physiology*. 2001; 188: 161–169. doi:10.1002/jcp.1115
- Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2016; 374(3): 211–222. doi:10.1056/NEJMoa1506597
- Diger, N et al. Is superficial colorectal lesions with low and high grades intraepithelial neoplasms more prevalent in older above 65 years? *ABCD, arq. Bras. Cir. Dig.* 2019, vol.32, n.4, e1478. Epub Dec 20, 2019. ISSN 2317-6326. <https://doi.org/10.1590/0102-672020190001e1478>.
- Freitas, Betal. Obesidade e desenvolvimento de adenoma estão associados como precursores do câncer colorretal? *ABCD, arq. Bras. Cir. Dig.* 2020, vol 33, n1, e1500. Epub July 08, 2020. ISSN 2317-6326
- Freire EG, Albuquerque J, Leal IP, Sousa NA, Graça J. Effect of chronic renal dysfunction on the permeability of the colon to water and electrolytes: experimental study in rats. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*. 2019; 32(4): e1472. doi:10.1590/0102-672020190001e1472
- Guo RJ, Funakoshi S, Lee HH, Kong J, Lynch JP. The intestine-specific transcription factor Cdx2 inhibits beta-catenin/TCF transcriptional activity by disrupting the beta-catenin-TCF protein complex. *Carcinogenesis*. 2010; 31(2): 159–166. doi:10.1093/carcin/bgp213
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Kosary CL, et al. *SEER Cancer Statistics Review, 1975–2014*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, based on November 2016 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2017 [acesso em 2017 mar]. Disponível em: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/
- Instituto Nacional de Câncer. Incidência de câncer no Brasil [base de dados na Internet]. Rio de Janeiro. Instituto Nacional de Câncer; 2019, [acesso em 2020 fev]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao>
- Instituto Nacional de Câncer. Incidência de câncer no Brasil [base de dados na Internet]. Rio de Janeiro. Instituto Nacional de Câncer; 2020, [acesso em 2020 mar]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/sintese-de-resultados-e-comentarios>
- Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, Spichting H, Stoijs D, Bundi M et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Modern Pathology*. 2004; 17: 1392–1399. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800205>
- Madison BB, Braunstein K, Kuizon E, Portman K, Qiao XT, Gumucio DL. Epithelial hedgehog signals pattern the intestinal crypt-villus axis. *Development*. 2005; 132(2): 279–289. doi: 10.1242/dev.01576
- Morikawa T, Baba Y, Yamauchi M, Kuchiba A, Noshio K, Shima K, et al. STAT3 expression, molecular features, inflammation patterns, and prognosis in a database of 724 colorectal cancers. *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011; 17(6): 1452–1462. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2694
- Moskaluk C, Zhang H, Powell S, Cerilli LA, Hampton GM, Frierson HF. Cdx2 Protein Expression in Normal and Malignant Human Tissues: An Immunohistochemical Survey Using Tissue Microarrays. *Modern Pathology*. 2003; 16: 913–919. doi: 10.1097/01.MP.0000086073.92773.55
- Nolte S, Zlobec I, Lugli A, et al. Construction and analysis of tissue microarrays in the era of digital pathology: a pilot study targeting CDX1 and CDX2 in a colon cancer cohort of 612 patients. *The Journal of Pathology: Clinical Research*. 2017; 3(1): 58–70. doi:10.1002/cjp.262
- Qi L, Song W, Liu Z, Zhao X, Cao W, Sun B. Wnt3a Promotes the Vasculogenic Mimicry Formation of Colon Cancer via Wnt/β-Catenin Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16(8): 18564–18579. doi:10.3390/ijms160818564
- Qi L, Sun B, Liu Z, Cheng R, Li Y, Zhao X. Wnt3a expression is associated with epithelial-mesenchymal transition and promotes colon cancer progression. *Journal of experimental & Clinical Cancer Research: CR*. 2014; 33: 107. doi:10.1186/PREACCEPT-1203114799135709.
- Souza GD, Souza LRQ, Cuenca RM, Vilela VM, Santos BEM, Aguiar FS. Pre- and postoperative imaging methods in colorectal cancer. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*. 2018; 31(2): e1371. doi:10.1590/0102-672020180001e1371.
- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. (2015) Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65: 87–108. doi:10.3322/caac.21262
- Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017; 36(11): 1461–1473. doi:10.1038/ncr.2016.304