

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Papel de las células tumorales circulantes en la identificación
de subgrupos pronósticos en pacientes con cáncer de colon
estadio III**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR
Miguel Jhonatan Sotelo Lezama

Directores

Eduardo Díaz-Rubio García
Javier Sastre Valera
María Luisa Maestro de las Casas

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**PAPEL DE LAS CÉLULAS TUMORALES
CIRCULANTES EN LA IDENTIFICACIÓN DE
SUBGRUPOS PRONÓSTICOS EN PACIENTES CON
CÁNCER DE COLON ESTADIO III**

MIGUEL JHONATAN SOTELO LEZAMA

Madrid 2014

**PAPEL DE LAS CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES EN
LA IDENTIFICACIÓN DE SUBGRUPOS PRONÓSTICOS EN
PACIENTES CON CÁNCER DE COLON ESTADIO III.**

Miguel Jhonatan Sotelo Lezama

Tesis Doctoral

Universidad Complutense de Madrid

DIRECTORES

Prof. Eduardo Díaz-Rubio García

Jefe del Servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico San Carlos.
Catedrático del Departamento de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

Dr. Javier Sastre Valera

Médico adjunto del Servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico San Carlos.
Prof. asociado del Departamento de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

Dra. María Luisa Maestro de las Casas

Médico adjunto del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico San Carlos.
Dra. en Ciencias Biológicas.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

HOSPITAL UNIVERSITARIO CLINICO SAN CARLOS

A Miguelito

Agradecimientos

A lo largo de todos estos años de residencia, sin duda ha habido momentos complicados que han hecho que el camino sea más difícil. Situaciones que he podido sobrellevar gracias al apoyo incondicional de compañeros de trabajo, amigos y familiares. Todos ellos han contribuido en mi formación como oncólogo médico y han permitido que paso a paso logre los objetivos que me he ido trazando, como la culminación de mi tesis doctoral. Es por ello que quiero aprovechar este espacio para agradecer a todas aquellas personas que confiaron en mí y que de una u otra forma me han ayudado a que este difícil camino tenga un feliz término.

Al Profesor Eduardo Díaz-Rubio, director de esta tesis doctoral, gracias por confiar en mí y por estimularme a continuar progresando en mi carrera como oncólogo médico. Gracias por su paciencia y disponibilidad en el desarrollo de los trabajos que hemos realizado juntos y sobretodo por su ayuda constante para la finalización de mi tesis.

Al Dr. Javier Sastre, director de esta tesis y mi tutor durante la residencia, por todas sus enseñanzas que han contribuido enormemente en mi formación. Por la confianza depositada en mí, por impulsar mi continuo desarrollo profesional y por guiarme en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. María Luisa Maestro, directora de este trabajo de investigación, por aceptar realizar esta tesis bajo su dirección, por su apoyo y disponibilidad permanente a lo largo del desarrollo de la misma.

A los centros pertenecientes a la RTICC y al TTD, porque sin su participación no hubiese sido posible llevar a cabo este estudio.

A los adjuntos y personal de enfermería del Servicio de Oncología del Hospital Clínico San Carlos, por su inestimable ayuda a lo largo de todos estos años. En especial, a la Dra. Aránzazu Manzano por su amistad y por ayudarme a dar mis primeros pasos en el camino de la Oncología, al Dr. José Ángel García Sáenz por todas sus enseñanzas y por siempre confiar en mí, y al Dr. Fernando Moreno porque en el poco tiempo que lo conozco ha demostrado ser un verdadero amigo y maestro.

A mis compañeros residentes, por su amistad y ayuda a lo largo de todos estos años. Por hacer que los momentos difíciles sean llevaderos y por su disposición para ayudarme siempre que los he necesitado.

A Bárbara Sanchiz por toda su ayuda a lo largo del desarrollo de este trabajo y a la Dra. Cristina Fernández por su ayuda desinteresada en el análisis estadístico e interpretación de resultados de esta investigación.

A mis padres, por todo el amor que siempre me han brindado y por todo su esfuerzo para que yo pueda alcanzar cada uno de mis objetivos.

A mi hermano, por estar siempre que lo necesito, por ser amigo y parte fundamental en mi vida.

A mi hijo Miguelito, porque tu nacimiento ha sido un estímulo que me impulsa a ser mejor cada día y porque el amor que siento por ti ha sido mi herramienta fundamental para finalizar este trabajo.

A Dally, por su apoyo incondicional a lo largo de estos 5 años de residencia y en el desarrollo de esta tesis.

Y a todos aquellos que contribuyeron de alguna forma en mi formación como oncólogo médico y en la elaboración de este trabajo.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es la tercera neoplasia más común en varones, la segunda en mujeres y la cuarta causa de muerte por cáncer en el mundo. La incidencia de CCR en España está aumentando progresivamente, habiéndose estimado aproximadamente 32.000 casos nuevos en 2012.

La resección quirúrgica es el único tratamiento curativo para la enfermedad en estadios precoces. En aquellos pacientes que son sometidos a una resección potencialmente curativa, la recaída de la enfermedad se debe a la diseminación de células tumorales provenientes del tumor primario, las cuales pueden asentarse en órganos distantes y desarrollar metástasis. El objetivo del tratamiento adyuvante es erradicar estas células tumorales diseminadas y con esto incrementar la tasa de curación.

Los beneficios de la quimioterapia adyuvante han sido claramente demostrados en aquellos pacientes con CCR estadio III. El tratamiento estándar en estos pacientes es la quimioterapia basada en fluoropirimidinas y oxaliplatino, alcanzando una supervivencia libre de enfermedad (SLE) a 5 años de alrededor de 65%. No obstante, aunque este tratamiento supone un beneficio de aproximadamente 15% en SLE a 5 años, un 85% de los pacientes con CCR estadio III están sometidos a un sobretratamiento, bien por innecesario como

por ineficaz. Por tal motivo, son necesarios nuevos factores pronósticos de recidiva que nos permitan identificar que subgrupo de pacientes debe recibir quimioterapia adyuvante y que subgrupo debe continuar exclusivamente con vigilancia.

La presencia de células tumorales circulantes (CTC) ha demostrado tener implicaciones pronósticas y terapéuticas en cáncer de mama, colon y próstata. El sistema de detección de CTC CellSearch, desarrollado por Veridex, ha sido validado en diferentes estudios y actualmente está aprobado por la FDA para su uso en la práctica clínica.

Se ha explorado el papel de las CTC en el CCR metastásico, demostrando ser un predictor independiente de supervivencia libre de progresión y supervivencia global (SG). Hay datos que sugieren que la presencia de CTC en pacientes con cáncer de mama en estadios precoces es un fuerte factor pronóstico. Sin embargo, aunque se ha visto que los niveles de CTC se correlacionan con el estadio en el CCR, aun está por determinarse su papel en el escenario adyuvante.

El objetivo de este estudio es correlacionar los niveles de CTC con la SLE y SG, de tal manera que nos permita identificar, aquel subgrupo de pacientes con

CCR estadio III con alto riesgo de recaída en quienes deberíamos valorar estrategias terapéuticas agresivas y aquel subgrupo de buen pronóstico en quienes podríamos obviar la quimioterapia adyuvante y evitar las toxicidades asociadas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Es un estudio multicéntrico prospectivo, en el que se incluyeron 519 pacientes con CCR estadio III. La determinación de CTC fue realizada mediante la extracción de una muestra de sangre periférica entre 6 y 8 semanas después de la cirugía, inmediatamente antes de iniciar el tratamiento adyuvante. Las muestras fueron analizadas de forma centralizada en el laboratorio de Análisis Clínico del Hospital Clínico San Carlos, mediante la técnica CellSearch.

El seguimiento de los pacientes se realizó aproximadamente cada 6 meses según los protocolos de cada hospital. El primer análisis de este estudio estaba previsto a los 3 años de seguimiento. Un total de 472 pacientes fueron incluidos en este análisis. De los 47 pacientes restantes, 21 fueron excluidos por fallo de screening y los datos clínicopatológicos de 26 pacientes no estaban disponibles en el momento del análisis. Las variables dependientes del estudio son la SLE y la SG. La variable independiente es el recuento de CTC. El análisis estadístico fue realizado usando el SPSS versión 15.0 para Windows.

RESULTADOS

Del total de pacientes, 35 (7%) eran estadio IIIA, 346 (73%) estadio IIIB y 91 (19%) estadio IIIC. Recuentos de CTC ≥ 1 , ≥ 2 , ≥ 3 y ≥ 5 fueron detectados en 166 (35%), 93 (20%), 57 (12%) y 34 (7%) pacientes, respectivamente. La mediana de seguimiento fue 40 meses. Durante este periodo, 135 (29%) pacientes recayeron y 80 (18%) fallecieron. En la población global, la presencia de CTC ≥ 1 no se asoció a un incremento del riesgo de recaída (HR para SLE: 0.97, IC 95%: 0.68-1.38, $P = 0.85$) o muerte (HR para SG: 1.03, IC 95%: 0.66-1.59, $P = 0.89$). Los recuentos de CTC ≥ 2 , ≥ 3 y ≥ 5 tampoco se asociaron de forma significativa con peores resultados de SLE y SG.

La detección de CTC ≥ 1 fue significativamente más frecuente en pacientes con CCR estadio IIIC (IIIA 40%, IIIB 32%, IIIC 47%; $P = 0.016$), asimismo el porcentaje de recaídas fue mayor en este subgrupo (IIIA 21%, IIIB 17%, IIIC 58%). En pacientes con estadio IIIA, la presencia de CTC ≥ 1 y ≥ 2 estuvieron asociadas con un incremento del riesgo de recaída (CTC ≥ 1 vs < 1 : HR 1.62, IC 95%: 0.33-8.05, $P = 0.55$; CTC ≥ 2 vs < 2 : HR 1.93, IC 95%: 0.35-10.55, $P = 0.45$) y muerte (CTC ≥ 1 vs < 1 : HR 2.04, IC 95%: 0.46-9.16, $P = 0.35$; CTC ≥ 2 vs < 2 : HR 2.14, IC 95%: 0.47-9.69, $P = 0.32$), aunque la significación estadística no fue alcanzada, probablemente por el pequeño tamaño muestral de este subgrupo. Los

recuentos de CTC ≥ 1 y ≥ 2 no se asociaron con un incremento del riesgo de recaída o muerte en pacientes con CCR estadios IIIB y IIIC.

Con respecto a la SLE y la SG en pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC, no se observaron diferencias significativas al evaluarse los puntos de corte 3 CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) y 5 CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC).

CONCLUSIONES

- El punto de corte ≥ 3 CTC establecido en CCR metastásico no es el más adecuado para ser usado en CCR precoz, dada la escasez de CTC en este escenario. Teniendo en cuenta nuestros hallazgos y lo reportado en la literatura, nosotros sugerimos un recuento de CTC ≥ 1 como punto de corte óptimo a ser usado en futuros estudios en el escenario adyuvante del CCR.
- En pacientes con CCR estadio III, la presencia de CTC es más frecuente en aquel subgrupo de pacientes con mayor riesgo de recaída.
- En pacientes con CCR estadio IIIA, la detección de ≥ 1 CTC parece asociarse con una peor SLE y SG.

- Entre los pacientes con CCR estadio III, aquellos con estadio IIIA tienen el mejor pronóstico. De confirmarse nuestros hallazgos, podríamos identificar al subgrupo con CCR IIIA de mejor pronóstico en el que podríamos valorar no administrar quimioterapia adyuvante.
- Es necesario un mayor seguimiento de los pacientes incluidos en nuestro estudio para que podamos sacar conclusiones definitivas sobre el papel de las CTC en pacientes con CCR estadio III.

Palabras clave: cáncer colorrectal, estadio III, quimioterapia adyuvante, células tumorales circulantes, pronóstico.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is the third most common malignancy in men and the second most common in women, and constitutes the fourth cause of cancer death worldwide. CRC incidence is steadily increasing in Spain with about 32,000 estimated new cases in 2012. ¹

Surgical resection is the only curative treatment for the disease in early stages. ² In patients who undergo a potentially curative resection, recurrence of the disease is due to the spread of tumor cells from the primary tumor, which may seed in distant organs and develop metastases. The goal of adjuvant therapy is to eradicate these disseminated tumor cells and thereby increase the cure rate.

The benefits of adjuvant chemotherapy have been clearly demonstrated in patients with stage III CRC. The standard treatment in these patients is fluoropyrimidine and oxaliplatin-based chemotherapy, reaching a 5-year disease-free survival (DFS) of about 65%. ^{3,4} However, because this treatment provides a benefit of about 15% in the 5-year DFS, the remaining 85% of stage III CRC patients are subjected to an overtreatment that is unnecessary due to inefficiency. Therefore, new prognostic factors of recurrence that allow us to identify which subgroup of patients should receive adjuvant chemotherapy and which subgroup must continue exclusively with surveillance are needed.

The presence of circulating tumor cells (CTC) has been shown to have prognostic and therapeutic implications in breast, colon and prostate cancer. The detection system of CTC “CellSearch”, developed by Veridex, has been validated in several studies and is currently approved by the FDA for its use in clinical practice.⁵⁻²¹

The role of CTC in metastatic CRC has been explored, and has been proved to be an independent predictor of progression-free survival and overall survival (OS).^{14,16,18-20} Data suggest that CTC presence in patients with early-stage breast cancer is a strong prognostic factor.^{22,23} However, although it has been seen that CTC levels correlate with stage in CRC,²⁴ its role in the adjuvant setting has not yet been determined.

The aim of this study is to correlate CTC levels with DFS and OS, in order to identify the subgroup of stage III CRC patients at high risk for relapse, in whom aggressive treatment strategies should be considered, and the subgroup with good prognosis in whom we could obviate adjuvant chemotherapy and avoid the associated toxicities.

PATIENTS AND METHODS

This was a prospective multicenter study in which 519 patients with stage III CRC were included. CTC determination was performed by collecting a sample of peripheral blood between 6 and 8 weeks after surgery, just before starting adjuvant treatment. The samples were centrally analyzed in the Clinical Analysis Laboratory at the Hospital Clínico San Carlos, using the CellSearch technique.

Patient monitoring was performed approximately every 6 months according to the protocols of each hospital. The first analysis of this study was planned at 3 years follow-up. A total of 472 patients were included in this analysis. Of the remaining 47 patients, 21 were excluded due to failure of screening and clinicopathological data of 26 patients were not available at the time of analysis. The dependent variables of the study were DFS and OS. The independent variable was the CTC count. Statistical analysis was performed using SPSS version 15.0 for Windows.

RESULTS

Of all patients, 35 (7%) were stage IIIA, 346 (73%) stage IIIB and 91 (19%) stage IIIC. CTC ≥ 1 , ≥ 2 , ≥ 3 and ≥ 5 were detected in 166 (35%), 93 (20%), 57 (12%) and 34 (7%) patients, respectively. Median follow-up was 40 months.

During this period 135 (29%) patients relapsed and 80 (18%) died. In the overall population, the presence of CTC ≥ 1 was not associated with an increased risk of relapse (HR for DFS: 0.97, 95% CI: 0.68-1.38, $P = 0.85$) or death (HR for OS: 1.03, 95% CI: 0.66-1.59, $P = 0.89$). CTC ≥ 2 , ≥ 3 and ≥ 5 were not associated with worse DFS and OS.

CTC ≥ 1 was significantly more frequent in patients with stage IIIC (IIIA 40%, IIIB 32%, IIIC 47%; $P = 0.016$), also the relapse rate was higher in this subgroup (21% IIIA, IIIB 17%, 58% IIIC). In patients with stage IIIA, CTC ≥ 1 and ≥ 2 were associated with an increased risk of relapse (CTC ≥ 1 vs < 1 : HR 1.62, 95% CI: 0.33-8.05, $P = 0.55$; CTC ≥ 2 vs < 2 : HR 1.93, 95% CI: 0.35-10.55, $P = 0.45$) and death (CTC ≥ 1 vs < 1 : HR 2.04, 95% CI: 0.46-9.16, $P = 0.35$; CTC ≥ 2 vs < 2 : HR 2.14, 95% CI: 0.47-9.69, $P = 0.32$), although statistical significance was not reached, probably due to the small sample size in this subgroup. Detection of CTC ≥ 1 and ≥ 2 was not associated with an increased risk of relapse or death in patients with stage IIIB and IIIC.

Regarding DFS and OS in patients with stage IIIA, IIIB and IIIC, significant differences were not observed when evaluating the cutoff points 3 CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) and 5 CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC).

CONCLUSIONS

- The cutoff CTC ≥ 3 established in metastatic CRC is not the most suitable to use in early CCR, given the scarcity of CTC in this scenario.^{25,26} Considering our findings and those reported in the literature,²⁷ we suggest CTC ≥ 1 as the optimal cutoff point to be used in future studies in the adjuvant setting of CRC.
- In stage III CRC patients, the presence of CTC is more frequent in the subgroup of patients with higher risk of relapse.
- In stage IIIA CRC patients, the detection of CTC ≥ 1 appears to be associated with worse DFS and OS.
- In patients with stage III CRC, those with stage IIIA have the best prognosis. If our findings are confirmed, we could identify the subgroup of patients with IIIA CRC with a better prognosis in which we might consider not giving adjuvant chemotherapy.
- Further follow-up of the patients included in our study is necessary to draw definitive conclusions regarding the role of CTC in patients with stage III CRC.

BIBLIOGRAPHY

1. GLOBOCAN 2012. Available from: <http://globocan.iarc.fr>
2. Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, et al. Colon cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010;74:106–33.
3. André T, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009;27:3109–16.
4. Yothers G, O'Connell MJ, Allegra CJ, Kuebler JP, Colangelo LH, Petrelli NJ, et al. Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol* 2011;29:3768–74.
5. Dotan E, Cohen SJ, Alpaugh KR, Meropol NJ. Circulating tumor cells: evolving evidence and future challenges. *Oncologist* 2009;14:1070–82.
6. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:781–91.

7. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:1420–30.
8. Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res* 2006;12:4218–24.
9. Moreno JG, Miller MC, Gross S, Allard WJ, Gomella LG, Terstappen LW. Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer. *Urology* 2005;65:713–8.
10. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:6302–9.
11. Patel H, Le Marer N, Wharton RQ, Khan ZA, Araia R, Glover C, et al. Clearance of circulating tumor cells after excision of primary colorectal cancer. *Ann Surg* 2002;235:226–31.
12. Bessa X, Piñol V, Castellví-Bel S, Piazuelo E, Lacy AM, Elizalde JI, et al. Prognostic value of postoperative detection of blood circulating tumor cells in patients with colorectal cancer operated on for cure. *Ann Surg* 2003;237:368–75.

13. Allen-Mersh TG, McCullough TK, Patel H, Wharton RQ, Glover C, Jonas SK. Role of circulating tumour cells in predicting recurrence after excision of primary colorectal carcinoma. *Br J Surg* 2007;94:96–105.
14. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:3213–21.
15. Sastre J, Maestro ML, Puente J, Veganzones S, Alfonso R, Rafael S, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables. *Ann Oncol* 2008;19:935–8.
16. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2009;20:1223–9.
17. Miller MC, Doyle GV, Terstappen LW. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol* 2010;2010:617421–8.
18. Tol J, Koopman M, Miller MC, Tibbe A, Cats A, Creemers GJ, et al. Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol* 2010;21:1006–12.

19. Sastre J, Maestro ML, Gómez-España A, Rivera F, Valladares M, Massuti B, et al. Circulating tumor cell count is a prognostic factor in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors study. *Oncologist* 2012;17:947–55.
20. Sastre J, Vidaurreta M, Gómez A, Rivera F, Massuti B, López MR, et al. Prognostic value of the combination of circulating tumor cells plus KRAS in patients with metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy plus bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2013;12:280–6.
21. Martin M, Custodio S, de las Casas ML, García-Saenz JÁ, de la Torre JC, Bellón-Cano JM, et al. Circulating tumor cells following first chemotherapy cycle: an early and strong predictor of outcome in patients with metastatic breast cancer. *Oncologist* 2013;18:917–23.
22. Lucci A, Hall CS, Lodhi AK, Bhattacharyya A, Anderson AE, Xiao L, et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. *Lancet Oncol* 2012;13:688–95.
23. Franken B, de Groot MR, Mastboom WJ, Vermes I, van der Palen J, Tibbe AG, et al. Circulating tumor cells, disease recurrence and survival in newly diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012;14:R133.

24. Maestro LM, Sastre J, Rafael SB, Veganzones SB, Vidaurreta M, Martin M, et al. Circulating tumor cells in solid tumor in metastatic and localized stages. *Anticancer Res* 2009;29:4839-43.
25. Thorsteinsson M, Jess P. The clinical significance of circulating tumor cells in non-metastatic colorectal cancer--a review. *Eur J Surg Oncol* 2011;37:459-65.
26. Thorsteinsson M, Söletormos G, Jess P. Low number of detectable circulating tumor cells in non-metastatic colon cancer. *Anticancer Res* 2011;31:613-7.
27. Scholten L, Terstappen LW, van der Palen J, Mastboom W, Tibbe A, Vermes I, et al. Circulating tumor cells as a possible prognostic tool in newly diagnosed nonmetastatic colorectal cancer? *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2012;30:395.

Key words: colorectal cancer, stage III, adjuvant chemotherapy, circulating tumor cells, prognostic.

ABREVIATURAS

- CCR: Cáncer Colorrectal.
- RR: Riesgo Relativo.
- IC: Intervalo de Confianza.
- HR: Hazard Ratio.
- EPIC: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition.
- NIH: National Institutes of Health.
- AARP: American Association of Retired Persons.
- ADN: Acido Desoxirribonucleico.
- IMC: Indice de Masa Corporal.
- AINE: Antiinflamatorio no Esteroideo.
- APC: Adenomatous Polyposis Coli
- TC: Tomografía Computarizada.
- NCCN: National Comprehensive Cancer Network.
- ESMO: European Society for Medical Oncology.
- RM: Resonancia Magnética.
- PET: Tomografía por Emisión de Positrones.
- CEA: Antígeno Carcinoembrionario.
- TNM: Sistema de estadificación Tumor-Node-Metastases.
- AJCC: American Joint Committee on Cancer.
- UICC: Union for International Cancer Control.
- SEER: Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales.
- SLE: Supervivencia Libre de Enfermedad.
- SG: Supervivencia Global.

- 5FU: 5-Fluorouracilo.
- ABCSG: Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group.
- LV: Leucovorin.
- FOLFOX: Combinación de Oxaliplatino, Leucovorin, 5-Fluorouracilo en bolo e infusión continua.
- FLOX: Combinación de Oxaliplatino, Leucovorin y 5-Fluorouracilo en bolo.
- NSABP: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project.
- ASCO: American Society of Clinical Oncology.
- MMR: Proteínas Reparadoras del ADN.
- MSI: Inestabilidad de Microsatélites.
- RPMI: Roswell Park Memorial Institute.
- GERCOR: Grupo Francés para la Investigación en Oncología.
- XELOX: Combinación de Capecitabina y Oxaliplatino.
- FOLFIRI: Combinación de Irinotecan, Leucovorin, 5-Fluorouracilo en bolo e infusión continua.
- CALGB: Cancer and Leukemia Group B.
- IFL: Combinación de Irinotecan, Leucovorin y 5-Fluorouracilo en bolo.
- KRAS: v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog.
- CTC: Células Tumorales Circulantes.
- EpCAM: Moléculas de Adhesión Celular.
- DAPI: 4',6-diaminodino-2-phenylindole.
- CK-PE: Citoqueratinas.
- RT-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa.
- HER2: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico Humano 2.

- MUC1: Mucin 1.
- PSA: Antígeno Prostático Específico.
- PSMA: Antígeno de Membrana Prostático Específico.
- EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico.
- CMM: Cáncer de Mama Metastásico.
- SLP: Supervivencia Libre de Progresión.
- CPRCm: Cáncer de Próstata Metastásico Resistente a la Castración.
- RTICC: Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer.
- TTD: Grupo Español para el Tratamiento de Tumores Digestivos.
- CRD: Cuaderno de Recogida de Datos.
- ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.
- EE: Error Estándar.
- BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homologue B1.
- PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase.
- RNA: Acido Ribonucleico.

ÍNDICES

ÍNDICE DE CONTENIDOS	Página
RESUMEN	I
ABSTRACT	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Cáncer de colon	3
1.1.1 Epidemiología	3
1.1.2 Factores de riesgo	7
a. Edad	7
b. Dieta	8
c. Obesidad y estilo de vida	15
d. Alcohol y tabaco	16
e. Fármacos	18
f. Enfermedad inflamatoria intestinal	20
g. Síndromes hereditarios asociados al CCR	22
1.1.3 Presentación clínica	25
1.1.4 Diagnóstico	28
a. Colonoscopia	28
b. Pruebas de imagen	28
c. Marcadores tumorales	30
1.1.5 Estadificación	31
1.1.6 Tratamiento	38

a. Tratamiento quirúrgico	38
b. Quimioterapia adyuvante	39
b.1 Quimioterapia adyuvante en cáncer de colon estadio II	39
b.2 Quimioterapia adyuvante en cáncer de colon estadio III	48
1.2 Células tumorales circulantes	57
1.2.1 Métodos de detección de CTC	58
1.2.2 Células tumorales circulantes en cáncer de mama	62
1.2.3 Células tumorales circulantes en cáncer de próstata	65
1.2.4 Células tumorales circulantes en cáncer de colon	67
2. HIPÓTESIS	71
3. OBJETIVOS	75
4. PACIENTES Y MÉTODOS	79
4.1 Diseño del estudio	81
4.2 Consideraciones éticas	81
4.3 Pacientes	82
4.3.1 Criterios de inclusión	85
4.3.2 Criterios de exclusión	86
4.3.3 Tamaño muestral	86
4.4 Tratamiento y seguimiento	87
4.5 Procedimientos del estudio	88
4.5.1 Procedimiento de obtención y envío de muestras	88
4.5.2 Procesamiento de las muestras y técnicas utilizadas	88
4.5.3 Laboratorio central	89

4.6 Recogida de datos	89
4.7 Análisis estadístico	90
5. RESULTADOS	93
5.1 Características de los pacientes	95
5.1.1 Sexo y edad	96
5.1.2 Localización del tumor	96
5.1.3 Grado de diferenciación histológica	97
5.1.4 Obstrucción / perforación	97
5.1.5 Invasión linfovascular	98
5.1.6 Número de ganglios resecaados	100
5.1.7 Estadio	101
5.1.8 Tratamiento	103
5.1.9 Seguimiento	105
5.2 Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en la población total	107
5.3 Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en función del número de CTC en la población global	109
5.3.1 Punto de corte 1 CTC	109
5.3.2 Punto de corte 2 CTC	111
5.3.3 Punto de corte 3 CTC	113
5.3.4 Punto de corte 5 CTC	115
5.4 Análisis estratificado por estadios	118
5.4.1 Punto de corte 1 CTC	118

5.4.2 Punto de corte 2 CTC	123
5.4.3 Punto de corte 3 CTC	128
5.4.4 Punto de corte 5 CTC	131
5.5 Análisis univariable de factores de riesgo y otras variables clínicas	134
5.6 Análisis multivariable	140
6. DISCUSIÓN	145
7. CONCLUSIONES	157
8. BIBLIOGRAFÍA	161

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1: Casos nuevos y muertes por cáncer en el mundo, estimados en 2012.	3
Figura 2: Tasas de incidencia y mortalidad de CCR por sexo y región del mundo.	4
Figura 3: Diagrama de flujo de los pacientes del estudio.	95
Figura 4: Distribución de los pacientes según la localización del tumor primario.	96
Figura 5: Distribución de los pacientes según el grado de diferenciación histológica del tumor primario.	97
Figura 6: Distribución de los pacientes según la presencia de obstrucción/perforación.	98
Figura 7: Distribución de los pacientes según la presencia de infiltración de vasos linfáticos.	99
Figura 8: Distribución de los pacientes según la presencia de infiltración vascular.	100
Figura 9: Distribución de los pacientes según el número de ganglios resecados.	101
Figura 10: Distribución de los pacientes según el estadio T.	102
Figura 11: Distribución de los pacientes según el estadio N.	102
Figura 12: Distribución de los pacientes por estadios.	103

Figura 13: Distribución de los pacientes en función de la actitud terapéutica.	104
Figura 14: Distribución de los pacientes en función del esquema de quimioterapia usado.	105
Figura 15: Distribución de los pacientes en función de la evidencia de recaída.	106
Figura 16: Distribución de los pacientes en función del estado en el momento del análisis.	107
Figura 17: Supervivencia libre de enfermedad en la población global.	108
Figura 18: Supervivencia global en la población global.	108
Figura 19: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs \geq 1 CTC).	110
Figura 20: Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs \geq 1 CTC).	111
Figura 21: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC).	112
Figura 22: Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC).	113
Figura 23: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 3 CTC vs \geq 3 CTC).	114
Figura 24: Supervivencia global en función del número de CTC (< 3 CTC vs \geq 3 CTC).	115

Figura 25: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 5 CTC vs \geq 5 CTC).	116
Figura 26: Supervivencia global en función del número de CTC (< 5 CTC vs \geq 5 CTC).	117
Figura 27: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs \geq 1 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.	120
Figura 28: Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs \geq 1 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.	121
Figura 29: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.	125
Figura 30: Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.	126

ÍNDICE DE TABLAS	Página
Tabla 1: Incidencia y mortalidad del CCR por regiones del mundo y en España.	6
Tabla 2: Categorías del tumor primario según la 7 ^o edición del TNM.	33
Tabla 3: Categorías del estado ganglionar según la 7 ^o edición del TNM.	34
Tabla 4: Categorías de la enfermedad metastásica según la 7 ^o edición del TNM.	35
Tabla 5: Estadios del CCR según la 7 ^o edición del TNM.	36
Tabla 6: Tasa de supervivencia relativa a 5 años en cáncer de colon según datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER).	37
Tabla 7: Pacientes con ≥ 1 CTC por estadios.	118
Tabla 8: Pacientes con recaída por número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) y estadio.	119
Tabla 9: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	122
Tabla 10: Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	122
Tabla 11: Pacientes con ≥ 2 CTC por estadios.	123
Tabla 12: Pacientes con recaída por número de CTC (< 2 CTC vs ≥ 2 CTC) y estadio.	124

Tabla 13: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs ≥ 2 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	127
Tabla 14: Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs ≥ 2 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	127
Tabla 15: Pacientes con ≥ 3 CTC por estadios.	128
Tabla 16: Pacientes con recaída por número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) y estadio.	129
Tabla 17: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	130
Tabla 18: Supervivencia global en función del número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	130
Tabla 19: Pacientes con ≥ 5 CTC por estadios.	131
Tabla 20: Pacientes con recaída por número de CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC) y estadio.	132
Tabla 21: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	133
Tabla 22: Supervivencia global en función del número de CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.	133
Tabla 23: Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad (variables clínicas).	135

Tabla 24: Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad (factores de riesgo).	136
Tabla 25: Análisis univariable de la supervivencia global (variables clínicas).	138
Tabla 26: Análisis univariable de la supervivencia global (factores de riesgo).	139
Tabla 27: Análisis multivariable de la supervivencia libre de enfermedad.	141
Tabla 28: Análisis multivariable de la supervivencia global.	143

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Cáncer de colon

1.1.1 Epidemiología

El cáncer colorrectal (CCR) es la tercera neoplasia mas común en varones y la segunda en mujeres, con 746.000 y 614.000 casos nuevos estimados en 2012, respectivamente. Es la cuarta causa de muerte por cáncer, habiéndose estimado 694.000 muertes por CCR en 2012, representando el 8.5% de muertes por cáncer en el mundo (Figura 1).¹

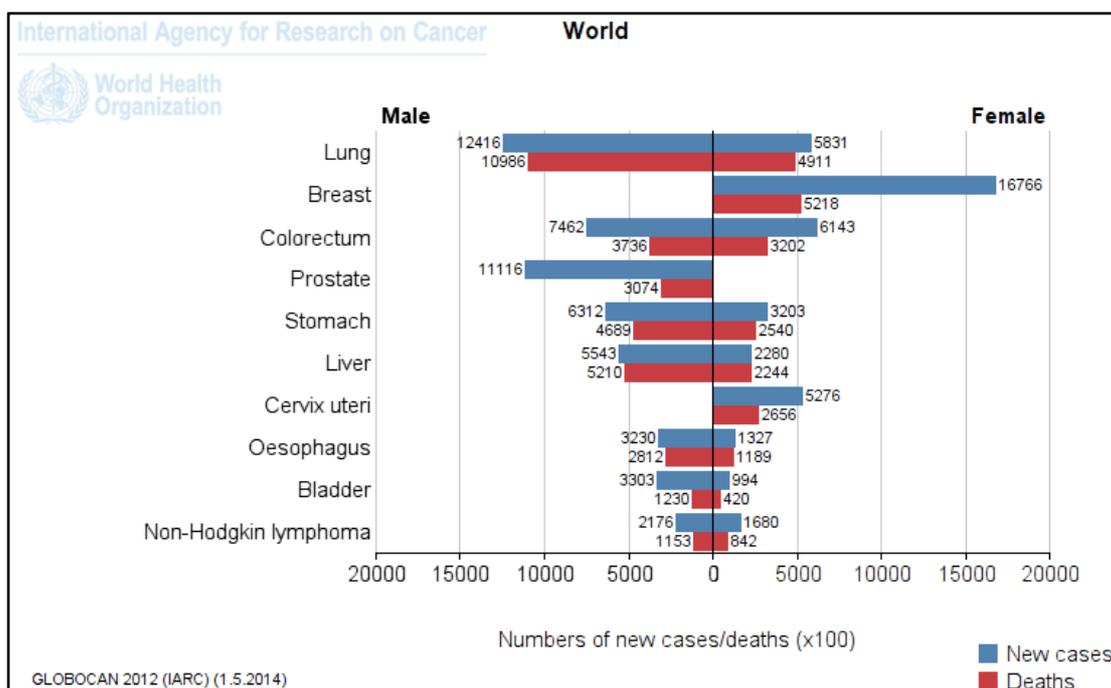


Figura 1: Casos nuevos y muertes por cáncer en el mundo, estimados en 2012.¹

Las tasas de incidencia mas altas de CCR se encuentran en Australia/Nueva Zelanda, Europa y América del Norte, mientras que las tasas de

incidencia mas bajas se encuentran en África y Sur-Centro de Asia (Tabla 1), siendo estas tasas de incidencia sustancialmente más altas en hombres que en mujeres (Figura 2).¹

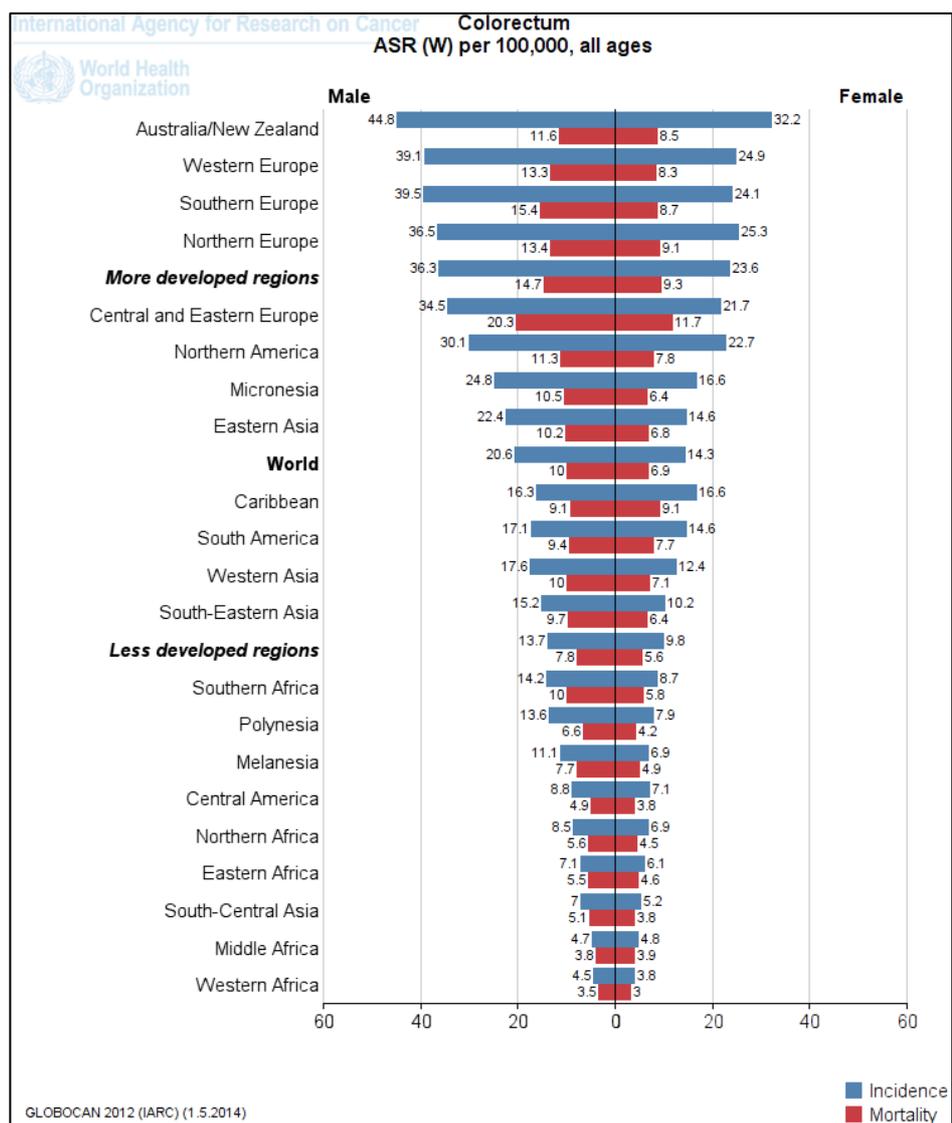


Figura 2: Tasas de incidencia y mortalidad de CCR por sexo y región del mundo.¹

Se ha reportado que la incidencia de CCR en España y otros países de Europa está aumentando rápidamente, lo cual parece estar relacionado con una combinación de factores como cambios en la dieta, la obesidad y el hábito

tabáquico.^{2,3} En España, también es la tercera neoplasia mas común en varones y la segunda en mujeres, estimándose en 2012, 19.261 y 12.979 casos nuevos, respectivamente. Se estima que se diagnostiquen 34,096 casos nuevos de CCR en el año 2015 y 37.229 en el 2020.¹

En cuanto a la mortalidad por CCR, la tasa de mortalidad mas alta se encuentra en Europa Central y del Este, mientras que la tasa de mortalidad mas baja se encuentra en África Occidental (Tabla 1). Se ha visto, que las tasas de mortalidad por CCR han ido disminuyendo en varios países occidentales,^{3,4} como resultado de un incremento en la detección precoz y una mejoría progresiva en los tratamientos.⁵

El CCR es la segunda causa de muerte por cáncer en España, con 14.700 muertes por CCR en 2012, representando el 14% del total de muertes por cáncer. Se estima que en 2015 y 2020 se producirán 15.501 y 16.838 muertes por CCR, respectivamente.¹

Tabla 1. Incidencia y mortalidad del CCR por regiones del mundo y en España (tasas anuales ajustadas por edad por 100.000 habitantes). ¹

Población	Incidencia de CCR	Mortalidad por CCR
Australia/Nueva Zelanda	38.2	10.0
Europa Occidental	31.4	10.6
Europa Sur	31.1	11.7
Europa Norte	30.4	11.1
Europa Central y Oriental	26.6	14.9
América del Norte	26.1	9.4
América del Sur	15.7	8.5
América Central	8.0	4.3
Asia Oriental	18.4	8.4
Asia Sur-Este	12.5	7.9
Asia Occidental	14.8	8.4
Asia Sur-Centro	6.1	4.4
África Sur	10.9	7.4
África Norte	7.6	5.0
África Oriental	6.5	5.0
África Occidental	4.1	3.3
África Central	4.8	3.9
España	33.1	12.3

1.1.2 Factores de riesgo

Se han descrito múltiples factores de riesgo ambientales o genéticos que pueden incrementar la probabilidad de desarrollo de CCR, como son: la edad, la dieta, la obesidad, el hábito tabáquico, el consumo excesivo de alcohol, la enfermedad inflamatoria intestinal y síndromes hereditarios como la poliposis adenomatosa familiar y el cáncer colorrectal hereditario no polipósico.⁶⁻⁹ En este punto, es importante resaltar que el cáncer de colon es generalmente esporádico y que sólo en el 5% de los casos es hereditario.¹⁰

a. Edad

La edad es uno de los factores de riesgo mas relevantes para el desarrollo de CCR. El riesgo de desarrollar CCR se incrementa a partir de los 40 años y este incremento es más marcado a partir de los 50 años, de tal manera que más del 90% de los cánceres colorrectales son diagnosticados en pacientes mayores de 50 años.⁶

En un análisis de datos de un estudio prospectivo que incluyó 150.192 mujeres postmenopáusicas, se observó que la edad fue un factor fuerte e independientemente asociado con el riesgo de desarrollar cáncer de colon (hazard ratio (HR) 1,94; IC 95%: 1,79-2,11; $P < 0,001$).¹¹

b. Dieta

La dieta es el factor exógeno más importante en la etiología del CCR, ¹² por lo que una optimización en la dieta podría potencialmente ayudarnos a reducir el riesgo de desarrollar esta neoplasia.

- Carne roja

Hay evidencia en la literatura que demuestra que una dieta rica en carnes rojas se asocia con un mayor riesgo de CCR, ^{13,14} a diferencia de una dieta rica en pescado y aves de corral, con la cual, una reducción del riesgo de desarrollar CCR parece observarse. ¹⁵⁻²¹

Este incremento del riesgo de desarrollar CCR con la ingesta de carnes rojas parece ser dosis dependiente, ²² lo cual explicaría que existan estudios que no encuentran asociación estadística entre la ingesta de carne roja y el CCR. ²³ En un gran estudio prospectivo que incluyó una cohorte de 300.948 pacientes, ²² se observó que una ingesta alta de carne roja incrementaba significativamente el riesgo de desarrollar CCR (HR 1,24; IC 95%: 1,09-1,42; $P < 0,001$), comparado con una ingesta baja.

Hay datos que sugieren que el hierro hemínico, los nitratos y nitritos, y las aminas heterocíclicas presentes en la carne roja y procesada, podrían ser

potenciales mecanismos que explicarían la asociación entre la ingesta de carne roja y el CCR. ^{22,24,25} Datos disponibles en la literatura apoyan la asociación entre el hierro hemínico y el CCR. ²⁶⁻²⁸ A diferencia de las carnes blancas, en las carnes rojas hay un mayor contenido de hierro hemínico, por lo que un mayor consumo de estas últimas puede incrementar el riesgo de desarrollar CCR. ^{29,30}

En una revisión sistemática de estudios de cohorte, ³¹ se observó que una dieta que incluye carne roja y procesada se asocia con un elevado riesgo de desarrollar CCR, mientras que una dieta basada en vegetales, frutas, pescado y aves de corral, se muestra como un factor protector contra el CCR.

- Grasas

Si bien, múltiples publicaciones sugieren que una alta ingesta de grasas incrementa el riesgo de CCR, los estudios llevados a cabo en este escenario nos muestran resultados contradictorios.

En un estudio prospectivo que incluyó 88.751 mujeres, ¹⁵ se observó que una ingesta alta de grasas se asoció con un incremento significativo del riesgo de CCR (riesgo relativo (RR) 1,89; IC 95%: 1,13-3,15; $P = 0,01$), comparado con una ingesta baja. En otro estudio llevado a cabo por Fung y cols., ³² que incluyó más de 130.000 pacientes, se observó que una dieta que incluía un aporte bajo en grasas, se asoció significativamente con una reducción del riesgo de desarrollar

CCR (RR 0,80; IC 95%: 0,70-0,91; $P = 0,0001$). Sin embargo, el estudio randomizado Women's Health Initiative Dietary Modification,³³ que incluyó 48.835 mujeres postmenopáusicas no demostró este beneficio. En este estudio la ingesta de una dieta baja en grasas no se asoció a una reducción del riesgo de CCR (HR 1,08; IC 95%: 0,90-1,29). Asimismo, en el metaanálisis llevado a cabo por Alexander y cols.,³⁴ no se encontró asociación significativa entre la alta ingesta de grasas animales y el riesgo de desarrollar CCR (RR 1,04; IC 95%: 0,83-1,31; $P = 0,22$).

Teniendo en cuenta la falta de consistencia en los resultados de los diferentes estudios, el papel de las grasas saturadas como factor de riesgo para el desarrollo de CCR aún sigue siendo controvertido.

- Leche y productos lácteos

En la actualidad hay evidencia que sugiere que la alta ingesta de leche y productos lácteos reduce el riesgo de desarrollar cáncer de colon,³⁵⁻³⁷ aunque no parece ser un factor protector para el desarrollo de cáncer de recto.^{35,37} En un metaanálisis que incluyó 26.335 casos de 60 estudios observacionales,³⁷ se observó que una alta ingesta de leche (RR 0,78; IC 95%: 0,67-0,92) y una alta ingesta de productos lácteos (RR 0,84; IC 95%: 0,75-0,95) se asociaron a una reducción significativa del riesgo de cáncer de colon, sin embargo la ingesta de leche no se relacionó con el riesgo de cáncer de recto.

Si bien, se ha visto en múltiples estudios que una dieta que incluya un alto aporte de calcio parece reducir el riesgo de CCR, ³⁶⁻⁴⁰ el efecto protector observado con la ingesta de leche y productos lácteos no parece ser exclusivamente debido al calcio. ³⁵

- Fibra, frutas y vegetales

La hipótesis de que la alta ingesta de fibra, frutas y vegetales podría ser un factor protector contra el desarrollo de CCR, ha sido evaluada en múltiples estudios con resultados contradictorios.

En un metaanálisis llevado a cabo por Aune y cols., ⁴¹ se observó que la alta ingesta de fibra dietética se asoció significativamente con una reducción del riesgo de CCR (RR 0,88; IC 95%: 0,82-0,94).

Terry y cols., ⁴² llevaron a cabo un estudio que incluyó 61.463 mujeres, en el cual se observó que un bajo consumo de frutas y vegetales se asoció con un mayor riesgo de CCR (RR 1,65; IC 95%: 1,23-2,20; $P = 0,001$), comparado con un alto consumo de frutas y vegetales. Sin embargo no se encontró asociación estadística entre el consumo de fibra dietética y el riesgo de CCR.

En un gran estudio observacional,⁴³ que incluyó 519.978 participantes de la cohorte European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC),

se observó que una alta ingesta de fibra de los alimentos redujo significativamente el riesgo de CCR (RR 0,58; IC 95%: 0,41-0,85), en comparación con una baja ingesta de fibra de los alimentos. En otro gran estudio, que incluyó 452.755 participantes de la cohorte EPIC,⁴⁴ se observó que un alto consumo de frutas y vegetales se asoció a una reducción significativa del riesgo de desarrollar CCR (HR 0,86; IC 95%: 0,75-1,00; $P = 0,04$), comparado con un bajo consumo de frutas y vegetales.

Por otro lado, varios estudios no confirman este efecto protector de la fibra dietética, frutas y vegetales⁴⁵⁻⁴⁸. En el estudio prospectivo NIH-AARP Diet and Health,⁴⁸ que incluyó más de 489.000 participantes, una alta ingesta de fibra dietética no se asoció a una reducción del riesgo de CCR (RR 0,99; IC 95%: 0,85-1,15; $P = 0,96$), comparado con una baja ingesta de fibra dietética. Similarmente, en un análisis combinado de 13 estudios prospectivos que incluyó 725.628 varones y mujeres,⁴⁷ la alta ingesta de fibra dietética no se asoció significativamente con una reducción del riesgo de CCR (RR 0,94; IC 95%: 0,86-1,03). Además no se encontró asociación estadística entre la ingesta de fibra proveniente de cereales, frutas y vegetales, y el riesgo de CCR.

A pesar de estos resultados contradictorios, dado el importante beneficio demostrado con la ingesta de fibra en otros tumores y patologías crónicas,^{49,50} y teniendo en cuenta que no se puede descartar un efecto protector contra el riesgo de CCR, parece recomendable una dieta que incluya fibra dietética, frutas y vegetales.

- Calcio y vitamina D

Datos actualmente disponibles apoyan la hipótesis de que el calcio y la vitamina D podrían tener un efecto protector contra el desarrollo de CCR.

En un metaanálisis llevado a cabo por Gorham y cols.,⁵¹ se observó que una ingesta ≥ 1000 UI/día de vitamina D ($P < 0,0001$) y niveles séricos de 25-hidroxivitamina D ≥ 33 ng/mL ($P < 0,01$), se asociaron con una reducción del riesgo de desarrollar CCR. Similarmente, otro metaanálisis encontró que niveles más altos de 25-hidroxivitamina D se asociaron con una reducción del riesgo de CCR (odds ratio (OR) 0,49; IC 95%: 0,35-0,68; $P < 0,0001$).⁵²

Varios estudios prospectivos han encontrado que el calcio tiene un efecto protector contra el riesgo de CCR.⁵³⁻⁵⁵ Asimismo, en un metaanálisis llevado a

cabo por Cho y cols, ³⁶ que incluyó 534.536 participantes, se observó que la ingesta de calcio fue inversamente relacionada con el riesgo de desarrollar CCR (RR 0,78; IC 95%: 0,69-0,88; P < 0,001).

- Acido Fólico

Han sido descritos algunos mecanismos a través de los cuales el ácido fólico podría prevenir la carcinogénesis, como son la síntesis, la reparación y la metilación del ADN. ^{56,57}

En un estudio prospectivo que incluyó 88.756 mujeres, ⁵⁸ se observó que el uso a largo plazo de multivitamínicos que contenían ácido fólico se asoció a una reducción del riesgo de cáncer de colon (RR 0,25; IC 95%: 0,13-0,51). Similares resultados fueron observados en el estudio Cancer Prevention Study II cohort, ⁵⁹ en el que se incluyeron 806.397 participantes, encontrándose que el uso a largo plazo de multivitamínicos que contienen ácido fólico, redujo el riesgo de mortalidad por cáncer de colon (RR 0,89; IC 95%: 0,80-0,99).

Estos hallazgos son apoyados por los resultados de un gran metaanálisis llevado a cabo por Sanjoaquin y cols., ⁶⁰ en el que se observó que un mayor

consumo de folatos provenientes de los alimentos se asoció significativamente con una reducción del riesgo de CCR (RR 0,75; IC 95%: 0,64-0,89).

Teniendo en cuenta estos resultados, se puede concluir que una dieta rica en folatos podría ayudarnos a reducir el riesgo de desarrollar CCR.

c. Obesidad y estilo de vida

Múltiples estudios han asociado la obesidad con un incremento en el riesgo de desarrollar CCR.⁶¹

En un metaanálisis llevado a cabo por Harriss y cols.,⁶² se observó que un mayor índice de masa corporal (IMC) se asoció con un incremento del riesgo de cáncer de colon (RR 1,24; IC 95%: 1,20-1,28) y recto (RR 1,09; IC 95%: 1,05-1,14) en varones, y de cáncer de colon (RR 1,09; IC 95%: 1,04-1,12) en mujeres. En otro metaanálisis que incluyó 7.213.335 participantes de 56 estudios observacionales,⁶³ se observó que un IMC \geq 30 se asoció con un incremento de 41% del riesgo de desarrollar CCR, comparado con IMC $<$ 23. Finalmente, un reciente metaanálisis que incluyó 9.000.000 de participantes confirma estos hallazgos.⁶⁴ Ma y cols., encontraron que un IMC en rango de obesidad

incrementó significativamente el riesgo de CCR (RR 1,334; IC 95%: 1,253-1,420), comparado con IMC en rango de normalidad.

Por otro lado, existe evidencia que apoya una asociación inversa entre la actividad física y riesgo de CCR. Giovannucci y cols.,⁶⁵ llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que se encontró que un alto nivel de actividad física se asoció con una reducción del riesgo de desarrollar cáncer de colon (RR 0,53; IC 95%: 0,32-0,88; $P = 0,03$), comparado con un bajo nivel de actividad física. Asimismo, en un metaanálisis de 52 estudios,⁶⁶ se observó que la actividad física se asoció inversamente con el riesgo de cáncer de colon (RR 0,76; IC 95%: 0,72-0,81). Estos resultados se confirman en un reciente metaanálisis,⁹ en el que Johnson y cols. encontraron que la actividad física se asoció significativamente con una reducción del riesgo de CCR (RR 0,88; IC 95%: 0,86-0,91).

d. Alcohol y tabaco

Se han propuesto algunos mecanismos por los que el excesivo consumo de alcohol podría estar relacionado con el desarrollo de CCR. Estos incluyen la reducción de niveles de folato, la alteración en la metilación del ADN, el retraso en la reparación del ADN, la alteración de la composición de las sales biliares y la inducción del citocromo p450 para estimular la carcinogénesis.⁶⁷⁻⁶⁹

En efecto, varios estudios han encontrado una asociación entre el consumo de alcohol y el riesgo de desarrollar CCR.⁷⁰⁻⁷³ En un estudio que incluyó una cohorte de 47.931 participantes,⁷⁰ se encontró que un mayor consumo diario de alcohol se asoció a un mayor riesgo de CCR (RR 2,07; IC 95%: 1,29-3,32; $P = 0,005$). Similarmente, en un metaanálisis de 8 estudios de cohorte,⁷¹ que incluyó 489.979 varones y mujeres, se observó que un consumo de alcohol ≥ 45 g/día se asoció significativamente con incremento del riesgo de CCR (RR 1,41; IC 95%: 1,16-1,72), comparado con no bebedores. Estos resultados han sido confirmados en el metaanálisis llevado a cabo por Mizoue y cols., en el que se encontró, que en varones, un consumo de alcohol de 23-45,9 g/día incrementó significativamente el riesgo de desarrollar CCR (RR 1,42; IC 95%: 1,21-1,66; $P < 0,001$), en comparación con no bebedores.

Asimismo, existen datos que demuestran una asociación entre el consumo de tabaco y el riesgo de CCR.^{9,74-81} Otani y cols. llevaron a cabo un estudio en el que se encontró que el riesgo de CCR entre los varones, fue significativamente superior en la población fumadora (RR 1,4; IC 95%: 1,1-1,8), comparado con la población no fumadora.⁷⁷ En un estudio que incluyó 68.160 mujeres de la cohorte Norwegian Women and Cancer Study,⁸⁰ se observó que las mujeres que en algún momento fueron fumadoras (fumadoras y exfumadoras) tuvieron un incremento del 20% del riesgo de desarrollar CCR (RR 1,2; IC 95%: 1,0-1,5), comparado con aquellas mujeres que nunca habían fumado. En esta misma línea,

un reciente metaanálisis nos aporta datos interesantes; ⁹ Jonhson y cols encontraron una asociación significativa entre el consumo de tabaco y el riesgo de CCR, siendo mayor el riesgo entre aquellos con un mayor consumo de tabaco. En comparación con no fumadores, hubo un incremento del riesgo de 11%, 21% 26% asociado al consumo de 10 paquetes-año, 20 paquetes-año y 30 paquetes-año, respectivamente.

En resumen, estos resultados nos sugieren que una reducción en el consumo de tabaco y alcohol podría contribuir a la prevención del CCR.

e. Fármacos

- Terapia hormonal sustitutiva

La terapia hormonal sustitutiva se ha asociado a una reducción del riesgo de desarrollar CCR. ^{11,82-84} En un estudio prospectivo que incluyó 59.002 participantes, ⁸² se encontró que el uso de terapia hormonal sustitutiva se asoció a una reducción del 35% del riesgo de CCR (RR 0,65; IC 95%: 0,50-0,83), aunque este beneficio disminuyó tras el cese de la terapia hormonal postmenopáusica.

En un estudio mas reciente, ¹¹ llevado a cabo por Hartz y cols., se observó que el uso reciente de terapia hormonal sustitutiva se asoció a una reducción significativa del riesgo de desarrollar CCR (RR 0,70; IC 95%: 0,62-0,80).

Si bien, existe evidencia que apoya este efecto protector contra el riesgo de CCR, en la actualidad la terapia hormonal sustitutiva no esta indicada para este fin.

- Antiinflamatorios no esteroideos

El uso de aspirina y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), también se ha asociado con una reducción del riesgo de CCR en múltiples estudios. ⁸⁵⁻⁹⁰

En un estudio prospectivo que incluyó 82.911 mujeres, ⁸⁶ se observó que el uso regular de aspirina se asoció a una reducción del riesgo de desarrollar CCR (RR 0,77; IC 95%: 0,67-0,88), en comparación con aquellas mujeres que no usaban aspirina regularmente, aunque ese beneficio se alcanzó tras más de 10 años de uso del fármaco. Además se observó que el uso regular de otros AINEs también se asoció a una reducción del riesgo de CCR (RR 0,79; IC 95%: 0,64-0,97), en comparación con aquellas mujeres que no usaban AINEs regularmente.

Tanto en el caso de la aspirina ($P < 0,001$) como en el caso de otros AINEs ($P = 0,007$), este beneficio fue dosis dependiente. En otro estudio que incluyó mas de 146.000 participantes,⁸⁷ se observó que el uso diario de aspirina a largo plazo se asoció a una más baja incidencia de CCR (RR 0,68; IC 95%: 0,52-0,90). Similarmente, en un metaanálisis de 5 ensayos randomizados,⁹⁰ se encontró que el uso de aspirina por 5 años o más, redujo el riesgo de cáncer de colon proximal (HR 0,35; IC 95%: 0,20-0,63; $P < 0,0001$) y cáncer rectal (HR 0,58; IC 95%: 0,36-0,92; $P = 0,02$).

Estos resultados sugieren que para alcanzar este beneficio es necesario un uso a largo plazo de aspirina u otros AINEs, por lo que también debería considerarse el riesgo de hemorragia digestiva alta asociado a estos medicamentos.

f. Enfermedad inflamatoria intestinal

La enfermedad inflamatoria intestinal es un importante factor de riesgo para el desarrollo de CCR, aunque los mecanismos moleculares exactos por los cuales la inflamación promueve el desarrollo de cáncer aún están siendo estudiados.⁹¹⁻⁹⁷

Ekbom y cols. llevó a cabo un estudio en el que 1655 pacientes con enfermedad de Crohn fueron incluidos, ⁹⁸ encontrándose un importante incremento del riesgo de desarrollar cáncer de colon entre estos pacientes (RR 5,6; IC 95%: 2,1-12,2). Similarmente, en un estudio que incluyó 3117 pacientes con colitis ulcerosa, ⁹⁹ se observó, que en comparación con la incidencia esperada, hubo un incremento en la incidencia de CCR entre estos pacientes (razón de incidencia estandarizada 5,7; IC 95%: 4,6-7,0).

En otro estudio que incluyó 2857 pacientes con enfermedad de Crohn y 2672 pacientes con colitis ulcerosa, ¹⁰⁰ se observó que hubo un incremento del riesgo de cáncer de colon asociado tanto a la enfermedad de Crohn (RR 2,64; IC 95%: 1,69-4,12) como a la colitis ulcerosa (RR 2,75; IC 95%: 1,91-3,97), aunque no se encontraron diferencias significativas entre ambas patologías.

Finalmente, un reciente metaanálisis llevado a cabo por Johnson y cols, ⁹ confirma los hallazgos previos, encontrando que la enfermedad inflamatoria intestinal es un factor asociado a un alto riesgo de desarrollar CCR (RR 2,93; IC 95%: 1,79-4,81).

g. Síndromes hereditarios asociados al CCR

De los síndromes hereditarios asociados al CCR los mas frecuentes son el síndrome de Lynch y la poliposis adenomatosa familiar.¹⁰¹

- Cáncer de colon hereditario no polipósico

El cáncer de colon hereditario no polipósico, también conocido como síndrome de Lynch, es una de las causas mas comunes de predisposición hereditaria para desarrollar CCR (1 por cada 300 pacientes diagnosticados de CCR), siendo responsable del 1%-4% de todos los CCR y hasta un 10% de CCR en pacientes menores de 50 años.¹⁰²

El cáncer de colon hereditario no polipósico es un síndrome autosómico dominante causado por una mutación de línea germinal en uno de los genes reparadores del DNA, MSH2, MLH1, MSH6 o PMS2. Las mutaciones patógenas en cualquiera de estos genes puede llevar a inestabilidad de microsatélites y la creación de un “fenotipo mutador”, en el cual las células pueden acumular mutaciones en otros genes que contribuyen a la carcinogénesis.^{103,104}

Los pacientes con síndrome de Lynch desarrollan CCR alrededor de los 44 años, ¹⁰⁵ aunque publicaciones recientes sugieren una edad de aparición más tardía. ¹⁰⁶

Clínicamente, el cáncer de colon hereditario no polipósico se define por los criterios de Amsterdam, los cuales incluyen que al menos 3 familiares de 2 generaciones sucesivas deben presentar CCR u otro tumor asociado al síndrome (endometrio, ovario, estómago, intestino delgado, páncreas, vías biliares, uréter y pelvis renal), además al menos uno de los casos debe ser menor de 50 años al diagnóstico. ^{10,107,108}

El riesgo de desarrollar CCR es en general alto y depende de los genes mutados que estén implicados, como lo demuestran las múltiples publicaciones que actualmente tenemos disponibles. En un estudio llevado a cabo por Vasen y cols., ¹⁰⁵ en el que 34 familias fueron estudiadas, se encontraron 124 portadores de mutaciones en MLH1 y 86 portadores de mutaciones en MSH2. Se observó que el riesgo de desarrollar CCR fue 80% tanto entre los portadores de mutaciones en MLH1 como en los portadores de mutaciones en MSH2. En otro estudio llevado a cabo por Hendriks y cols., ¹⁰⁹ en el que se analizaron 20 familias, se identificaron 146 portadores de mutaciones en MSH6, observándose que el riesgo de desarrollar CCR entre estos portadores fue de 69% en varones y

30% en mujeres. Similarmente, en un metaanálisis llevado a cabo por Chen y cols.,¹¹⁰ se observó que entre los portadores de mutaciones en los genes MLH1 o MSH2, el riesgo de desarrollar CCR fue del 60% en varones y del 30% en mujeres, mientras que entre los portadores de mutaciones en el gen MSH6, el riesgo es del 30% tanto en varones como en mujeres.

- Poliposis adenomatosa familiar

La poliposis adenomatosa familiar es un síndrome hereditario asociado al desarrollo de CCR, que es menos frecuente que el síndrome de Lynch, diagnosticándose aproximadamente un caso por cada 7000 pacientes con CCR, de tal manera que es el responsable de < 1% de todos los CCR.¹⁰²

Es un síndrome autosómico dominante que es causado por una mutación de línea germinal en el gen APC, el cual codifica a una proteína que regula la degradación de β -catenina. Dado que la β -catenina está implicada en la transcripción de genes que promueven el crecimiento, la inactivación de APC lleva a una hiperactividad de la β -catenina y en consecuencia se produce una desregulación del crecimiento celular.¹¹¹

Las mutaciones en la región central del gen están asociadas con la poliposis adenomatosa familiar clásica y las mutaciones en los extremos 5' y 3' están asociadas con la poliposis adenomatosa familiar atenuada. Mientras que la forma clásica se caracteriza por la presencia de cien a mil pólipos adenomatosos y el desarrollo de CCR a una edad media de 40 años, la forma atenuada se caracteriza por la presencia de menos de 100 pólipos y un retraso en la edad de aparición.^{102,112,113}

Entre los pacientes que presentan mutaciones asociadas a la poliposis adenomatosa familiar clásica, si no han sido tratados profilácticamente, el riesgo acumulativo de desarrollar CCR es de casi 100% a los 40 años.¹¹⁴

1.1.3 Presentación clínica

En el momento del diagnóstico el paciente puede presentar signos y síntomas o encontrarse asintomático, en cuyo caso el diagnóstico generalmente es realizado mediante un programa de screening.¹¹⁵

Si bien, los programas de screening permiten que un importante número de casos sean diagnosticados en etapas asintomáticas, la mayoría de cánceres colorrectales son diagnosticados tras la aparición de signos y síntomas.

Las manifestaciones clínicas habituales en los pacientes con diagnóstico de CCR, generalmente se relacionan con el tamaño y la localización del tumor. Cuando el tumor se encuentra localizado en el colon derecho los signos y síntomas más frecuentes suelen ser dolor abdominal, melenas, anemia, astenia y pérdida de peso, mientras que cuando el tumor se localiza en el colon izquierdo, los signos y síntomas más frecuentes serán alteraciones del ritmo intestinal, dolor abdominal, hematoquecia o rectorragia y disminución del calibre de las heces. ¹¹⁶⁻¹¹⁸

Aunque en la mayoría de los casos la aparición de signos y síntomas es lentamente progresiva, los cánceres colorrectales también pueden tener una presentación brusca, con cuadros de obstrucción o perforación intestinal, precisando tratamiento quirúrgico urgente.

Si bien, en la mayoría de casos los cánceres colorrectales se diagnostican en estadios localizados, aproximadamente 35% de los pacientes presentarán enfermedad metastásica al diagnóstico, siendo el hígado el sitio más común de

diseminación metastásica.¹¹⁹ Los pacientes también pueden presentar signos y síntomas relacionados con la enfermedad metastásica. La presencia de dolor en hipocondrio derecho, distensión abdominal, saciedad precoz, adenopatías palpables y nódulos periumbilicales, generalmente son signos y síntomas que indican la presencia de enfermedad diseminada.

Por otro lado, existe evidencia que sugiere que la presencia de síntomas al momento del diagnóstico, podría tener impacto pronóstico. En un estudio llevado a cabo por Amri y cols.,¹²⁰ se incluyeron 1071 pacientes diagnosticados de cáncer de colon, de los cuales 217 fueron diagnosticados a través de screening, observándose que los pacientes que no fueron diagnosticados a través de screening tuvieron un mayor riesgo de tumores más invasivos ($\geq T3$: RR 1,96; $P < 0,001$), de afectación ganglionar (RR 1,92; $P < 0,001$) y de enfermedad metastásica al diagnóstico (RR 3,37; $P < 0,001$), así como una significativamente más alta tasa de recurrencia (RR 2,19; $P = 0,004$) y muerte (RR 3,02; $P < 0,001$). Es importante mencionar, que la presencia de obstrucción y/o perforación intestinal se asocia a un peor pronóstico, independientemente del estadio, como lo demuestran múltiples publicaciones.¹²¹⁻¹²⁴

1.1.4 Diagnóstico

Tras haberse realizado el diagnóstico clínico de CCR se deben realizar una serie de pruebas complementarias que nos permitirán confirmar el diagnóstico y establecer la estrategia terapéutica a seguir.

a. Colonoscopia

Es la prueba estándar ya que nos permite en un mismo procedimiento la visualización directa de la mucosa del colon, extirpar pólipos y realizar biopsias, las cuales son imprescindibles para la confirmación histológica.¹²⁵

b. Pruebas de imagen

- Colonoscopia virtual

En pacientes en quienes no se pueda realizar una colonoscopia convencional o se haya realizado una exploración incompleta, podría ser útil una colonoscopia virtual mediante TC,^{126,127} la cual no sólo nos permitiría identificar el tumor, sino también nos aporta información sobre órganos adyacentes y podría ayudar a establecer la estrategia quirúrgica a seguir.^{8,115}

- Tomografía computarizada

La tomografía computarizada (TC) de tórax, abdomen y pelvis con contraste intravenoso es la prueba más empleada como estudio de extensión en la mayoría de centros, tal y como lo recomiendan la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) y la European Society for Medical Oncology (ESMO) en sus guías de manejo del CCR.¹²⁸ En general, es preferible realizar la TC antes de la cirugía,^{129,130} ya que sus resultados podrían cambiar el enfoque terapéutico inicial.

- Resonancia magnética pélvica y ecografía transrectal

La resonancia magnética (RM) pélvica y la ecografía transrectal son las pruebas estándar en la estadificación local del cáncer de recto, ya que han demostrado incrementar la eficacia diagnóstica de la TC en este escenario.^{131,132} La RM permite medir con mayor exactitud la extensión del tumor en el mesorrecto circundante y evaluar adecuadamente el margen de resección circunferencial entre el borde del tumor y la fascia mesorrectal.¹³³ La ecografía transrectal es especialmente útil para medir la profundidad de invasión del tumor en la pared intestinal.¹³⁴

- Tomografía por emisión de positrones

La tomografía por emisión de positrones (PET) con 18-fluorodesoxiglucosa es capaz de detectar el tumor primario en un 95% de las ocasiones, aunque su sensibilidad disminuye para la detección de adenopatías. El uso rutinario de la PET no está recomendado en la estadificación preoperatoria del CCR, ^{135,136} ya que no parece añadir información significativa a la que aporta la TC. Si existe sospecha de enfermedad metastásica al diagnóstico, la PET podría ser útil para detectar diseminación extrahepática oculta, lo cual podría cambiar la estrategia terapéutica. ^{137,138}

c. Marcadores tumorales

Varios marcadores tumorales han sido asociados con el CCR, particularmente el antígeno carcinoembrionario (CEA).

Los niveles de CEA preoperatorio deben ser medidos rutinariamente, no sólo porque constituye un factor pronóstico independiente, sino también porque puede ser útil en el seguimiento tras la extirpación del tumor primario. ¹¹⁶

Los niveles séricos de CEA tienen utilidad pronóstica en pacientes con CCR de reciente diagnóstico. Hay evidencia en la literatura que demuestra que pacientes con CEA preoperatorio > 5 ng/mL tienen peor pronóstico que aquellos con niveles séricos de CEA mas bajos, independientemente del estadio.¹³⁹⁻¹⁴⁴ En un estudio que incluyó 17.910 pacientes con cáncer de colon de cualquier estadio,¹⁴⁴ se observó que un nivel de CEA preoperatorio elevado se asoció significativamente con un incremento del riesgo de muerte (HR 1,6; IC 95%: 1,46-1,76; $P < 0,001$).

Además, niveles de CEA preoperatorio elevados que no se normalizan tras la resección del tumor primario, podrían sugerir la presencia de enfermedad residual o diseminada.¹¹⁶

1.1.5 Estadificación

Una vez realizado el diagnóstico de CCR se debe determinar la extensión local y a distancia de la enfermedad, de tal manera que podamos establecer el pronóstico y la estrategia terapéutica a seguir.

El sistema de estadificación Tumor-Node-Metastases (TNM) del American Joint Committee on Cancer (AJCC)/Union for International Cancer Control

(UICC), es el preferido para estadificar los cánceres colorrectales, incluyendo tanto un sistema de clasificación clínica como un sistema de clasificación patológica, de tal manera que el prefijo “c” es usado para la clasificación clínica y el prefijo “p” para la clasificación patológica. La clasificación clínica se realiza en función de los hallazgos de la exploración física, la endoscopia, la biopsia y la imagen radiológica; mientras que la clasificación patológica se basa en el análisis anatomopatológico de la pieza tumoral.^{115,145}

La séptima y mas reciente edición del TNM incluye varios cambios comparado con la edición previa, tales como:

- Una subdivisión de las lesiones T4 en T4a y T4b.
- Una subestadificación de los tumores estadios II en IIA, IIB y IIC.
- Las categorías N1 y N2 están subdivididas de acuerdo al número de ganglios afectos.
- Los depósitos satélite que están separados del borde del tumor están clasificados como N1c.
- En la enfermedad estadio III, los subgrupos han sido revisados basándose

en la estratificación pronóstica.

- En cuanto a la enfermedad metastásica, M1 ha sido subdividido en M1a y M1b.

Tabla 2. Categorías del tumor primario según la 7^o edición del TNM. ¹⁴⁵

Tumor primario (T)	
TX	El tumor primario no puede ser evaluado.
T0	No hay evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma in situ: intraepitelial o invasión de la lámina propia.
T1	El tumor invade la submucosa.
T2	El tumor invade la muscularis propia.
T3	El tumor invade los tejidos pericorreciales a través de la muscularis propia.
T4a	El tumor invade el peritoneo visceral.
T4b	El tumor invade directamente o está adherido a otros órganos o estructuras.

Tabla 3. Categorías del estado ganglionar según la 7ª edición del TNM. ¹⁴⁵

Ganglios linfáticos regionales (N)	
NX	Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados.
N0	No evidencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
N1	Metástasis en 1-3 ganglios linfáticos regionales.
N1a	Metástasis en 1 ganglio linfático regional.
N1b	Metástasis en 2-3 ganglios linfáticos regionales.
N1c	Depósitos tumorales en la subserosa, mesenterio o tejidos pericólicas no peritonealizados, sin metástasis en ganglios regionales.
N2	Metástasis en 4 o más ganglios linfáticos regionales.
N2a	Metástasis en 4-6 ganglios linfáticos regionales.
N2b	Metástasis en 7 o más ganglios linfáticos regionales.

Tabla 4. Categorías de la enfermedad metastásica según la 7ª edición del TNM. ¹⁴⁵

Metástasis a distancia (M)	
MX	Metástasis a distancia no evaluadas.
M0	No hay evidencia de metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia.
M1a	Metástasis confinada a un solo órgano o localización.
M1b	Metástasis en más de un órgano/localización o en el peritoneo.

Tabla 5. Estadios del CCR según la 7ª edición del TNM. ¹⁴⁵

Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b

El sistema de clasificación TNM nos permite realizar una adecuada estimación del pronóstico en función del estadio. De tal manera que la mejor estimación del pronóstico en el cáncer colorrectal está relacionada con la extensión anatómica de la enfermedad determinada por la evaluación patológica de la pieza tumoral.¹⁴⁶ Mientras que la tasa de supervivencia relativa a 5 años en pacientes intervenidos de un CCR estadio I es mayor de 90%, esta puede ser inferior a 30% en pacientes intervenidos de tumores estadios IIIC.^{8,145,146}

Tabla 6. Tasa de supervivencia relativa a 5 años en cáncer de colon según datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER).^{8,145}

Estadio	Tasa de supervivencia a 5 años
Estadio I (T1, T2; N0)	97,1%
Estadio IIA (T3; N0)	87,5%
Estadio IIB (T4; N0)	71,5%
Estadio IIIA (T1, T2; N1)	87,7%
Estadio IIIB (T1, T2; N2)	75,0%
Estadio IIIB (T3; N1)	68,7%
Estadio IIIC (T3; N2)	47,3%
Estadio IIIC (T4; N1)	50,5%
Estadio IIIC (T4; N2)	27,1%

1.1.6 Tratamiento

a. Tratamiento quirúrgico

La cirugía es la única opción curativa en pacientes con CCR localizado, por lo que es el tratamiento primario estándar en este escenario.¹¹⁵

Para el cáncer de colon se debe realizar una resección total del tumor con márgenes adecuados y linfadenectomía. Se recomiendan márgenes distales ≥ 5 cm y resección de al menos 12 ganglios linfáticos que permitan una estadificación ganglionar adecuada,¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ ya que una linfadenectomía que incluya un menor número de ganglios linfáticos podría ser la causa de una infraestadificación tumoral.

El tratamiento quirúrgico para el cáncer de recto debe incluir una escisión total del mesorrecto con márgenes circunferencial y distal adecuados, y linfadenectomía mesentérica inferior. Una adecuada escisión total del mesorrecto está asociada con una reducción del riesgo de recaída local.^{150,151}

La colectomía laparoscópica es una opción aceptable para pacientes con cánceres de colon no obstructivos, no perforados y que no comprometan órganos adyacentes. En pacientes adecuadamente seleccionados esta opción quirúrgica tiene resultados oncológicos comparables con la cirugía abierta, aunque con menor morbilidad perioperatoria.¹⁵²⁻¹⁵⁴

b. Quimioterapia adyuvante

El beneficio del tratamiento adyuvante con quimioterapia basada en fluoropirimidinas ha sido claramente demostrado en pacientes con cáncer de colon estadio III, sin embargo, el valor de esta terapia en pacientes con cáncer de colon estadio II continua siendo controvertido.

b.1 Quimioterapia adyuvante en cáncer de colon estadio II

- Quimioterapia basada en fluoropirimidinas

Múltiples estudios que han evaluado la eficacia de la quimioterapia basada en fluoropirimidinas, incluyeron tanto pacientes con cáncer de colon estadio II como pacientes con cáncer de colon estadio III, demostrando un beneficio en la población global, tanto en supervivencia libre de enfermedad

(SLE) como en supervivencia global (SG), comparado con sólo cirugía.¹⁵⁵⁻¹⁶⁰ Si bien, en el análisis de subgrupos, este beneficio fue restringido sólo a los pacientes con cáncer de colon estadio III en la mayoría de casos, hay datos que sugieren que la quimioterapia adyuvante podría aportar un pequeño beneficio en pacientes con cáncer de colon estadio II.

Por una parte, en el análisis de subgrupos de la mayoría de estudios arriba mencionados, se observa que en los pacientes con cáncer de colon estadio II hubo una tendencia a mejorar los resultados, a favor de la quimioterapia adyuvante. Además, en un estudio llevado a cabo por Taal y cols.,¹⁶¹ en el que 1029 pacientes con CCR estadios II y III fueron asignados randomizadamente a recibir 5FU más levamisole o sólo cirugía, se observó que la quimioterapia adyuvante se asoció a una significativamente mejor tasa de supervivencia a 4 años, tanto en pacientes con enfermedad estadio III (56% vs 44%) como en aquellos con enfermedad estadio II (78% vs 70%).

Es importante mencionar, que se han llevado a cabo tres estudios que han evaluado específicamente la eficacia de la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas en pacientes con cáncer de colon estadio II, sin encontrarse un claro beneficio.¹⁶²⁻¹⁶⁴ En el estudio INT-0035,¹⁶² se incluyeron 325 pacientes con cáncer de colon estadio II, que fueron asignados randomizadamente a recibir

5FU más levamisole versus observación, observándose que la quimioterapia adyuvante redujo en 31% el riesgo de recaída, aunque este resultado no fue estadísticamente significativo (RR 0,69; IC 95%: 0,44-1,08; $P = 0,10$), probablemente por el pequeño tamaño muestral. En términos de SG, no se encontraron diferencias, la tasa de supervivencia a 7 años fue 72% en ambos brazos ($P = 0,83$). Similarmente, en un estudio fase III conducido por el grupo Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (ABCSCG), ¹⁶³ en el que se incluyeron 535 pacientes que fueron aleatoriamente asignados a recibir 5FU más leucovorin (LV) o vigilancia, no se observaron diferencias en SG (HR 0,88; IC 95%: 0,61-1,27; $P = 0,49$), aunque hubo una tendencia a una mejor SLE (HR 0,69; IC 95%: 0,45-1,06; $P = 0,09$), que probablemente con un mayor tamaño muestral hubiese alcanzado significación estadística. En esta misma línea, el gran estudio QUASAR asignó randomizadamente 3238 pacientes intervenidos de CCR a recibir 5FU más LV con o sin levamisole versus observación. ¹⁶⁴ En este estudio el 91% de los pacientes tenían enfermedad estadio II. Se observó que entre los pacientes con diagnóstico de CCR estadio II, la quimioterapia adyuvante prolongó significativamente la SLE (HR 0,78; IC 95%: 0,66-0,93; $P = 0,004$) y la SG (HR 0,84; IC 95%: 0,68-1,00; $P = 0,046$), aunque en el grupo específico de pacientes con cáncer de colon estadio II, sólo se observó una tendencia a una mejor SLE (HR 0,82; IC 95%: 0,63-1,08) y SG (HR 0,86; IC 95%: 0,66-1,12).

En este mismo escenario, también se han llevado a cabo algunos metaanálisis que han evaluado el beneficio de la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas.¹⁶⁵⁻¹⁶⁹ En un análisis de datos combinados (IMPACT B2) de 1016 pacientes con cáncer de colon estadio II que habían sido incluidos en 5 estudios que compararon 5FU más LV versus observación,¹⁶⁵ se observó un mínimo incremento en tasa de SLE a 5 años (76% vs 73%) y tasa de SG a 5 años (82% vs 80%) a favor de la quimioterapia adyuvante, aunque estos resultados no fueron estadísticamente significativos. Similarmente, Gill y cols.,¹⁶⁷ en un análisis de datos combinados de 3302 pacientes con cáncer de colon estadios II y III que habían sido incluidos en 7 estudios que compararon 5FU más LV/levamisole versus sólo cirugía, reportaron un incremento en SLE a 5 años (76% vs 72%; $P = 0,049$) y SG a 5 años (81% vs 76%; $P = 0,112$), aunque este último no fue estadísticamente significativo. Finalmente, un reciente metaanálisis llevado a cabo por Meyers y cols.,¹⁷⁰ mostró que la quimioterapia adyuvante basada en 5FU prolongó significativamente la SLE (HR 0,84; IC 95%: 0,75-0,94) y la SG (HR 0,87; IC 95%: 0,78-0,97), comparada con observación.

Como hemos visto, en los estudios y metaanálisis arriba mencionados, se observa un mínimo incremento en SLE y/o SG a favor de la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas, aunque en la mayoría de casos estas diferencias no alcanzan la significación estadística. Es importante mencionar, que el número de pacientes con cáncer de colon estadio II incluidos en estos

estudios fue en general pequeño y que en cualquier caso, estos tamaños muestrales no serían suficientes para demostrar un pequeño beneficio en supervivencia si este existiese.

- Quimioterapia basada en oxaliplatino

Pocos estudios han evaluado el beneficio de la quimioterapia basada en oxaliplatino en pacientes con cáncer de colon estadio II. El estudio MOSAIC,¹⁷¹ que comparó 5FU (en bolo e infusión continua) más LV versus FOLFOX (LV, 5FU en bolo e infusión continua, y oxaliplatino), incluyó 2246 pacientes con enfermedad estadio II (40%) y enfermedad estadio III (60%). En el análisis de subgrupos, se observó que entre los pacientes con cáncer de colon estadio II, hubo un leve incremento en SLE a 5 años (84% vs 80%; HR 0,84; IC 95%: 0,62-1,14; $P = 0,26$) a favor de FOLFOX, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En este mismo grupo de pacientes, no se observaron diferencias en SG a 6 años (87% vs 87%; HR 1,00; IC 95%: 0,70-1,41; $P = 0,99$) entre ambos brazos del estudio. Similarmente, el estudio National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) C-07,¹⁷² que comparó 5FU más LV versus FLOX (LV, 5FU en bolo y oxaliplatino), incluyó 2492 pacientes con cáncer de colon estadios II (29%) y III (71%), observándose que en el grupo de pacientes con enfermedad estadio II, hubo un mínimo incremento no significativo en SLE a 5 años (82% vs 80%; HR 0,94, IC 95%: 0,70-1,26; $P = 0,67$),

mientras que la SG a 5 años fue similar entre ambos brazos del estudio (90% vs 90%; HR 1,04; IC 95%: 0,72-1,50; $P = 0,84$).¹⁷³

Si bien el número de pacientes con cáncer de colon estadio II incluidos en estos estudios fue escaso para detectar un beneficio significativo a favor de la quimioterapia basada en oxaliplatino, de existir este beneficio sería pequeño y parece sólo limitado a la SLE, por lo que teniendo en cuenta la toxicidad asociada a oxaliplatino habría que valorar riesgo-beneficio en cada caso individual.

- Factores de riesgo

Los estudios que han evaluado la eficacia de la quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de colon estadio II, muestran un pequeño beneficio a favor de la quimioterapia adyuvante, en comparación con sólo cirugía, sobretudo en términos de SLE. Este pequeño beneficio en supervivencia que parece observarse en los estudios arriba mencionados, nos sugiere que un subgrupo de pacientes con cáncer de colon estadio II de alto riesgo, con mayor riesgo de recaída, podría obtener un mayor beneficio de la quimioterapia adyuvante.¹⁷⁴

En este sentido, existe evidencia que demuestra que ciertas características clinicopatológicas confieren un peor pronóstico a pacientes con cáncer de colon estadio II.

Estas características clinicopatológicas que se han asociado a un peor pronóstico son: tumor primario T4, histología pobremente diferenciada, infiltración linfovascular, infiltración perineural, obstrucción o perforación intestinal, márgenes de resección afectos, linfadenectomía subóptima (menos de 13 ganglios aislados) y CEA preoperatorio elevado. ^{144,149,167,175-182}

En un estudio llevado a cabo por Quah y cols., ¹⁷⁵ que incluyó 448 pacientes con cáncer de colon estadio II, que habían sido tratados con cirugía sin quimioterapia adyuvante, se identificaron tres factores que afectaron significativamente la supervivencia: tumor primario T4 (HR 2,7; IC 95%: 1,1-6,2; $P = 0,02$), CEA preoperatorio > 5 ng/mL (HR 2,1; IC 95%: 1,1-4,1; $P = 0,02$) e infiltración linfovascular o perineural (HR 2,1; IC 95%: 1-4,4; $P = 0,04$). Las tasas de supervivencia a 5 años entre los pacientes con cero, uno o dos o más factores de riesgo fueron 95%, 85% y 57%, respectivamente. Similarmente, en un estudio retrospectivo llevado a cabo por Petersen y cols., ¹⁸⁰ en el que se incluyeron 268 pacientes con cáncer de colon estadio B de Dukes, tras un análisis multivariable, la invasión peritoneal (HR 2,88; IC 95%: 1,69-4,90; $P = 0,0001$), la infiltración

venosa (HR 2,70; IC 95%: 1,61-4,53; $P = 0,0001$), la afectación de márgenes de resección (HR 2,61; IC 95%: 1,42-4,79; $P = 0,002$) y la perforación tumoral (HR 9,43; IC 95%: 3,28-27,05; $P = 0,0001$), fueron identificados como factores pronósticos independientes. En función de estas 4 características patológicas se estableció un índice pronóstico cuyo valor fue de 0-5 (invasión peritoneal: 1, infiltración venosa: 1, afectación de márgenes de resección: 1, perforación tumoral: 2). Se observó, que mientras la tasa de supervivencia a 5 años entre los pacientes con un índice pronóstico 0 fue 94%, la tasa de supervivencia a 5 años entre los pacientes con un índice pronóstico ≥ 3 fue 30%.

A pesar de la falta de ensayos clínicos randomizados que apoyen el beneficio de la quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de colon estadio II con factores de alto riesgo, las guías para el manejo del CCR (ASCO, NCCN, ESMO),^{183,184} sugieren que estos factores sean tomados en cuenta cuando se discuta con el paciente el potencial beneficio de la quimioterapia adyuvante.

- Inestabilidad de microsatélites

La deficiencia de proteínas reparadoras (MMR) del DNA (MLH1, MSH2, MSH6) puede observarse en aproximadamente 15-20% de los cánceres colorrectales. La deficiencia de MMR se traduce en inestabilidad de

microsatélites (MSI). Se ha visto que la deficiencia de MMR es mas frecuente en cánceres de colon estadio II que en estadio III.

Hay evidencia que demuestra que los tumores con deficiencia de MMR o MSI se asocian a un mejor pronóstico.¹⁸⁵⁻¹⁸⁹ Además hay datos que sugieren que la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas no aporta beneficio o incluso puede ser potencialmente perjudicial en aquellos pacientes con deficiencia de proteínas reparadoras o inestabilidad de microsatélites.¹⁸⁸⁻¹⁹² En un análisis de datos combinados,¹⁸⁸ en el que se incluyeron 7642 pacientes con CCR, de los cuales 1277 tenían inestabilidad de microsatélites, se observó que la presencia de MSI se asoció a una mejor SG (HR 0,65; IC 95%: 0,59-0,71). Entre los pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante basada en 5FU, la MSI también se asoció a un mejor pronóstico (HR 0,72; IC 95%: 0,61-0,84). Sin embargo, entre los pacientes con MSI, no se observó un beneficio derivado de la quimioterapia basada en 5FU (HR 1,24; IC 95%: 0,72-2,14). Similarmente, en un estudio llevado a cabo por Ribic y cols,¹⁹⁰ se incluyeron 570 pacientes con CCR estadios II y III, de los cuales 95 pacientes presentaron alta frecuencia de MSI. Se observó, que la quimioterapia adyuvante mejoró la SG en pacientes con microsatélite estable o baja frecuencia de MSI (HR 0,72; IC 95%: 0,53-0,99; $P = 0,04$). Sin embargo, este beneficio no se observó entre los pacientes con alta frecuencia de MSI (HR 2,14; IC 95%: 0,83-5,49; $P = 0,11$).

En un estudio mas reciente, que incluyó 457 pacientes con cáncer de colon estadios II y III, de los cuales 70 presentaron deficiencia de MMR, se observó que la quimioterapia adyuvante prolongó la SLE en pacientes sin deficiencia de MMR (HR 0,67; IC 95%: 0,48-0,93; $P = 0,02$). Sin embargo, este beneficio en SLE no fue observado en pacientes con deficiencia de MMR (HR 1,10; IC 95%: 0,42-2,91; $P = 0,85$). Cabe resaltar, que entre los pacientes con cáncer de colon estadio II y deficiencia de MMR, el tratamiento adyuvante se asoció a una peor SG (HR 2,95; IC 95%: 1,02-8,54; $P = 0,04$).

Teniendo en cuenta la evidencia actualmente disponible, el análisis del estatus de microsatélites o MMR, podría ayudarnos a identificar aquel pequeño subgrupo de pacientes con cáncer de colon estadio II con bajo riesgo de recaída, quienes no se beneficiarían de la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas.

b.2 Quimioterapia adyuvante en cáncer de colon estadio III

- Quimioterapia basada en fluoropirimidinas

En pacientes con cáncer de colon estadio III, la tasa de SG a 5 años, antes de que la quimioterapia adyuvante se convirtiera en el tratamiento estándar, era

6%-28%.¹⁹³ En este grupo de pacientes, la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas permitió un incremento estadística y clínicamente significativo de la SG, alcanzando tasas de SG a 5 años > 70%.

Un estudio llevado a cabo por Moertel y cols.,¹⁹⁴ fue el primero en demostrar un beneficio a favor de la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas, en pacientes con cáncer de colon estadio III. En este estudio se incluyeron 1296 pacientes con cáncer de colon estadios II y III, que fueron asignados randomizadamente a 5FU más levamisole, sólo levamisole u observación. Tras una mediana de 6,5 años de seguimiento, se observó que entre los pacientes con enfermedad estadio III, el tratamiento con 5FU más levamisole, redujo en 40% la tasa de recaída ($P < 0,0001$) y en 33% la tasa de muerte ($P = 0,0007$).¹⁹⁵

Posteriormente, el estudio NSABP C-4,¹⁹⁶ que incluyó 2151 pacientes con cáncer de colon estadios II y III, quienes fueron asignados randomizadamente a 5FU-LV (esquema Roswell Park Memorial Institute, RPMI), 5FU-LV-levamisole o 5FU-levamisole; demostró que 5FU-LV prolongó significativamente la SLE (65% vs 60%; $P = 0,04$), con una tendencia a una mejor SG (74% vs 70%; $P = 0,07$), comparado con 5FU-levamisole. Aunque no se observaron diferencias entre 5FU-LV y 5FU-LV-levamisole, ni en SLE (65% vs 64%; $P = 0,67$), ni en SG (74% vs 73%; $P = 0,99$).

Haller y cols.,¹⁹⁷ llevaron a cabo el estudio randomizado INT 0089, en el que incluyeron 3794 pacientes que fueron asignados a 4 brazos de tratamiento: esquema RPMI (5FU en bolo y LV a altas dosis), esquema de la Clínica Mayo (5FU en bolo y LV a bajas dosis), 5FU-LV a bajas dosis-levamisole y 5FU-levamisole (brazo comparador). En este estudio, no se observaron diferencias ni en SLE ni SG entre ninguno de los brazos del estudio.

De esta manera, 5FU bolo en combinación con LV pasa a ser el estándar en el tratamiento adyuvante del cáncer de colon y se convierte en el brazo comparador de estudios posteriores.

El grupo francés para la investigación en oncología (GERCOR), llevó a cabo el estudio C96.1,¹⁹⁸ que es un fase III randomizado en el que se incluyeron 906 pacientes con cáncer de colon estadios II y III, que fueron asignados a un esquema mensual de LV a altas dosis y 5FU en bolo (brazo control) o al esquema de Gramont (LV y 5FU en bolo más infusión continua (LV5FU2), cada 2 semanas). Tras una mediana de seguimiento de 6 años, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en SLE (HR 1,01; IC 95%: 0,81-1,27; $P = 0,94$) ni en SG (HR 1,02; IC 95%: 0,77-1,34; $P = 0,91$), entre ambos brazos del estudio.¹⁹⁹ Aunque, la incidencia de eventos adversos fue significativamente mas baja en el brazo experimental ($P < 0,001$).¹⁹⁸ Teniendo en cuenta la equivalencia

en eficacia y el mejor perfil de toxicidad, el esquema de Gramont pasa a ser el nuevo estándar y la columna vertebral de los esquemas de quimioterapia en combinación.

Por otro lado, las fluoropirimidinas orales como capecitabina ofrecen un incremento en comodidad y la posibilidad de mejorar el cumplimiento terapéutico.²⁰⁰ Capecitabina es una prodroga de 5FU, la cual imita a 5FU en infusión continua y no requiere de la administración de LV.

El papel de capecitabina en el escenario adyuvante fue evaluado en el estudio X-ACT,²⁰¹ en el que 1987 pacientes con cáncer de colon estadio III fueron asignados randomizadamente a capecitabina o 5FU-LV según el esquema de la Clínica Mayo, observándose que capecitabina fue al menos tan efectivo como 5FU-LV en SLE (HR 0,87; IC 95%: 0,75-1,00; $P < 0,001$ para no inferioridad) y en SG (HR 0,84; IC 95%: 0,69-1,01; $P < 0,001$ para no inferioridad), con una tendencia a una superioridad en términos de SLE a 3 años (64% vs 61%; $P = 0,05$) y SG a 3 años (81% vs 78%; $P = 0,07$), a favor del brazo experimental.

- Quimioterapia basada en oxaliplatino

El beneficio de añadir oxaliplatino a la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas, en pacientes con cáncer de colon estadio III, ha sido confirmado en tres estudios fase III. ^{171-173,202-204}

El estudio MOSAIC, que fue el primero en sugerir este beneficio, incluyó 2246 pacientes con cáncer de colon estadios II y III, que fueron asignados randomizadamente a FOLFOX4 o LV5FU2. ²⁰² Entre los pacientes con enfermedad estadio III, se observó que el tratamiento adyuvante con FOLFOX4 prolongó significativamente la SLE a 5 años (66% vs 59%; HR 0,78; IC 95%: 0,65-0,93; $P = 0,005$) y la SG a 6 años (73% vs 69%; HR 0,80; IC 95%: 0,65-0,97; $P = 0,023$), en comparación con LV5FU2. ¹⁷¹ Basándose en los resultados de este estudio, FOLFOX4 es aprobado como tratamiento adyuvante en pacientes con cáncer de colon estadio III.

La mejoría en SLE observada en el estudio MOSAIC, fue confirmada en el estudio NSABP-C07, ¹⁷² en el que 2407 pacientes con cáncer de colon estadios II y III fueron asignados randomizadamente a 5FU-LV (esquema RPMI) con (esquema FLOX) o sin oxaliplatino. Tras una mediana de seguimiento de 8 años, se observó que en pacientes con enfermedad estadio III, el tratamiento

adyuvante con FLOX incrementó significativamente la SLE a 5 años (64% vs 58%; HR 0,78; IC 95%: 0,68-0,90; $P < 0,001$) y se asoció a una mejoría en SG a 5 años que bordeó la significación estadística (77% vs 74%; HR 0,85; IC 95%: 0,72-1,00; $P = 0,052$), en comparación con el esquema RPMI.¹⁷³

Finalmente, el beneficio de añadir oxaliplatino a capecitabina fue evaluado en el estudio NO16968 (XELOXA),²⁰³ en el que se incluyeron 1886 pacientes que fueron asignados randomizadamente a capecitabina más oxaliplatino (XELOX) o 5FU-LV (esquema de la Clínica Mayo o esquema RPMI). En el análisis final, se observó que tras una mediana de seguimiento de 74 meses, el tratamiento con XELOX prolongó significativamente la SLE (SLE a 7 años: 63% vs 56%; HR 0,80; IC 95%: 0,69-0,93; $P = 0,0038$), comparado con 5FU-LV. Además, tras una mediana de seguimiento de 83 meses, la SG fue significativamente superior con XELOX (SG a 7 años: 73% vs 67%; HR 0,83; IC 95%: 0,70-0,99; $P = 0,0367$), en comparación con 5FU-LV.²⁰⁴

Teniendo en cuenta los resultados positivos de estos tres estudios, en la actualidad, la quimioterapia basada en oxaliplatino es el tratamiento adyuvante estándar en pacientes con cáncer de colon estadio III.

- Quimioterapia basada en irinotecan

Si bien, los esquemas FOLFOX y FOLFIRI han demostrado ser equivalentes en el escenario metastásico, ²⁰⁵ en el escenario adyuvante tres estudios han fallado en demostrar el beneficio de añadir irinotecan a la quimioterapia basada en 5FU. ²⁰⁶⁻²⁰⁸

El estudio Cancer and Leukemia Group B (CALGB) 89803, ²⁰⁶ incluyó 1264 pacientes con cáncer de colon estadio III, que fueron asignados randomizadamente a 5FU en bolo más LV o el mismo esquema más irinotecan (esquema IFL). No se observaron diferencias significativas ni en SLE (SLE a 5 años: 61% vs 59%; $P = 0,85$) ni en SG (SG a 5 años: 71% vs 68%; $P = 0,74$), entre 5FU-LV e IFL. En esta misma línea, el estudio PETACC-3 incluyó 3278 pacientes con cáncer de colon estadios II (29%) y III (71%), ²⁰⁷ que fueron asignados randomizadamente a LV5FU2 sin o con irinotecan (FOLFIRI). En el análisis realizado en la población estadio III, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en SLE (SLE a 5 años: 57% vs 54%; $P = 0,106$) ni en SG (SG a 5 años: 74% vs 71%; $P = 0,094$) entre FOLFIRI y LV5FU2. Similarmente, el estudio ACCORD2 comparó LV5FU2 versus FOLFIRI en 400 pacientes con cáncer de colon estadio III de alto riesgo, ²⁰⁸ sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ni en SLE (SLE a 3 años: 51% vs 60%; HR 1,19; IC 95%: 0,90-1,59; $P = 0,22$) ni en SG (SG a 5 años: 61% vs 67%; HR 1,20; IC 95%: 0,87-1,67; $P = 0,26$), entre FOLFIRI y LV5FU2.

Teniendo en cuenta los resultados negativos de estos tres estudios, se desaconseja el uso de quimioterapia basada en irinotecan en el tratamiento adyuvante del cáncer de colon estadio III.

- Anticuerpos monoclonales

Tanto bevacizumab como cetuximab, han demostrado ser eficaces en el escenario metastásico, ²⁰⁹⁻²¹² sin embargo, el beneficio de estas drogas molecularmente dirigidas no ha podido ser demostrado en el escenario adyuvante.

El beneficio de añadir bevacizumab a la quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino fue evaluado en los estudios NSABP C-08 y AVANT. El estudio NSABP C-08 incluyó 2672 pacientes con cáncer de colon estadio II (25%) y III (75%), ²¹³ que fueron asignados randomizadamente a mFOLFOX6 con o sin bevacizumab. Tras una mediana de seguimiento de 5 años, la adición de bevacizumab a mFOLFOX6 no incrementó la SLE (SLE a 3 años: 78% vs 75%; HR 0,93; IC 95%: 0,81-1,08; $P = 0,35$) ni la SG (SG a 5 años: 83% vs 81%; HR 0,95, IC 95%: 0,79-1,13; $P = 0,56$). Aunque se observó un beneficio transitorio en SLE durante la administración de bevacizumab en el brazo experimental (HR 0,61; IC 95%: 0,48-0,78; $P < 0,0001$). Similarmente, el estudio AVANT, ²¹⁴ incluyó 3451

pacientes con cáncer de colon estadios II de alto riesgo y III, quienes fueron asignados randomizadamente a recibir sólo FOLFOX4, FOLFOX4-bevacizumab o XELOX-bevacizumab. Este estudio también falló en demostrar un beneficio en SLE (FOLFOX4-bevacizumab vs FOLFOX4: HR 1,17; IC 95%: 0,98-1,39; $P = 0,07$; XELOX-bevacizumab vs FOLFOX4: HR 1,07; IC 95%: 0,90-1,28; $P = 0,44$) o SG (FOLFOX4-bevacizumab vs FOLFOX4: HR 1,27; IC 95%: 1,03-1,57; $P = 0,02$; XELOX-bevacizumab vs FOLFOX4: HR 1,15; IC 95%: 0,93-1,42; $P = 0,21$), al añadir bevacizumab a la quimioterapia basada en oxaliplatino, observándose incluso un efecto perjudicial en SG.

Dos estudios, el NO147 y el PETACC8, evaluaron el potencial beneficio de cetuximab en combinación con FOLFOX, como tratamiento adyuvante en pacientes con KRAS nativo. El estudio NO147 incluyó 2686 pacientes con cáncer de colon estadio III (1863 pacientes con KRAS nativo) que fueron asignados randomizadamente a mFOLFOX6 con o sin cetuximab.²¹⁵ Entre los pacientes KRAS nativo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en SLE (SLE a 3 años: 72% vs 75%; HR 1,21; IC 95%: 0,98-1,49; $P = 0,08$) ni en SG (SG a 3 años: 86% vs 87%; HR 1,25; IC 95%: 0,92-1,68; $P = 0,15$), entre mFOLFOX6-cetuximab y mFOLFOX6. En la misma línea, el estudio PETACC8 comparó FOLFOX4-cetuximab versus sólo FOLFOX4,²¹⁶ como tratamiento adyuvante, en pacientes con cáncer de colon estadio III. En un análisis intermedio que incluyó 1602 pacientes con KRAS nativo, se observó que la

adición de cetuximab a FOLFOX4 no mejoró la SLE (HR 1,05; IC 95%: 0,85-1,29; $P = 0,66$) ni la SG (HR 1,09; IC 95%: 0,81-1,47; $P = 0,55$).

En la actualidad, ni bevacizumab ni cetuximab tienen un papel en el tratamiento adyuvante del cáncer de colon y su uso está limitado sólo al escenario metastásico.

1.2 Células tumorales circulantes

Las células tumorales circulantes (CTC) son células epiteliales presentes en la sangre periférica, que migran entre el tumor primario, la medula ósea y las metástasis, en pacientes con cánceres en estadios avanzados.^{217,218} En pacientes con tumores localizados, las CTC provenientes del tumor primario podrían asentarse en órganos distantes y potencialmente desarrollar metástasis.²¹⁷

Datos reportados por Allard y cols.,²¹⁹ demuestran que las CTC están presentes en pacientes con tumores metastásicos y que detectarlas en individuos sanos o pacientes con patologías benignas, son eventos extremadamente raros.

Estos hallazgos fueron confirmados por Maestro y cols.,²²⁰ quienes llevaron a cabo un estudio en el que se incluyeron 438 pacientes con cáncer de mama, colorrectal y próstata, y 106 individuos sanos, observándose que 31,5%

de los pacientes con cáncer presentaron ≥ 2 CTC, mientras que ninguno de los voluntarios sanos tuvieron un recuento de CTC ≥ 2 ($P < 0,001$).

Por otro lado, datos de este mismo estudio, ²²⁰ demuestran que un alto recuento de CTC es significativamente mas frecuente en pacientes con tumores metastásicos, en comparación con pacientes con tumores localizados (62,3% vs 14%; $P < 0,001$), lo cual podría estar relacionado con la carga tumoral.

Múltiples estudios han evaluado el papel de las CTC, encontrándose que su detección tiene importantes implicaciones pronósticas y terapéuticas en diversos tumores como el cáncer de mama, colon y próstata. ²²¹⁻²³⁷

1.2.1 Métodos de detección de CTC

El proceso de detección de CTC es complicado, ya que el número de CTC en sangre es muy limitado y por tanto, aislarlas de los millones de células que están presentes en el torrente sanguíneo requiere técnicas altamente sofisticadas.

Varios métodos han sido desarrollados para el aislamiento de las CTC. Los mas usados emplean técnicas de enriquecimiento, que permiten seleccionar a las CTC entre las células normales de la sangre, ya sea en función de sus propiedades físicas (como tamaño, densidad o carga) o características biológicas específicas

(como marcadores que se encuentran expresados en la superficie celular tumoral).²³⁸ Las técnicas de enriquecimiento inmunomagnético son las más ampliamente usadas y las que han demostrado mayor utilidad hasta la fecha. Las técnicas de determinación indirecta, como las basadas en RT-PCR, aunque tienen las ventajas de ser altamente sensibles, reproducibles y baratas, no son capaces de discriminar las células viables de las no viables y sobretodo no permiten la cuantificación, lo cual es una importante limitación.²³⁹

El sistema CellSearch, desarrollado por Veridex, es un método semiautomático basado en una fase de enriquecimiento inmunomagnético seguido de un análisis de microscopía fluorescente, que ha demostrado que un recuento elevado de CTC se asocia a un pronóstico desfavorable en pacientes con tumores metastásicos de mama, próstata y colon.²³⁹ Este método se ha convertido en el “gold standard” en numerosos ensayos clínicos y es el único aprobado por la FDA hasta la fecha.²³⁸⁻²⁴⁰

CellSearch es un método mediante el cual las CTC presentes en la sangre, son enriquecidas con nanopartículas de ferrofluido recubiertas con anticuerpos anti-EpCAM (selección positiva). Las células enriquecidas posteriormente son teñidas con tinte nuclear fluorescente 4',6-diaminodino-2-phenylindole (DAPI), anticuerpo fluorescente específico para leucocitos CD45 (selección negativa) y anticuerpos fluorescentes para citoqueratinas 8, 18 y 19, los cuales son específicas para células epiteliales (CK-PE). A continuación, las muestras son

analizadas por el CellSpotter Analyser, el cual es un microscopio semiautomático que identifica las CTC como DAPI positivas, CK-PE positivas y CD45 negativas.²¹⁹

Esta técnica tiene las siguientes ventajas: ser fácil, reproducible, alta sensibilidad y especificidad, y además permite cuantificar las CTC; a diferencia de otras técnicas de determinación indirecta, que no permiten la cuantificación. Entre las desventajas del sistema CellSearch están: las células tumorales que no expresen EpCAM podrían no ser identificadas, los múltiples pasos de esta técnica pueden resultar en pérdida de CTC, además dichas células no pueden ser aisladas para posteriores estudios moleculares.²³⁹

Otro método que utiliza la técnica de enriquecimiento inmunomagnético es el AdnaTest, desarrollado por AdnaGen AG, basado en la captura de células tumorales “epithelial-like”, las cuales expresan en la superficie celular una molécula de adhesión EpCAM que no suele estar presente en las células de la sangre.²³⁸⁻²⁴⁰

AdnaTest usa una combinación de anticuerpos tales como EpCAM/Mucina 1 (MUC1) en cáncer de mama y de colon, y EpCAM/HER2 en el cáncer de próstata, asociados a microesferas magnéticas.²⁴¹⁻²⁴³ El AdnaTest combina una separación inmunomagnética con la detección de transcripciones de genes específicos. Las CTC enriquecidas son además analizadas por medio de RT-PCR semicuantitativa para detectar transcripciones relacionadas con los

procesos de tumorigénesis, por ejemplo, EpCAM, HER2, MUC1, CAE, PSA, PSMA, del EGFR. ²⁴⁰

Muller y cols., compararon directamente el método AdnaTest con el método CellSearch en pacientes con cáncer de mama metastásico (CMM). De 221 pacientes evaluables, 116 (50%) tuvieron ≥ 5 CTC con el método CellSearch. La presencia de ≥ 5 CTC se asoció a una peor SG (18 meses vs 27 meses; $P < 0,001$), comparado con < 5 CTC. Aunque no se encontró asociación entre la SLE y el número de CTC ($P = 0,197$). Cuando se usó el método AdnaTest, 88 de 221 (40%) pacientes evaluables tuvieron un recuento de CTC ≥ 5 . Con este método, no se encontró asociación entre la SLE o SG y el recuento de CTC. Si bien el método AdnaTest permite, además de detectar CTC, evaluar marcadores genómicos en ellas, estos resultados sugieren que el método CellSearch podría ser superior a AdnTest en predecir resultados clínicos, aunque esto aún debe confirmarse en estudios con mayor número de pacientes.

MagSweeper es otro método, desarrollado por la Universidad de Stanford, el cual se basa en el enriquecimiento de CTC usando una varilla magnética a través de una muestra de sangre marcada con microesferas magnéticas recubiertas de anticuerpos anti-EpCAM. ²⁴⁴ El método MagSweeper detecta CTC con mayor pureza y tiene la capacidad para aislar células vivas. ²³⁸⁻²⁴⁰

Si bien, un gran número de métodos para aislar CTC se encuentran en desarrollo, todavía ninguno tiene el mismo grado de estricta validación y calificación de CellSearch, que nos permita un uso fiable en ensayos clínicos.²³⁸

1.2.2 Células tumorales circulantes en cáncer de mama

La detección de 5 o más CTC en muestras de sangre de pacientes con CMM ha demostrado ser un factor predictivo de supervivencia libre de progresión (SLP) y SG.^{222-224,237,245-255}

Cristofanilli y cols., llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que se incluyeron 177 pacientes con CMM que iban a iniciar una nueva línea de tratamiento, a las que se les realizó dos determinaciones de CTC, la primera al iniciar el tratamiento y la segunda en la primera visita de seguimiento.²²² Se observó que los pacientes con un recuento de CTC ≥ 5 al iniciar el tratamiento, tuvieron una SLP (3 meses vs 7 meses; $P < 0,001$) y SG (10 meses vs 22 meses; $P < 0,001$) significativamente más cortas, comparado con aquellos pacientes con un recuento de CTC < 5 . Aquellos pacientes con ≥ 5 CTC en la primera visita de seguimiento, también tuvieron un peor SLP (2 meses vs 7 meses; $P < 0,001$) y SG (8 meses vs 18 meses; $P < 0,001$), comparado con los pacientes con < 5 CTC. Además, aquellos pacientes con una determinación basal ≥ 5 CTC que presentaron un recuento de CTC < 5 en la primera visita de seguimiento, tuvieron mejores SLP (8 meses vs 2 meses; $P = 0,002$) y SG (15 meses vs 9 meses;

$P = 0,006$) que aquellos que tuvieron una reducción de CTC con respecto al basal, pero que continuaban con un recuento de CTC ≥ 5 en la primera visita de seguimiento.

Recientemente, Martin y cols.,²³⁷ llevaron a cabo un estudio en el que se incluyeron 99 pacientes evaluables con CMM que iban a iniciar una nueva línea de tratamiento, a las que se les realizó dos determinaciones de CTC, la primera antes de iniciar el primer ciclo y la segunda inmediatamente antes de administrarse el segundo ciclo. Se observó que aquellos pacientes con < 5 CTC antes de iniciar el segundo ciclo, presentaron una tasa de beneficio clínico (77% vs 44%; $P = 0,0051$), una SLP (9 meses vs 3 meses; $P = 0,001$) y una SG (39 meses vs 9 meses; $P < 0,001$) significativamente mejores, comparado con aquellos pacientes con ≥ 5 CTC.

Además, existen datos que sugieren que niveles elevados de CTC en cualquier momento durante el tratamiento, están asociados con progresión tumoral y que los niveles de CTC podrían detectar progresión de la enfermedad antes que las pruebas radiológicas.^{224,249,250}

Por otro lado, existen datos que sugieren que la presencia de CTC podría asociarse a un pobre pronóstico,^{246,251,253,254,256-261} en pacientes con cáncer de mama localizado. Además, hay datos que sugieren que la determinación de CTC

podría ser útil para monitorizar la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama.²⁶²

En un estudio prospectivo en el que se incluyeron 302 pacientes con cáncer de mama estadios I-III,²⁶⁰ a las que se les hizo una determinación de CTC antes de la cirugía y la quimioterapia adyuvante. Del total de pacientes, 73 (24%) presentaron ≥ 1 CTC. Tras una mediana de seguimiento de 35 meses, se observó que la presencia de ≥ 1 CTC se asoció a una peor SLE (HR 4,62; IC 95%: 1,79-11,9; $P = 0,002$) y SG (HR 4,04; IC 95%: 1,28-12,8; $P = 0,02$). En la misma línea, Franken y cols., llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que se incluyeron 404 pacientes con cáncer de mama estadios I-III, a quienes se les realizó una determinación de CTC antes de la cirugía.²⁶¹ De estos pacientes, 76 (19%) presentaron ≥ 1 CTC. Se observó que la tasa de supervivencia libre de recurrencia a 4 años en pacientes con < 1 CTC fue 88,4%, comparado con 78,9% en pacientes con ≥ 1 CTC ($P = 0,038$). Asimismo, la tasa de muerte por cáncer de mama en pacientes con < 1 CTC fue 4,3%, comparado con 14,5% en pacientes con ≥ 1 CTC ($P = 0,001$). Finalmente, un metaanálisis publicado por Zhang y cols., que incluyó mas de 6000 pacientes de 49 estudios,²⁵³ confirma el valor pronóstico de las CTC, tanto en el escenario metastásico (SLP: HR 1,78; IC 95%: 1,52-2,09; $P < 0,01$; SG: HR 2,33; IC 95%: 2,09-2,60; $P < 0,01$), como en el escenario adyuvante (SLE: HR 2,86; IC 95%: 2,19-3,75; $P < 0,01$; SG: HR 2,78; IC 95%: 2,22-3,48; $P < 0,01$).

Sin embargo, son necesarios ensayos clínicos con mayor tamaño muestral que confirmen estos resultados y nos permitan trasladarlos a la práctica clínica, donde podrían ser de gran utilidad para la toma de decisiones terapéuticas.

1.2.3 Células tumorales circulantes en cáncer de próstata

Las células tumorales que producen PSA pueden ser detectadas en la circulación sistémica de pacientes con cáncer de próstata.²²⁶ La cuantificación de CTC ha demostrado ser mejor predictor de supervivencia que la determinación de PSA en pacientes con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (CPRCm).^{263,264}

El punto de corte establecido para el recuento de CTC en pacientes con CPRCm es 5, de tal manera que la presencia de ≥ 5 CTC define a un grupo de pacientes con pronóstico desfavorable y la presencia de < 5 CTC define a un grupo de pacientes con buen pronóstico.²²⁵ Moreno y cols., llevaron a cabo un estudio piloto en el que se incluyeron 37 pacientes con cáncer de próstata metastásico a quienes se les realizó una determinación de CTC. Se observó que aquellos pacientes con < 5 CTC tenían una SG significativamente mas larga (> 4 años vs 0.7 años; $P = 0,002$), comparado con aquellos pacientes con un recuento de CTC ≥ 5 .

De Bono y cols., reportaron datos de un estudio en el que se incluyeron 231 pacientes evaluables con CPRCm que iban a iniciar una nueva línea de quimioterapia. ²²⁶ Se realizaron determinaciones de CTC antes de iniciar el tratamiento y mensualmente en varios puntos a lo largo del tratamiento. Se observó que aquellos pacientes con una determinación basal de ≥ 5 CTC presentaron una SG significativamente mas corta (11,5 meses vs 21,7 meses; HR 3,3; $P < 0,0001$), comparado con aquellos pacientes con una determinación basal < 5 CTC. Las múltiples determinaciones realizadas durante el tratamiento validaron la significancia pronóstica del recuento de CTC en los diferentes momentos. Aquellos pacientes cuyo recuento de CTC cambiaba de ≥ 5 CTC a < 5 CTC tuvieron una SG significativamente mayor (21,3 meses vs 6,8 meses; $P < 0,0001$), comparado con aquellos pacientes cuyo recuento continuaba siendo ≥ 5 .

El impacto de las CTC en el pronóstico de los pacientes con CPRCm fue también evaluado en el estudio fase III COU-AA-301 que comparó abiraterona – prednisona con placebo – prednisona en pacientes que habían progresado a docetaxel. ²⁶⁵ Se realizaron determinaciones de CTC en 972 de 1.195 pacientes, antes de iniciar el tratamiento y luego a las 4, 8 y 12 semanas. Se observó que la mediana de la SG fue significativamente mayor en aquellos pacientes con un recuento basal de CTC < 5 (brazo experimental: 22,1 meses vs 10,9 meses; brazo control: 19,7 meses vs 8,2 meses), comparado con aquellos pacientes con un recuento basal de CTC ≥ 5 . Entre los pacientes con una determinación basal de ≥ 5 CTC, un significativamente mayor número de pacientes tratados con

abiraterona tuvieron un descenso de los niveles de CTC a < 5 , en comparación con aquellos pacientes tratados con placebo (48% vs 17% a las 12 semanas).

1.2.4 Células tumorales circulantes en cáncer de colon

En un estudio llevado a cabo por Sastre y cols., en el que se realizó una determinación de CTC a 97 pacientes con CCR y 30 pacientes sanos, se definió como positividad un recuento de CTC ≥ 2 , encontrándose una correlación significativa entre la positividad para CTC y el estadio de la enfermedad (estadio II: 21%, estadio III: 24%, estadio IV: 61%; $P = 0,005$).²³¹

Si bien, varios estudios han evaluado el papel de las CTC en pacientes con CCR metastásico, demostrando que es un factor pronóstico y predictor independiente de la SLP y SG,^{230,232,234-236,266-268} hay pocos datos disponibles en el escenario adyuvante y su papel en estos pacientes aún no está completamente definido.^{227-229,269-274}

Cohen y cols., llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que se incluyeron 430 pacientes con CCR metastásico que iban a iniciar una nueva línea de tratamiento, a los que se les realizó determinaciones de CTC, basal y durante el tratamiento.^{230,232} Los pacientes fueron estratificados en dos grupos pronósticos: desfavorable (CTC ≥ 3) y favorable (CTC < 3). Tras una mediana de seguimiento de 25,8 meses se observó que los pacientes con una determinación

basal de CTC ≥ 3 presentaron una peor SLP (4,4 meses vs 7,8 meses; $P = 0,004$) y SG (9,4 meses vs 20,6 meses; $P < 0,0001$), comparado con aquellos pacientes con una determinación basal de CTC < 3 .²³² En la misma línea, Tol y cols., evaluaron el papel de las CTC en 467 pacientes con CCR metastásico que habían sido incluidos en el estudio fase III CAIRO2.²³⁴ Se les realizó determinaciones de CTC, basal y en varios puntos durante el tratamiento, observándose que en el total de la población, la SLP y la SG fue significativamente mas corta entre los pacientes con ≥ 3 CTC (SLP: 8,1 meses vs 10,5 meses; $P = 0,0003$; HR 1,5; IC 95%: 1,2-1,9; SG: 13,7 meses vs 22 meses; $P < 0,0001$; HR 2,2; IC 95%: 1,7-2,9), en comparación con aquellos pacientes con < 3 CTC. Esta diferencia en SLP y SG continuó siendo estadísticamente significativa en todos los puntos evaluados durante el tratamiento. En este estudio, además se evaluó el valor predictivo de las CTC definiendo 3 grupos de pacientes: grupo I (una determinación basal de CTC < 3 que continuaba siendo < 3 tras 1-2 semanas de tratamiento), grupo II (una determinación basal de CTC ≥ 3 que disminuyó a < 3 tras 1-2 semanas de tratamiento) y grupo III (un recuento de CTC ≥ 3 tras 1-2 semanas de tratamiento, independientemente de la determinación basal). Se observó que la SLP fue significativamente mayor en los grupos I (10,5 meses vs 3,9 meses; $P < 0,0001$) y II (7,9 meses vs 3,9 meses; $P = 0,0003$), en comparación con el grupo III. La SG para los grupos I, II y III fue 21,9 meses, 14,5 meses y 6,3 meses, respectivamente, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,0001$). En un publicación mas reciente, Sastre y cols. confirman el valor pronóstico de las CTC en un estudio llevado a cabo en pacientes incluidos en el

ensayo clínico MACRO (estudio que evalúa el mantenimiento con sólo bevacizumab vs bevacizumab más quimioterapia en la primera línea del CCR metastásico). Se realizaron determinaciones de CTC en 180 pacientes, una determinación basal y otra tras 3 ciclos de tratamiento. Se observó que aquellos pacientes con un recuento basal de CTC ≥ 3 tuvieron una SLP (7,8 meses vs 12 meses; $P = 0,0002$) y SG (17,7 meses vs 25,1 meses; $P = 0,0059$) significativamente más cortas que aquellos pacientes con un recuento basal de CTC < 3 . Estas diferencias en SLP y SG se confirmaron en la determinación realizada tras 3 ciclos de tratamiento (SLP: 7,5 meses vs 10,8 meses; $P = 0,005$; SG: 16,2 meses vs 25,1 meses; $P = 0,0095$).

En el escenario del CCR localizado, si bien existen datos que han sugerido que las CTC son un factor pronóstico para la SLE y SG, ^{229,270-273} hay algunos estudios que rechazan esta hipótesis. ^{228,269} Aunque hay que tener en cuenta que estos últimos estudios han sido llevados a cabo con técnicas menos precisas para la identificación de CTC que el sistema CellSearch, lo cual podría influir en los resultados, ya que se ha observado que el número de CTC en pacientes con enfermedad localizada es escaso y se necesitan técnicas muy sensibles y específicas para su identificación. ^{273,275}

En un metaanálisis llevado a cabo por Rahbari y cols., ²⁷¹ se encontró que la detección de CTC en sangre periférica se asoció significativamente a una

supervivencia libre de recaída mas corta (HR 3,06; IC 95%: 1,74-5,38) y a una peor SG (HR 2,70; IC 95%: 1,74-4,20).

Si bien, la mayor cantidad de datos disponibles apoyan la hipótesis de que las CTC son un factor pronóstico en pacientes con CCR localizado, estos estudios ha sido llevados a cabo con técnicas de detección diferentes, lo cual impide sacar conclusiones definitivas.

Finalmente, aunque en el escenario metastásico el punto de corte establecido para su uso clínico es 3 CTC (≥ 3 vs < 3), este aún no ha sido definido en el escenario adyuvante.

Este estudio busca definir el papel de las CTC en pacientes con cáncer de colon estadio III, para lo cual hemos usado la técnica CellSearch que es la única aprobada por la FDA hasta la actualidad para la identificación de CTC en pacientes con CCR.

2. HIPÓTESIS

El beneficio absoluto de la quimioterapia adyuvante en pacientes con CCR estadio III es de aproximadamente 15-20%, comparado con sólo tratamiento quirúrgico, lo cual significa que la mayoría de pacientes que reciben terapia adyuvante no obtienen beneficio de ella. Es por eso que la identificación de marcadores predictivos y/o pronósticos nos podría permitir una adecuada selección de aquellos pacientes con alto riesgo de recaída en quienes deberíamos valorar estrategias terapéuticas agresivas y un seguimiento más estrecho, y de aquellos pacientes de buen pronóstico en los que la quimioterapia sería innecesaria.

La detección de CTC en pacientes con cáncer de colon estadio III podría identificarnos el subgrupo de pacientes de peor pronóstico, que serían los que obtendrían un mayor beneficio de la quimioterapia adyuvante y a quienes deberíamos realizar un seguimiento más estrecho.

Los pacientes con cáncer de colon estadio III en los que no se detecten CTC podrían corresponder al subgrupo de mejor pronóstico, en quienes se podría valorar obviar el tratamiento adyuvante y evitar las toxicidades asociadas.

3. OBJETIVOS

El objetivo primario del estudio es correlacionar el recuento de CTC como variable continua con la SLE y la SG, en la población global y por subestadios (IIIA, IIIB y IIIC).

Los objetivos secundarios fueron los siguientes:

- Definir el punto de corte óptimo de CTC que pueda marcar carácter pronóstico, en pacientes con CCR estadio III.
- Correlacionar las características las características clínico-patológicas (grado de diferenciación, número de ganglios resecados, número de ganglios afectados, T4, perforación u obstrucción intestinal, infiltración de vasos linfáticos, infiltración vascular) con la SLE y SG, mediante un análisis univariable y multivariable.
- Correlacionar el recuento de CTC, teniendo en cuenta el punto de corte óptimo identificado, con la SLE y la SG, en la población global, tras ajustar un modelo por las variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis univariable.

4. PACIENTES Y MÉTODOS

4.1 Diseño del estudio

Es un estudio prospectivo, multicéntrico, llevado a cabo en 35 centros de España, para evaluar el valor pronóstico de las CTC en una población seleccionada de pacientes con cáncer de colon estadio III, para lo cual se realizó una determinación de CTC mediante el sistema CellSearch, después de la cirugía y antes de iniciar el tratamiento adyuvante. Posteriormente los pacientes han sido seguidos en intervalos de 6 meses hasta completar 3 años de seguimiento del último paciente incluido, momento en el que estaba previsto realizar el primer análisis intermedio. El seguimiento de los pacientes continuará hasta completar 5 años del último paciente incluido, momento en el que está previsto realizar el análisis final del estudio.

4.2 Consideraciones éticas

Este estudio se está llevando a cabo en cumplimiento con el protocolo, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, la ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, la última versión de la declaración de Helsinki, el convenio de Oviedo sobre los derechos humanos y biomedicina, así como cualquier norma y/o legislación que le sea de aplicación. El estudio fue aprobado

por el comité de ética institucional. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio.

4.3 Pacientes

Se incluyeron pacientes diagnosticados e intervenidos de cáncer de colon estadio III entre Enero 2009 y Junio 2010, de diferentes centros pertenecientes a la RTICC (Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer) y al Grupo TTD (Grupo Español para el Tratamiento de Tumores Digestivos), a quienes tras la cirugía se les realizó la determinación de CTC, antes de iniciar el tratamiento adyuvante respectivo. Los centros participantes y sus investigadores principales fueron:

- Hospital Universitario Central de Asturias (Dr. J.M. Viéitez).
- Hospital Universitario Miguel Servet (Dr. V. Alonso).
- Hospital Universitario 12 de Octubre (Dra. C. Grávalos).
- Hospital Universitario Clínico San Carlos (Dr. J. Sastre).
- Hospital Universitario Gregorio Marañón (Dra. P. García Alfonso).

- Hospital Universitario Lozano Blesa (Dra. P. Escudero).
- Hospital Universitario Reina Sofía (Dr. E. Aranda).
- Complejo Hospitalario de Navarra (Dra. R. Vera).
- Hospital General Universitario de Elche (Dr. J. Gallego).
- Hospital Marqués de Valdecilla (Dr. F. Rivera).
- Corporació Sanitària Parc Taulí (Dr. C. Pericay).
- Hospital Son Llatzer (Dra. T. Fernández).
- Hospital General de Granollers (Dra. P. Vicente).
- Hospital Nuestra Señora de Valme (Dra. A. López-Ladrón).
- Hospital Virgen de las Nieves (Dra. B. González).
- Hospital de Fuenlabrada (Dr. D. Gutiérrez).
- Hospital Universitario de la Princesa (Dra. O. Donnay).

- Hospital Vall d'Hebrón (Dra. E. Elez).
- Hospital del Mar (Dra. C. Montagut).
- Hospital de Torrevieja (Dr. J. C. Toral).
- ICO. Hospital Duran i Reynals (Dra. B. Laquente).
- Hospital Virgen de la Salud (Dr. L.J. López).
- Hospital General de Elda (Dra. A. Juárez).
- Hospital Universitario de Canarias (Dra. B. Alonso).
- Hospital San Agustín (Dra. P. García).
- Hospital Dr. Peset (Dr. C. Bosch).
- Hospital de Mataró (Dra. M. Zanui).
- Fundación Jiménez Díaz (Dra. A.I. León).

- Hospital Ramón y Cajal (Dra. C. Guillén).
- Hospital General Universitario de Alicante (Dr. B. Massutí).
- Hospital Virgen de los Lirios (Dr. A. Rizo).
- ICO. Hospital Germans Trias i Pujol (Dr. J.L. Manzano).
- ICO. Hospital Josep Trueta (Dr. X. Hernández).
- Hospital Morales Meseguer (Dra. T. García).
- Hospital Universitario Insular (Dr. A. Murias).

4.3.1 Criterios de inclusión.

- Consentimiento informado por escrito.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes con tumor localizado en colon o recto superior (por encima de la reflexión peritoneal).

- Pacientes sometidos a cirugía con intención curativa.
- Diagnostico anatomopatológico de adenocarcinoma de intestino grueso estadio III.
- No haber recibido quimioterapia y/o radioterapia previa.

4.3.2 Criterios de exclusión.

- Diagnostico previo de cualquier otra neoplasia incluidos carcinomas in situ.
- Resección incompleta del tumor primario.
- Evidencia de enfermedad metastásica.

4.3.3 Tamaño muestral.

El tamaño muestral de este estudio es de 519 pacientes, a quienes se les realizó una determinación de CTC tras la resección quirúrgica del tumor

primario. Se ha seleccionado la supervivencia global a los 3 y 5 años como variable de resultado principal, siendo la estimación aproximada de esta última en esta población del 75%. En base a una supervivencia esperada a los 5 años del 90% en el grupo de pacientes de buen pronóstico y una supervivencia del 60% en el grupo de pacientes de mal pronóstico, teniendo en cuenta un porcentaje de pérdidas del 10%, se podrá obtener una potencia del 90% para encontrar diferencias de contraste de hipótesis bilateral de igualdad de curvas de supervivencia entre los 2 grupos (nivel de significación del 5%). El tamaño muestral se ha estimado para la frecuencia más baja esperada (8%) del factor pronóstico en estudio (CTC).

4.4 Tratamiento y seguimiento

La decisión de administrar quimioterapia adyuvante y la elección del esquema a usar, fueron a criterio del médico tratante. El seguimiento de los pacientes se realizó cada 6 meses aproximadamente con analítica completa que incluía marcadores tumorales, pruebas de imagen y colonoscopia según los protocolos de cada hospital.

4.5 Procedimientos del estudio

4.5.1 Procedimiento de obtención y envío de muestras.

Se extrajo una muestra de sangre periférica (10mL) tras la cirugía, entre las 6-8 semanas, inmediatamente antes de iniciar el tratamiento adyuvante. El tiempo máximo entre la extracción y el procesamiento de las muestras no fue mayor de 72 horas.

4.5.2 Procesamiento de las muestras y técnicas utilizadas.

Las muestras se conservaron en tubos de Cellsave® que permiten preservar las células durante 72 horas a temperatura ambiente. Se añadió a 7,5 ml de sangre un ferrofluido con partículas inmunomagnéticas marcadas con anticuerpos que se unen a las moléculas de adhesión epitelial EpCAM. Las células aisladas se tiñeron mediante fluorescencia con DAPI para el núcleo celular, anticuerpo monoclonal específico para leucocitos CD45 y anticuerpos para CK-PE y se analizaron con el CellSpotter Analyser (Veridex® LLC, 33 Technology Drive Warren, NJ 07059 1-877-Veridex, EE.UU.). En el análisis se presentaron imágenes celulares que se verificaron como CTC. Las CTC aisladas cumplieron los siguientes criterios: morfología de redonda a oval con diámetro mayor de 4 µm, citoplasma teñido con CK-PE y negativo con CD45 y más del 50% del núcleo

teñido con DAPI en el interior citoplasmático. Los resultados son expresados como el número de CTC/7,5 ml de sangre.

4.5.3 Laboratorio central.

El procesamiento de las muestras fue centralizado. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Análisis Clínico del Hospital Clínico San Carlos. El equipo de trabajo encargado del procesamiento de las muestras fue dirigido por la Dra. Maestro de las Casas.

Las muestras se procesaron desconociendo los datos clínicos de los pacientes. La interpretación de estos resultados la han realizado independientemente 3 especialistas específicamente formados, sin que tuviesen información previa de las características clínicas de los pacientes.

4.6 Recogida de datos.

Los datos fueron recogidos en los cuadernos de recogida de datos (CRD), de las historias clínicas de los pacientes, en cada centro participante. Estos CRDs posteriormente fueron remitidos al Servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico San Carlos. Posteriormente todos los datos fueron introducidos en una

base de datos única, la cual fue diseñada en el programa ACCESS, en el Servicio de Estadística y Epidemiología del Hospital Clínico San Carlos, por la Dra. Cristina Fernández.

4.7 Análisis estadístico

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumen en su media y desviación estándar o su mediana y rango intercuartílico para variables que no sigan una distribución normal. Las variables dependientes del estudio son la SLE y la SG. La variable independiente es el recuento de CTC. La SLE fue calculada desde la fecha de determinación de CTC hasta la fecha de recaída o muerte, o fecha de último seguimiento si es que no se hubiese producido ninguno de los eventos. La SG fue calculada desde la fecha de determinación de CTC hasta la fecha de muerte o último seguimiento.

Se analizó el porcentaje de recidivas en función del número de CTC con el test de Chi-cuadrado. La SLE y SG fueron resumidas usando las curvas Kaplan Meier. Se compararán las curvas de supervivencia en función del recuento de CTC. Las curvas de supervivencia fueron comparadas mediante la prueba de Log rank.

Se realizó un análisis univariable de los factores pronósticos ya conocidos en esta población. El análisis univariable fue realizado usando el método de Kaplan Meier y el modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se estratificaron los datos para evaluar el efecto del número de CTC en la SLE y SG por estadio, tratamiento y factores pronósticos. Mediante un análisis multivariable, se ajustó un modelo por los factores pronósticos que mostraron asociación significativa ($P < 0,05$) con la SLE y la SG. El análisis multivariable fue realizado usando el modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se presentan las razones de tasas (hazard ratio, HR) ajustados junto a sus intervalos de confianza al 95%.

Todas las pruebas estadísticas fueron bilaterales y se consideró el nivel de significación de $P < 0,05$. El análisis estadístico fue realizado usando el SPSS versión 15.0 para Windows.

5. RESULTADOS

5.1 Características de los pacientes

Se seleccionaron 567 pacientes, de los cuales 519 tuvieron una determinación correcta de CTC. Sólo 472 pacientes fueron incluidos en este análisis, dado que 21 pacientes fueron fallos de screening y los datos clínicos de los 26 restantes no se encontraban disponibles.

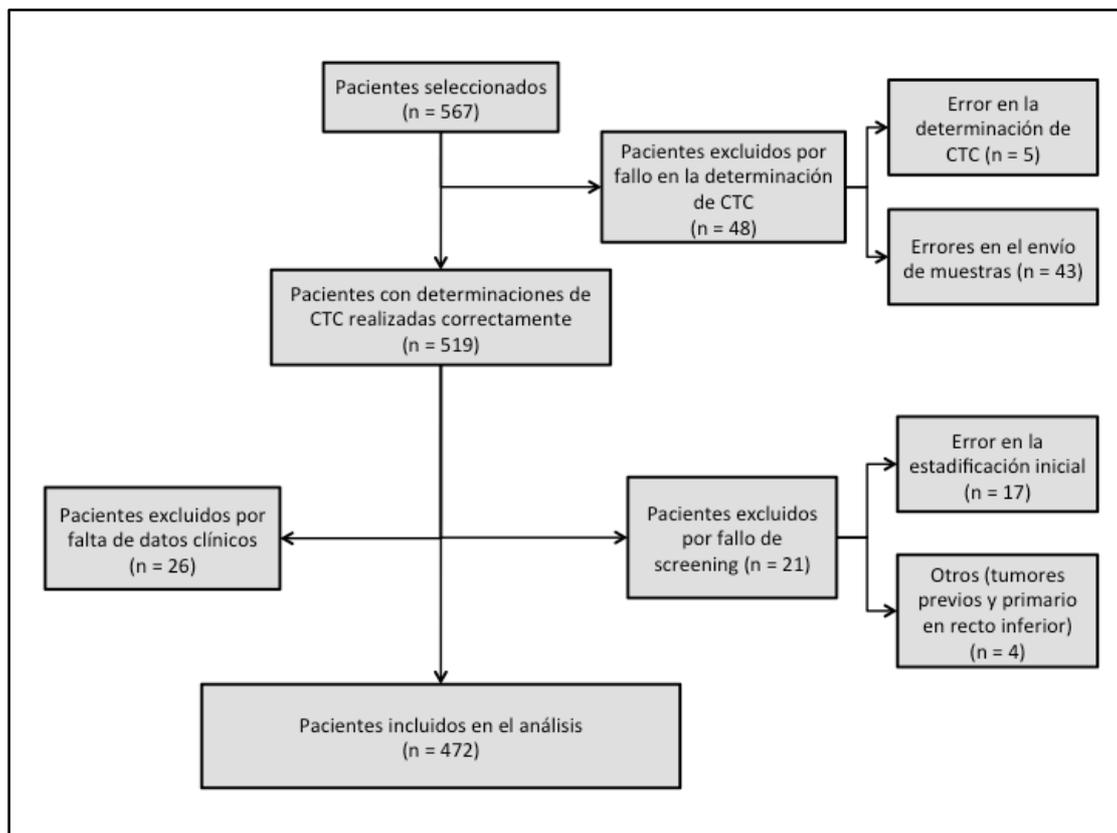


Figura 3: Diagrama de flujo de los pacientes del estudio.

5.1.1 Sexo y edad

En la población incluida en este análisis, el 53,7% de los pacientes fueron hombres y el 46,3% fueron mujeres. La media de la edad fue 64,9 años, con una desviación estándar de 10,3 y una mediana de 66 años (rango intercuartílico $P_{25}=59$, $P_{75}=73$).

5.1.2 Localización del tumor

De los 472 pacientes, 425 (90%) presentaron un tumor localizado en colon y sólo 47 (10%) presentaron un tumor localizado en recto superior.

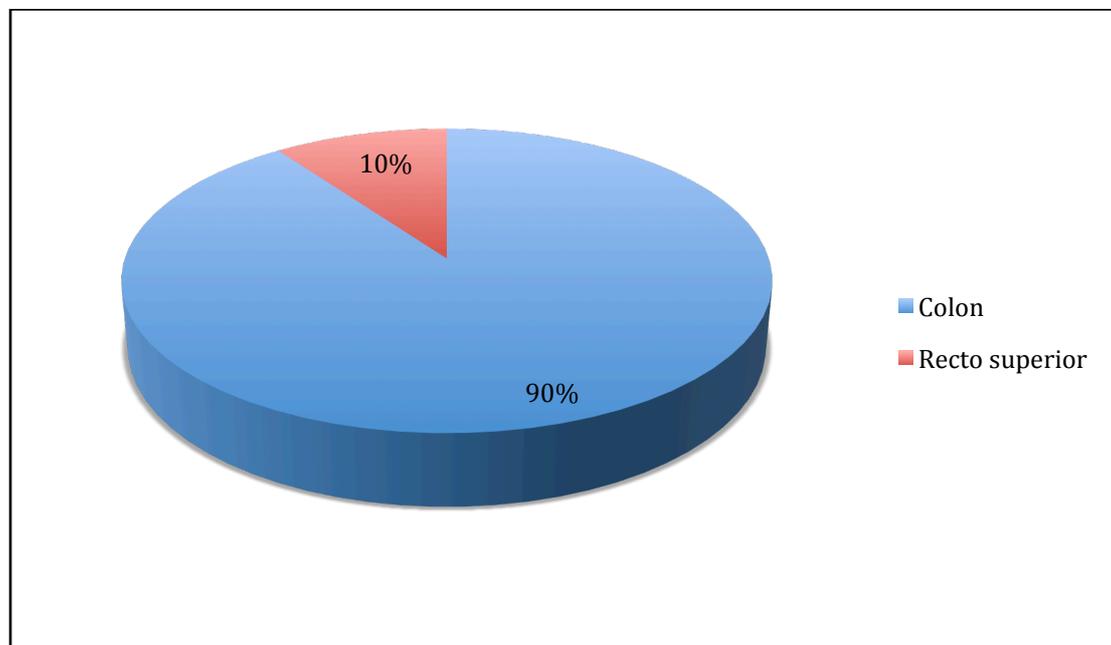


Figura 4: Distribución de los pacientes según la localización del tumor primario.

5.1.3 Grado de diferenciación histológica

Con respecto al grado de diferenciación, 146 (35%) tumores eran bien diferenciados, 195 (47%) tumores eran moderadamente diferenciados y sólo 72 (18%) fueron pobremente diferenciados. En 59 de los 472 pacientes, el grado de diferenciación fue desconocido.

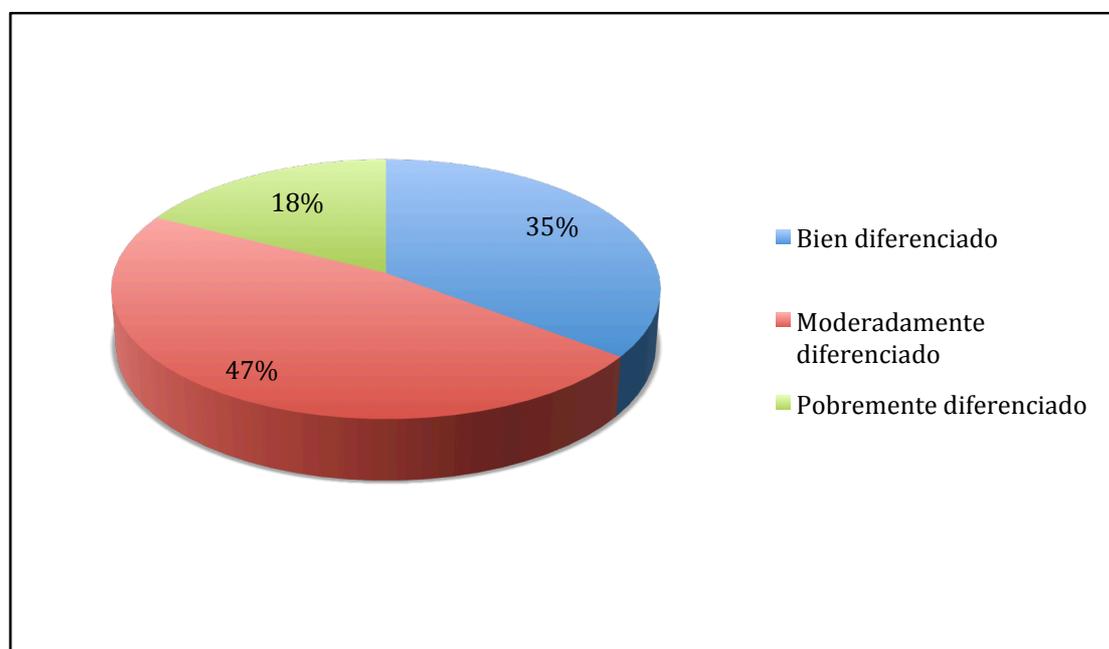


Figura 5: Distribución de los pacientes según el grado de diferenciación histológica del tumor primario.

5.1.4 Obstrucción / perforación

Del total de pacientes, 87 (18%) presentaron obstrucción o perforación intestinal y por lo tanto requirieron tratamiento quirúrgico urgente. Sólo en un

paciente este dato fue desconocido y los 384 (82%) pacientes restantes no presentaron ni obstrucción ni perforación intestinal



Figura 6: Distribución de los pacientes según la presencia de obstrucción/perforación.

5.1.5 Invasión linfovascular

Con respecto a la infiltración de vasos linfáticos, esta pudo observarse en 132 (39%) pacientes. En 206 (61%) pacientes no se observó esta característica y en 134 pacientes este dato fue desconocido.



Figura 7: Distribución de los pacientes según la presencia de infiltración de vasos linfáticos.

Con respecto a la infiltración vascular, esta pudo evidenciarse en 107 (29%) pacientes, mientras que 265 (71%) pacientes estaban libres de infiltración vascular. En 100 pacientes este dato fue desconocido.

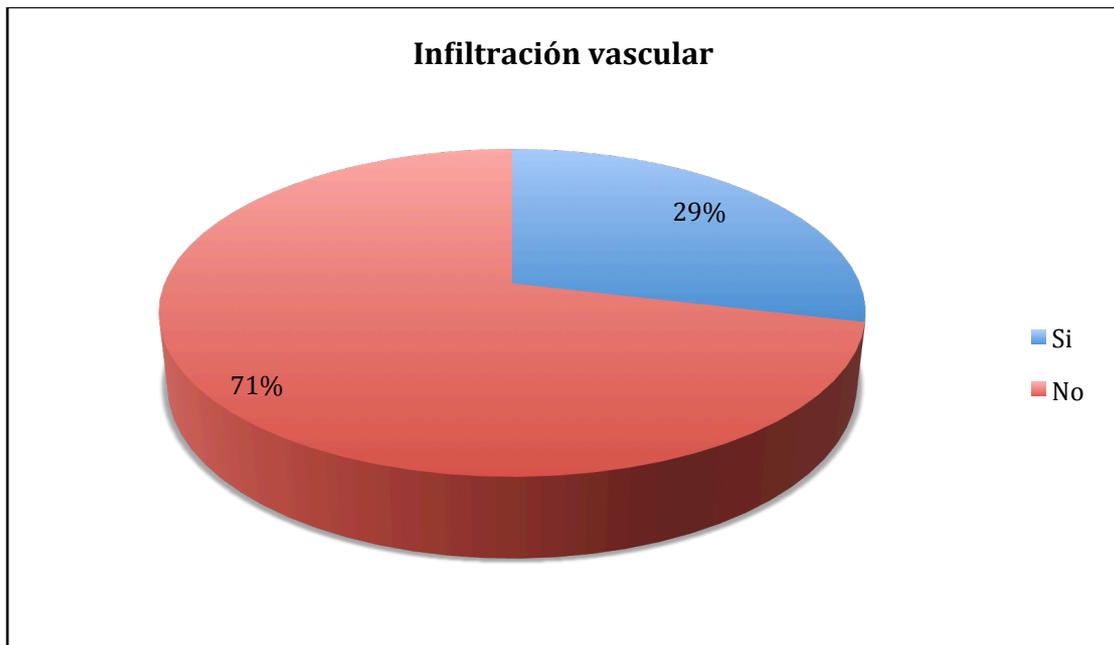


Figura 8: Distribución de los pacientes según la presencia de infiltración vascular.

5.1.6 Número de ganglios resecaados

Este dato fue desconocido en sólo 16 pacientes. De los 456 pacientes en los que este dato estuvo disponible, a 331 (73%) pacientes se les resecaó 13 o más ganglios y en 125 (27%) pacientes se realizó una linfadenectomía subóptima.

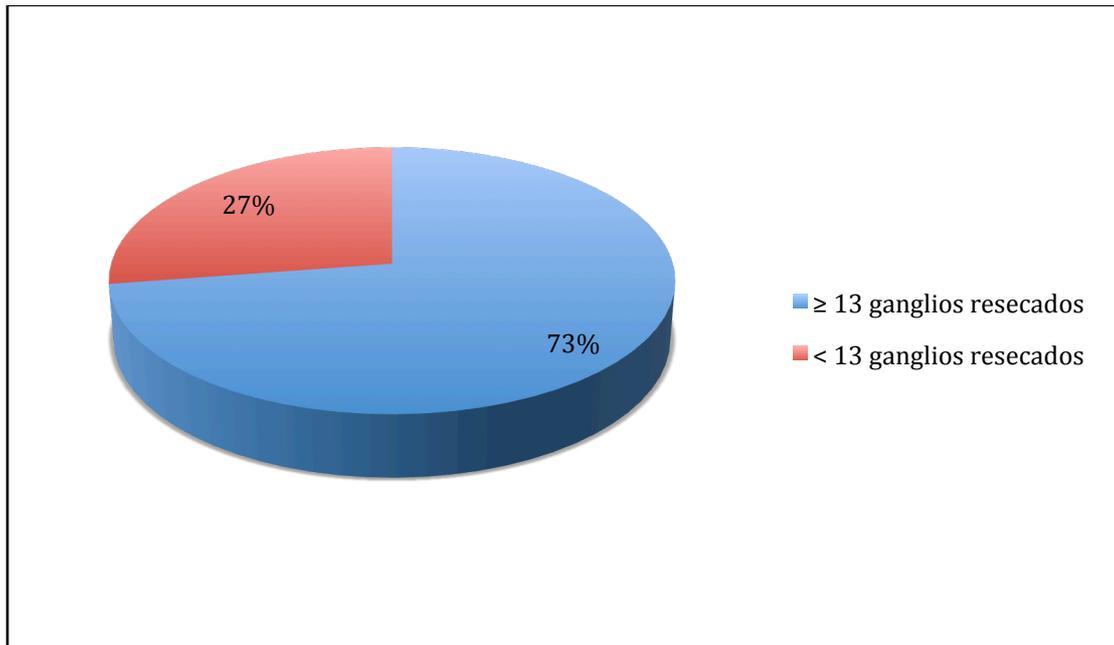


Figura 9: Distribución de los pacientes según el número de ganglios resecaos.

5.1.7 Estadío

Con respecto al estadío T, 121 (26%) pacientes tuvieron un tumor T4, 313 (66%) pacientes un tumor T3, 33 (7%) pacientes un tumor T2 y sólo 5 (1%) pacientes un tumor T1.

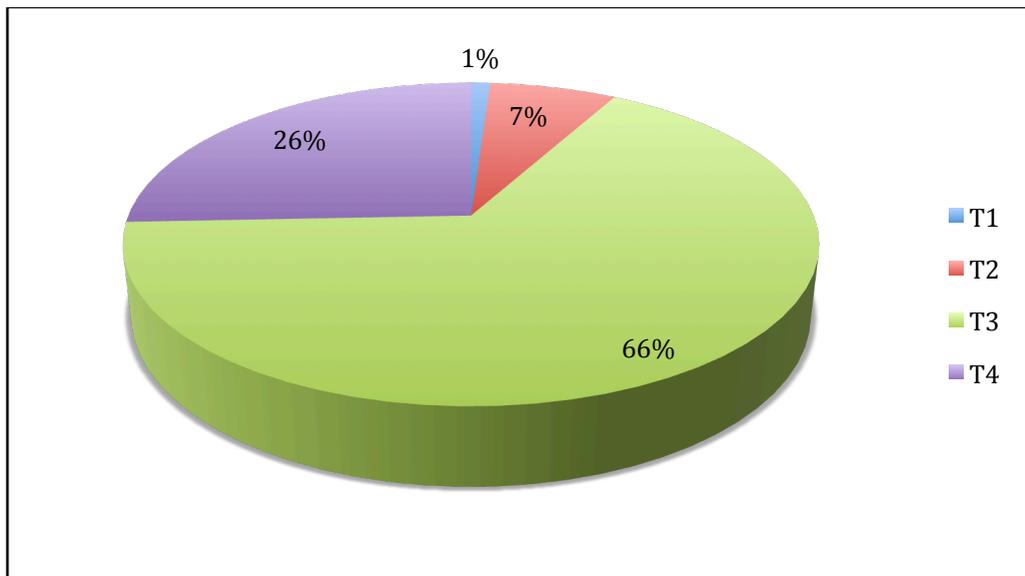


Figura 10: Distribución de los pacientes según el estadio T.

Con respecto al estadio N, 320 (68%) pacientes tuvieron un estadio N1 y 152 (32%) pacientes un estadio N2.

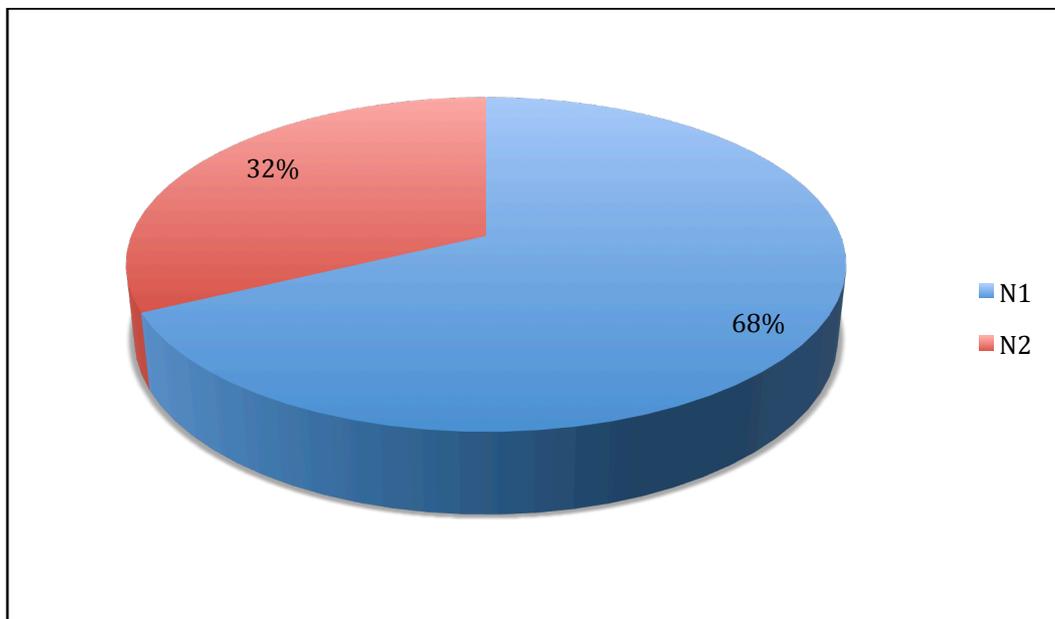


Figura 11: Distribución de los pacientes según el estadio N.

Del total de pacientes, 35 (8%) tuvieron un estadio IIIA, 346 (73%) un estadio IIIB y 91 (19%) un estadio IIIC.

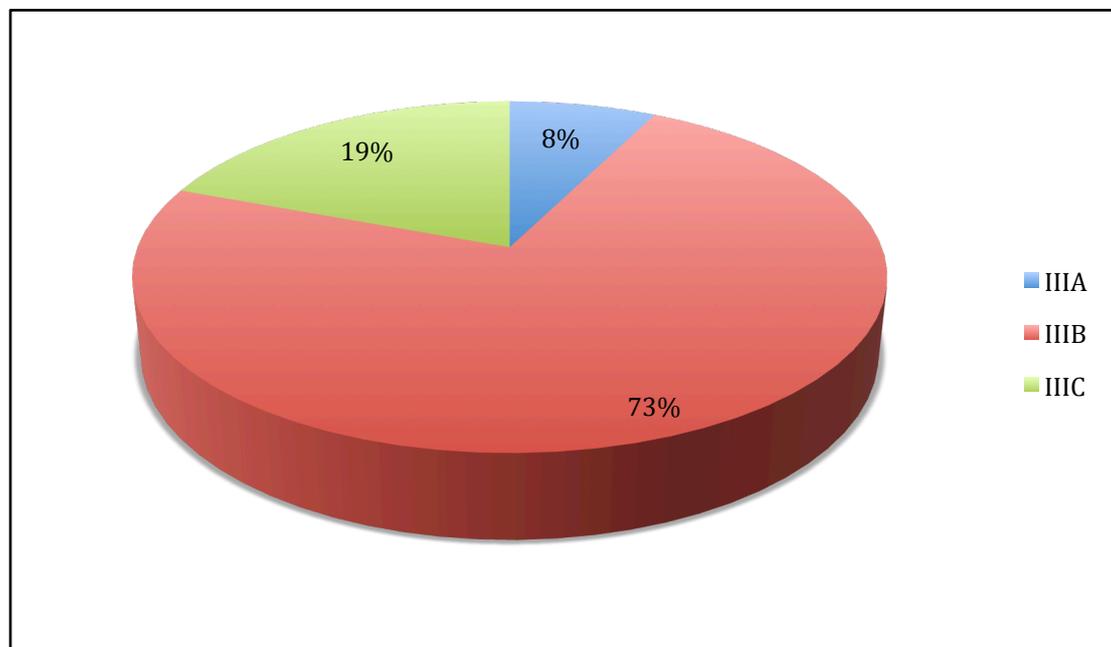


Figura 12: Distribución de los pacientes por estadios.

5.1.8 Tratamiento

Con respecto al ECOG Performance Status antes de iniciar el tratamiento, 244 (57%) pacientes tuvieron un ECOG 0, 160 (38%) pacientes un ECOG 1 y sólo 23 (5%) pacientes un ECOG 2. En los 45 pacientes restantes este dato fue desconocido.

Del total de la población, 446 (95%) pacientes recibieron quimioterapia adyuvante y sólo 24 (5%) no recibieron tratamiento. En sólo 2 de los pacientes este dato fue desconocido.

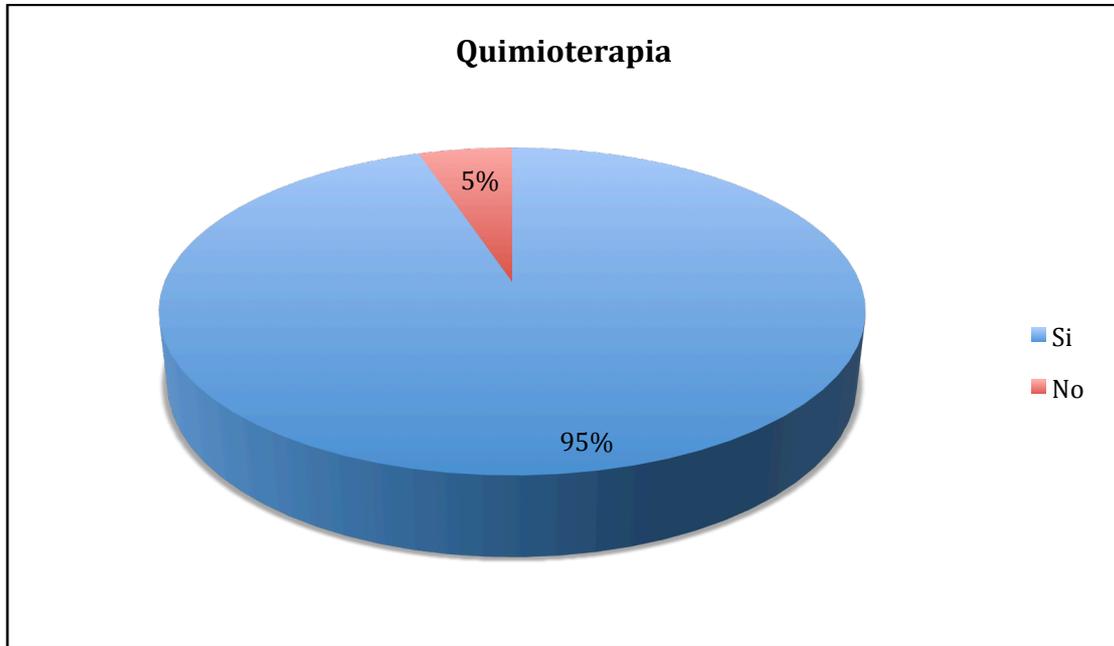


Figura 13: Distribución de los pacientes en función de la actitud terapéutica.

Con respecto al esquema usado, 94 (21%) pacientes recibieron tratamiento adyuvante con 5FU o capecitabina en monoterapia, 186 (42%) pacientes recibieron FOLFOX, 152 (34%) pacientes recibieron XELOX y sólo 11 (3%) pacientes recibieron otros tratamientos. Este dato fue desconocido en el resto de pacientes que recibieron tratamiento.

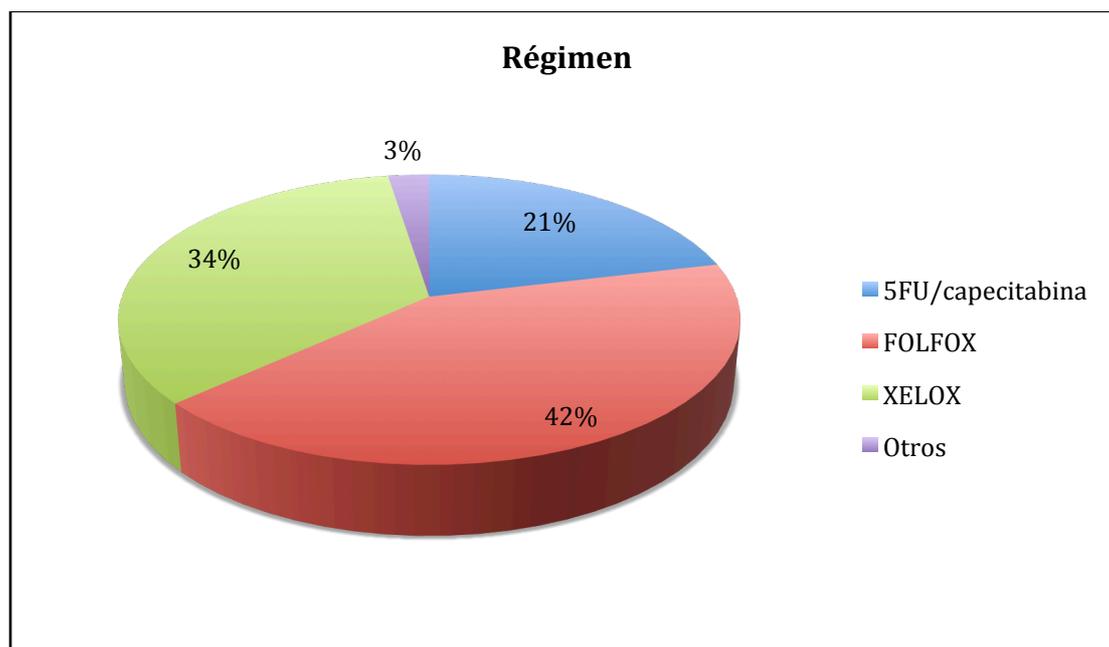


Figura 14: Distribución de los pacientes en función del esquema de quimioterapia usado.

Con respecto al motivo de fin de tratamiento, 334 (83%) pacientes finalizaron el tratamiento como lo tenían previsto y 35 (9%) tuvieron que suspenderlo por toxicidad asociada al tratamiento. En 42 pacientes el motivo de fin de tratamiento se desconocía y el resto de la población que recibió tratamiento (8%) lo suspendió por otros motivos no asociados al mismo.

5.1.9 Seguimiento

La mediana de seguimiento fue 40 meses (rango intercuartílico $P_{25}=35$, $P_{75}=45$).

Del total de la población, 135 (29%) pacientes presentaron recaída de la enfermedad, 335 (71%) pacientes se encontraban libres de enfermedad en el momento del análisis y en 2 pacientes este dato fue desconocido.



Figura 15: Distribución de los pacientes en función de la evidencia de recaída.

Hubo 34 pérdidas de seguimiento. En el momento del análisis 87 (20%) pacientes habían fallecido y 351 (80%) se encontraban vivos.

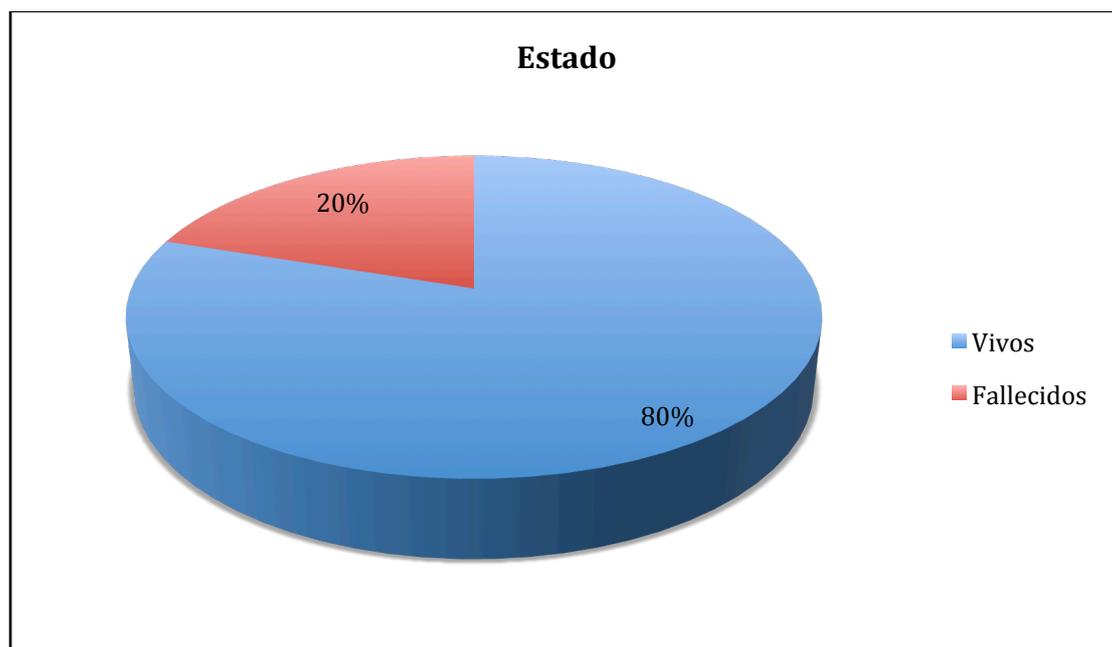


Figura 16: Distribución de los pacientes en función del estado en el momento del análisis.

5.2 Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en la población total.

Dado el escaso número de eventos producidos (29% de recaídas y 20% de muertes) hasta el momento de este primer análisis, ni la mediana de la SLE ni la mediana de la SG fueron alcanzadas. La tasa de SLE a 36 meses fue 72,3% (error estándar (EE) 2,1%) y la tasa de SG a 36 meses fue 86,3% (EE 1,6%).

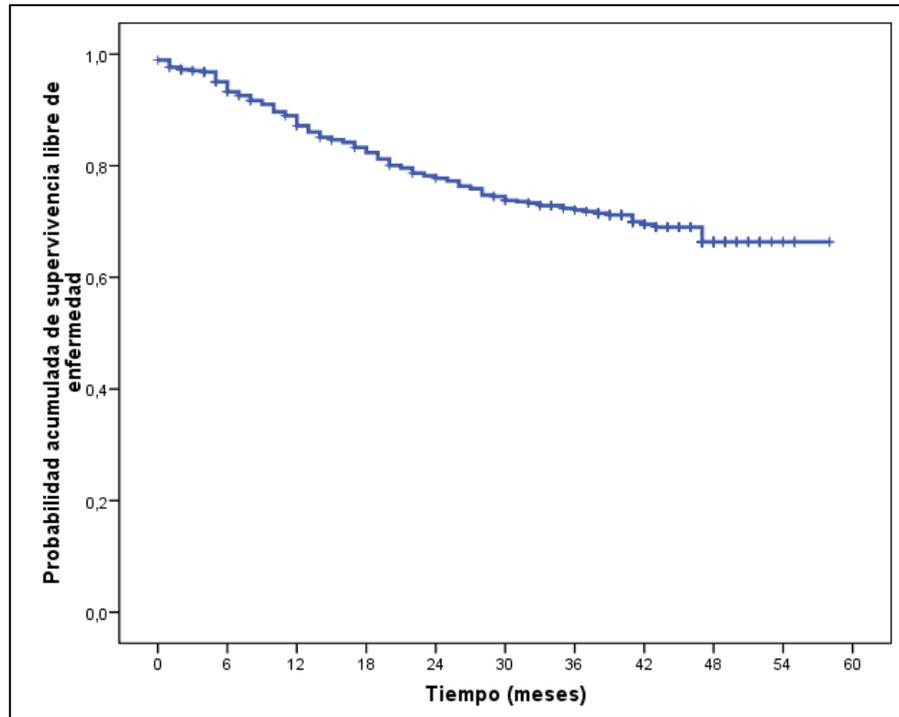


Figura 17: Supervivencia libre de enfermedad en la población global.

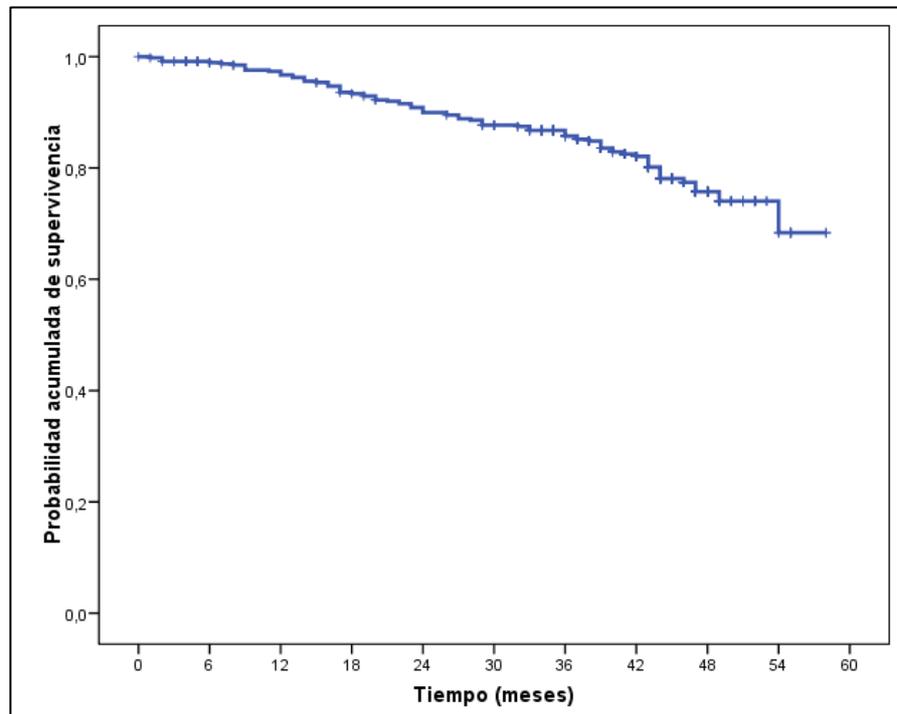


Figura 18: Supervivencia global en la población global.

5.3 Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en función del número de CTC en la población global

5.3.1 Punto de corte 1 CTC

Del total de la población, en 166 pacientes se detectaron ≥ 1 CTC, mientras que en los 306 pacientes restantes no se aislaron CTC (< 1 CTC).

En el grupo con < 1 CTC, el número de pacientes con recaída de la enfermedad fue 88 (29%), mientras que en el grupo con ≥ 1 CTC fue 46 (28%). Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. La tasa de SLE a 36 meses en el grupo con < 1 CTC fue 71,9% (EE 2,7%), mientras que en el grupo con ≥ 1 CTC fue 73,2% (EE 3,5%). No se observaron diferencias significativas en términos de SLE (HR 0,97; IC 95%: 0,68-1,38; $P = 0,85$) entre ambos grupos de pacientes.

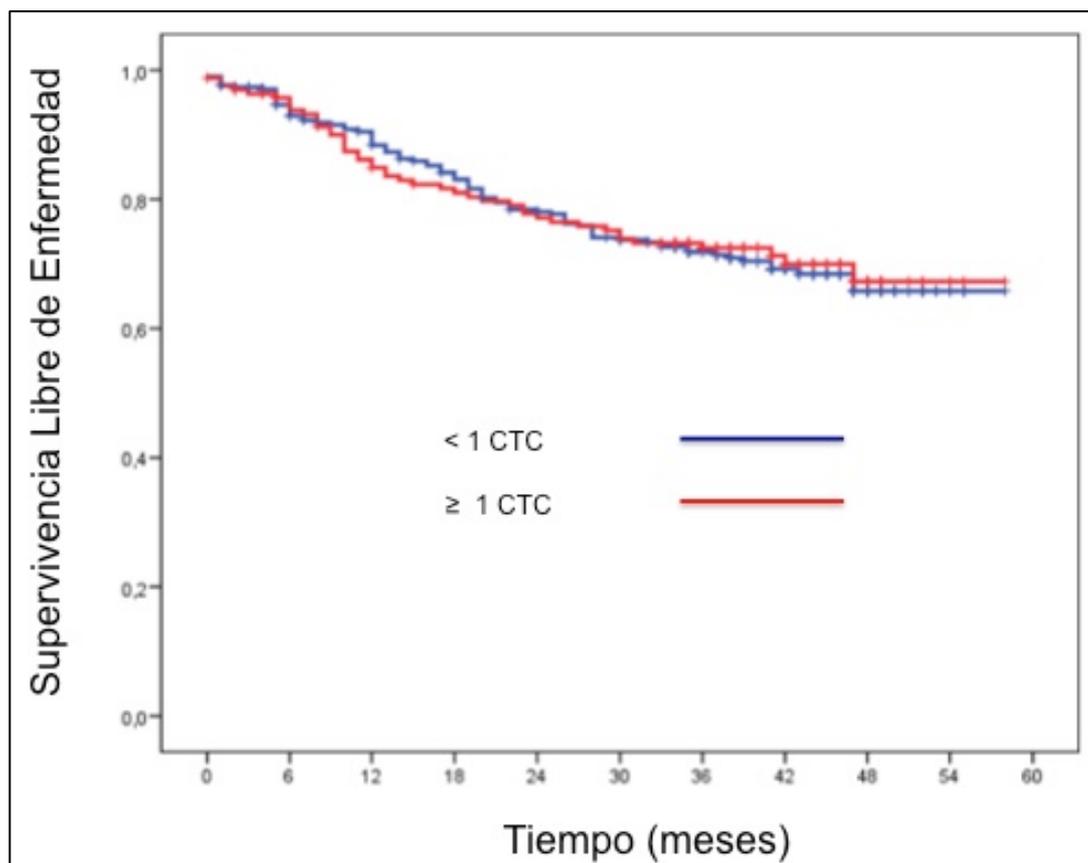


Figura 19: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC).

En el grupo con < 1 CTC, el número de pacientes fallecidos fue 56 (18%), mientras que en el grupo con ≥ 1 CTC fue 31 (19%). Las medianas de SG no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. La tasa de SG a 36 meses en el grupo con < 1 CTC fue 86,7% (EE 2,0%), mientras que en el grupo con ≥ 1 CTC fue 85,5% (EE 2,8%). No se observaron diferencias significativas en SG entre ambos grupos de pacientes (HR 1,03; IC 95%: 0,66-1,59; $P = 0,89$).

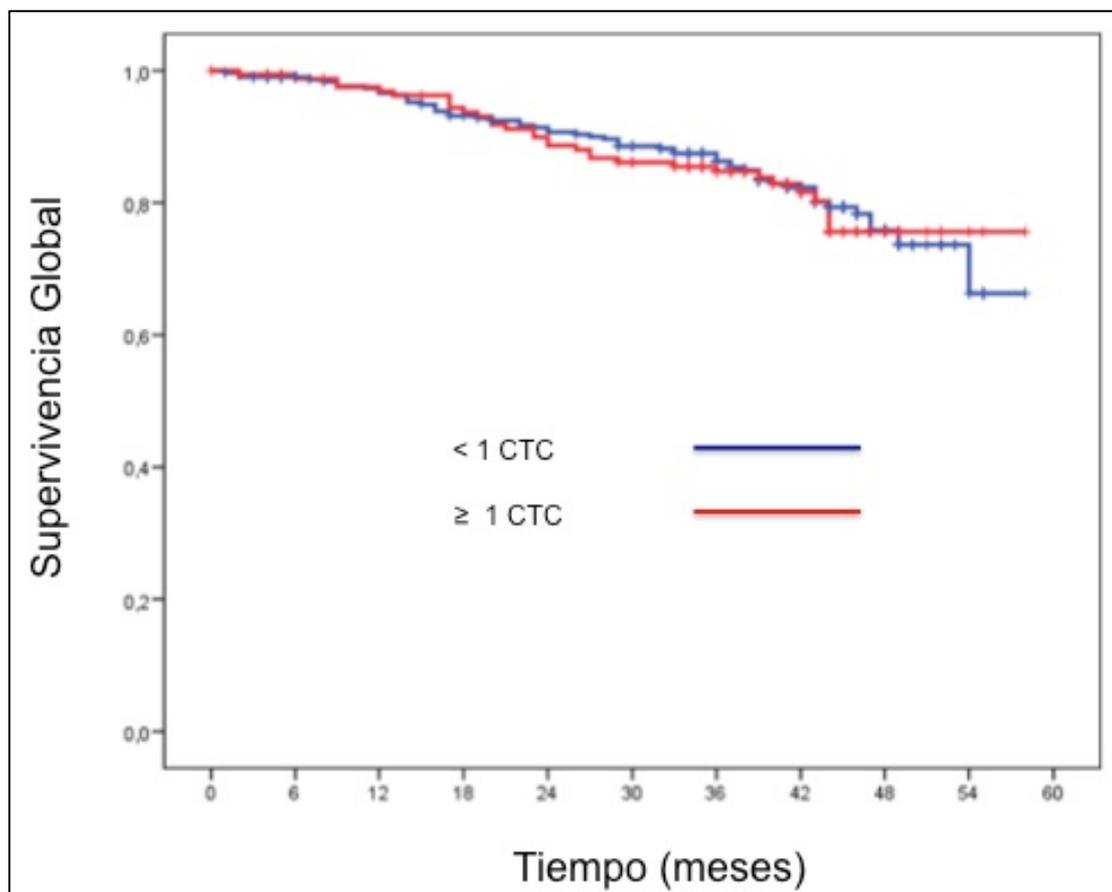


Figura 20: Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC).

5.3.2 Punto de corte 2 CTC

Del total de pacientes, en 93 se detectaron ≥ 2 CTC, mientras que en los 379 pacientes restantes se identificaron < 2 CTC.

Entre los pacientes con < 2 CTC, 107 (28%) presentaron recaída de la enfermedad, mientras que entre aquellos pacientes con ≥ 2 CTC, 27 (29%) presentaron una recaída confirmada. Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos de pacientes. Mientras que la tasa de SLE a 36

meses en el grupo con < 2 CTC fue 72,4% (EE 2,4%), en el grupo con ≥ 2 CTC fue 72,3% (EE 4,8%). No se observaron diferencias significativas en términos de SLE entre ambos grupos (HR 1,07; IC 95%: 0,70-1,63; $P = 0,76$).

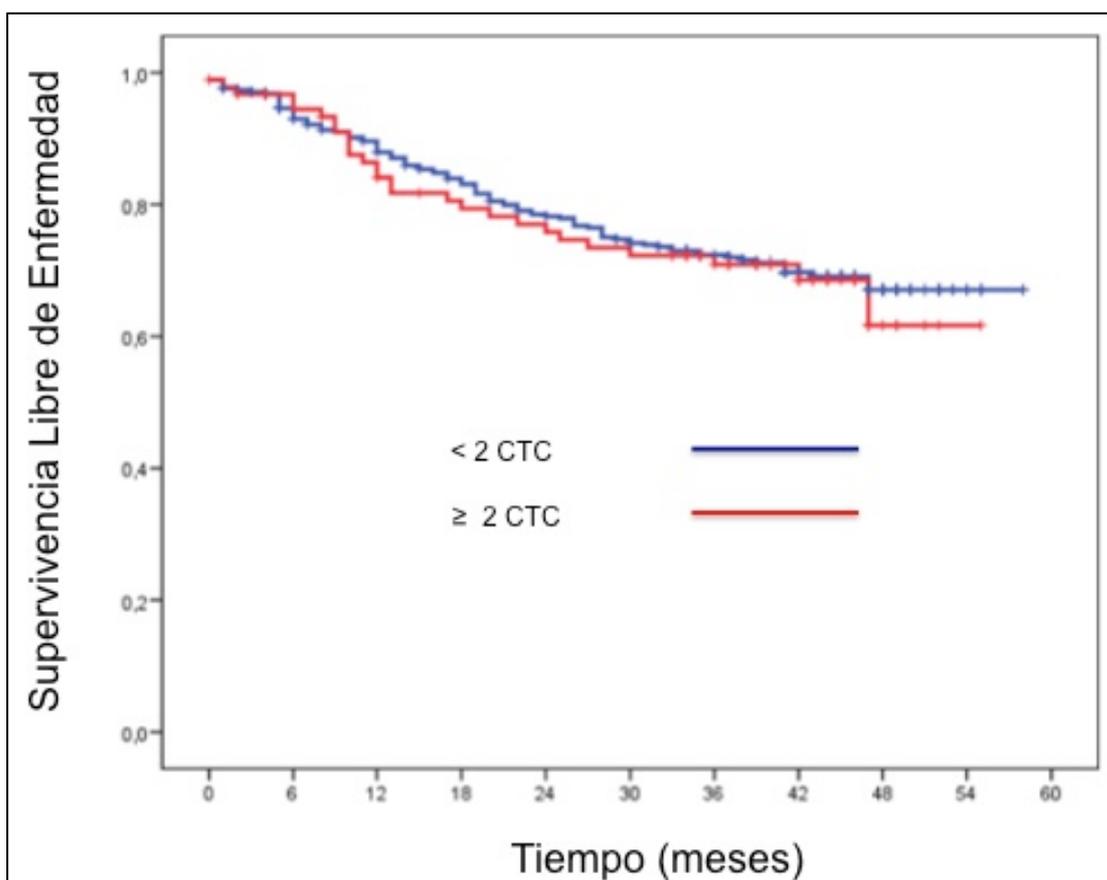


Figura 21: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs ≥ 2 CTC).

Entre los pacientes con < 2 CTC, 70 (18%) murieron, mientras que entre aquellos pacientes con ≥ 2 CTC, el número de fallecidos fue 17 (18%). Las medianas de SG no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. Mientras que la tasa de SG a 36 meses en el grupo con < 2 CTC fue 86,5% (EE 1,8%), en el grupo con ≥ 2 CTC fue 85,3% (EE 3,8%). No se observaron diferencias

significativas en términos de SG (HR 1,02; IC 95%: 0,59-1,73; $P = 0,95$) entre ambos grupos.

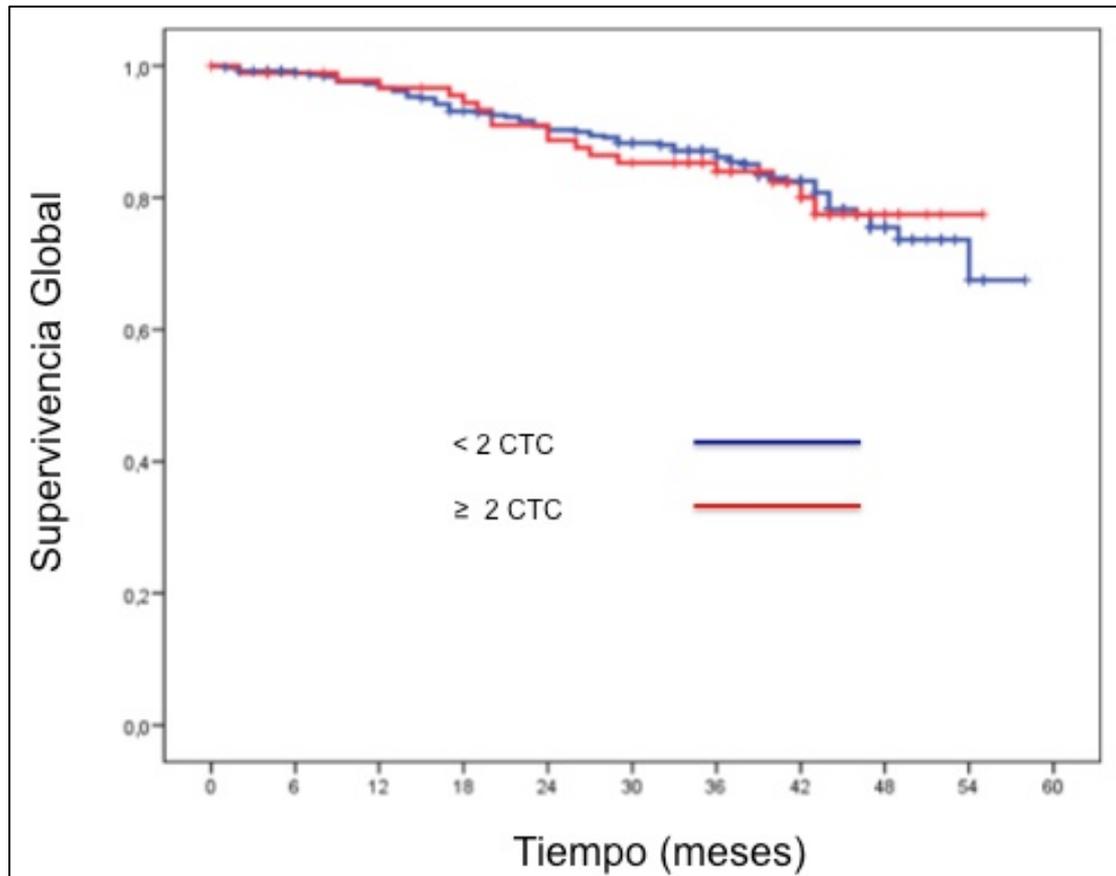


Figura 22: Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs ≥ 2 CTC).

5.3.3 Punto de corte 3 CTC

Del total de la población, en 415 pacientes se detectaron < 3 CTC, mientras que en sólo 57 pacientes se identificaron ≥ 3 CTC.

En el grupo con < 3 CTC, el número de pacientes con recaída de la enfermedad fue 119 (29%), mientras que en el grupo con ≥ 3 CTC fue 15 (27%). Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. La tasa de SLE a 36 meses en el grupo con < 3 CTC fue 72,2% (EE 2,3%), mientras que en el grupo con ≥ 3 CTC fue 73,3% (EE 6,1%). No se observaron diferencias significativas en términos de SLE (HR 0,96; IC 95%: 0,56-1,64; $P = 0,87$) entre ambos grupos de pacientes.

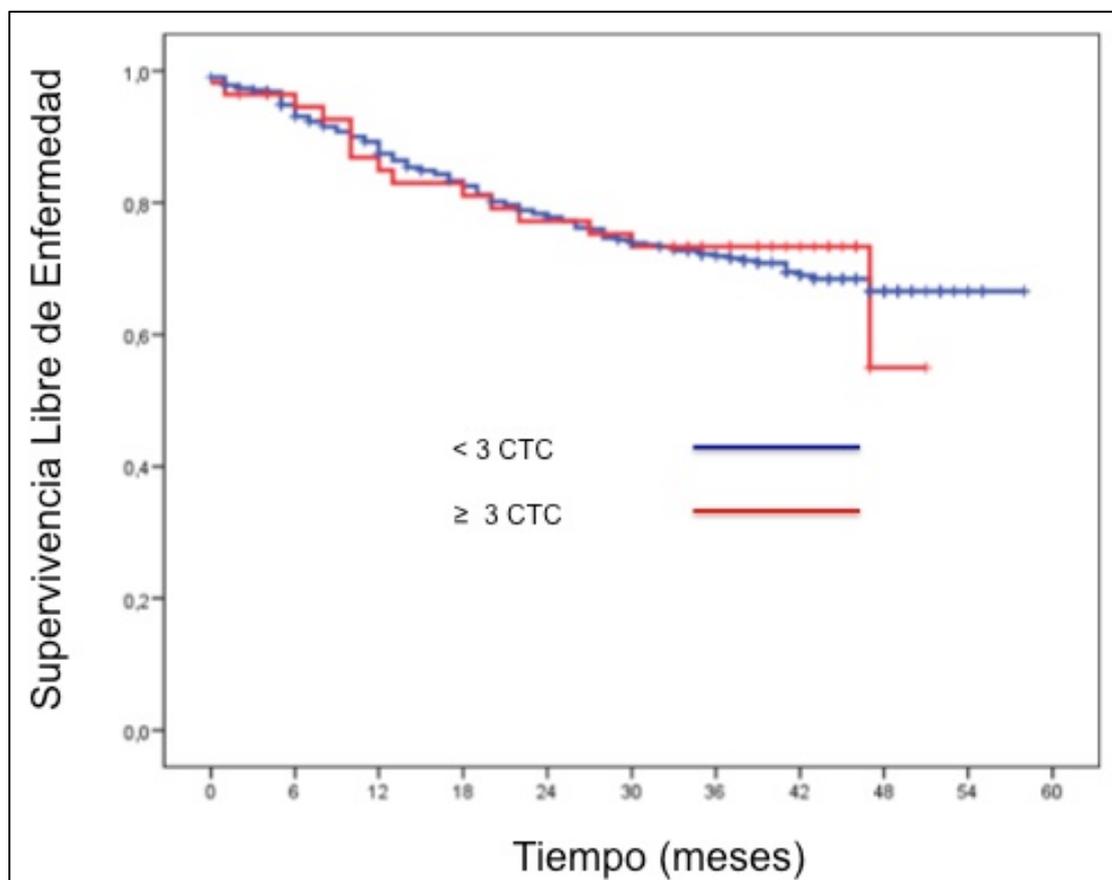


Figura 23: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC).

Entre los pacientes con < 3 CTC, el número de fallecidos fue 79 (19%), mientras que entre los pacientes con ≥ 3 CTC fue 8 (14%). Las medianas de SG

no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. Mientras que la tasa de SG a 36 meses en el grupo con < 3 CTC fue 85,9% (EE 1,8%), en el grupo con ≥ 3 CTC fue 89,0% (EE 4,2%). No se observaron diferencias significativas en SG entre ambos grupos de pacientes (HR 0,74; IC 95%: 0,36-1,53; $P = 0,41$).

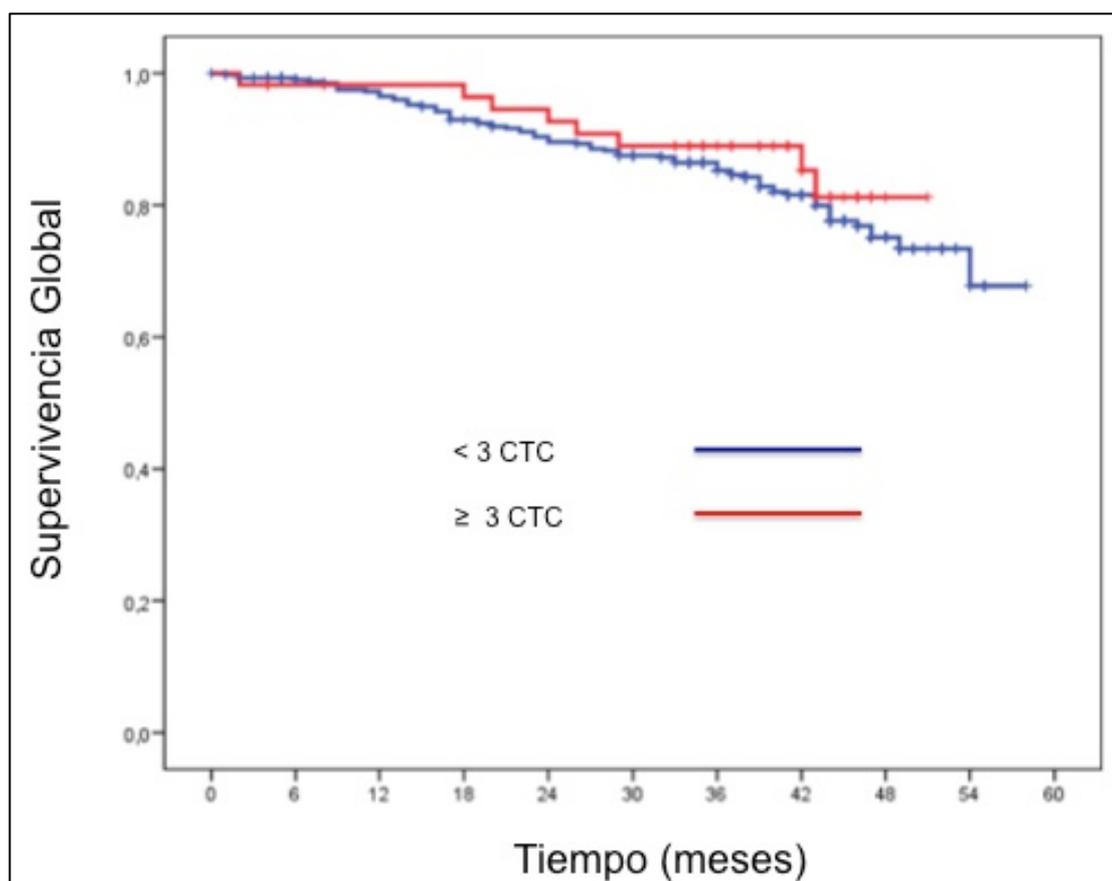


Figura 24: Supervivencia global en función del número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC).

5.3.4 Punto de corte 5 CTC

Del total de pacientes, en 438 se detectaron < 5 CTC, mientras que en sólo 34 pacientes se identificaron ≥ 5 CTC.

Entre los pacientes con < 5 CTC, 127 (29%) presentaron recaída de la enfermedad, mientras que entre aquellos pacientes con ≥ 5 CTC, sólo 7 (21%) presentaron una recaída confirmada. Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos de pacientes. Mientras que la tasa de SLE a 36 meses en el grupo con < 5 CTC fue 71,9% (EE 2,2%), en el grupo con ≥ 5 CTC fue 77,8% (EE 7,4%). No se observaron diferencias significativas en términos de SLE entre ambos grupos (HR 0,72; IC 95%: 0,33-1,53; $P = 0,39$).

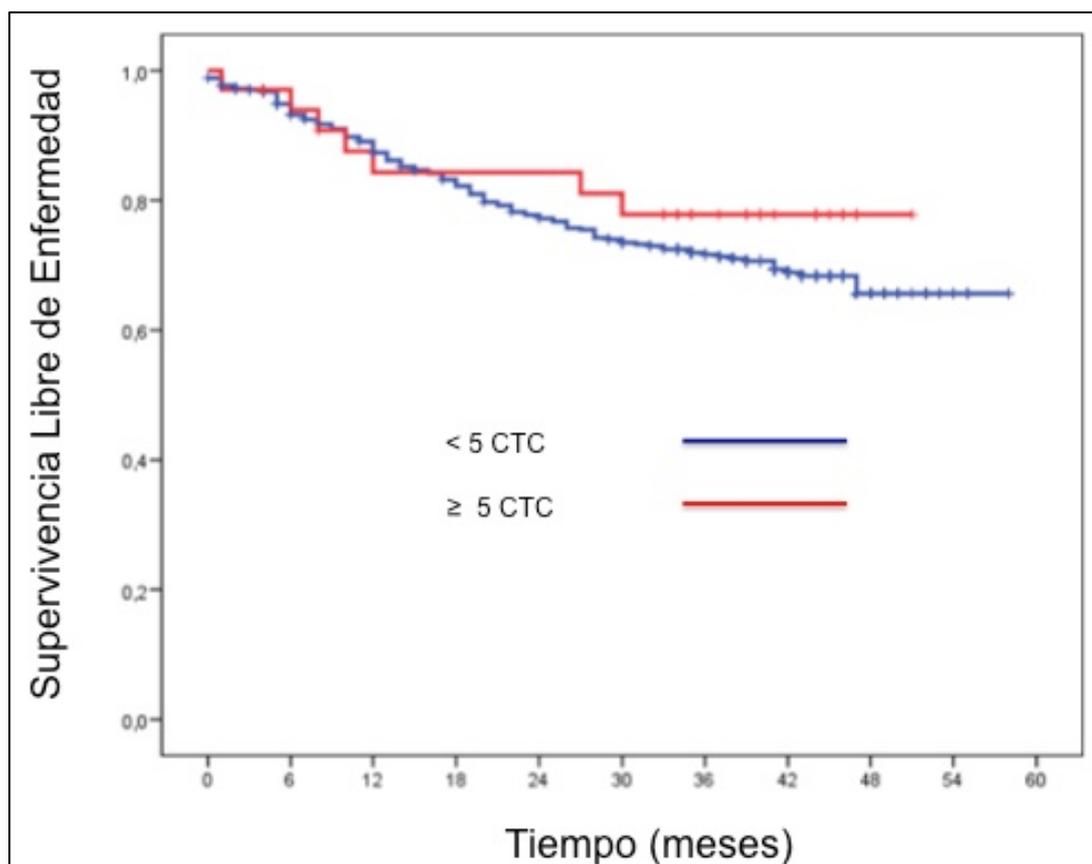


Figura 25: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC).

En el grupo con < 5 CTC, el número de pacientes fallecidos fue 84 (19%), mientras que en el grupo con ≥ 5 CTC fue sólo 3 (9%). Las medianas de SG no fueron alcanzadas en ninguno de los dos grupos. La tasa de SG a 36 meses en el grupo con < 5 CTC fue 86,5% (EE 1,7%), mientras que en el grupo con ≥ 5 CTC fue 90,3% (EE 5,3%). No se observaron diferencias significativas en SG entre ambos grupos de pacientes (HR 0,48; IC 95%: 0,15-1,51; $P = 0,21$).

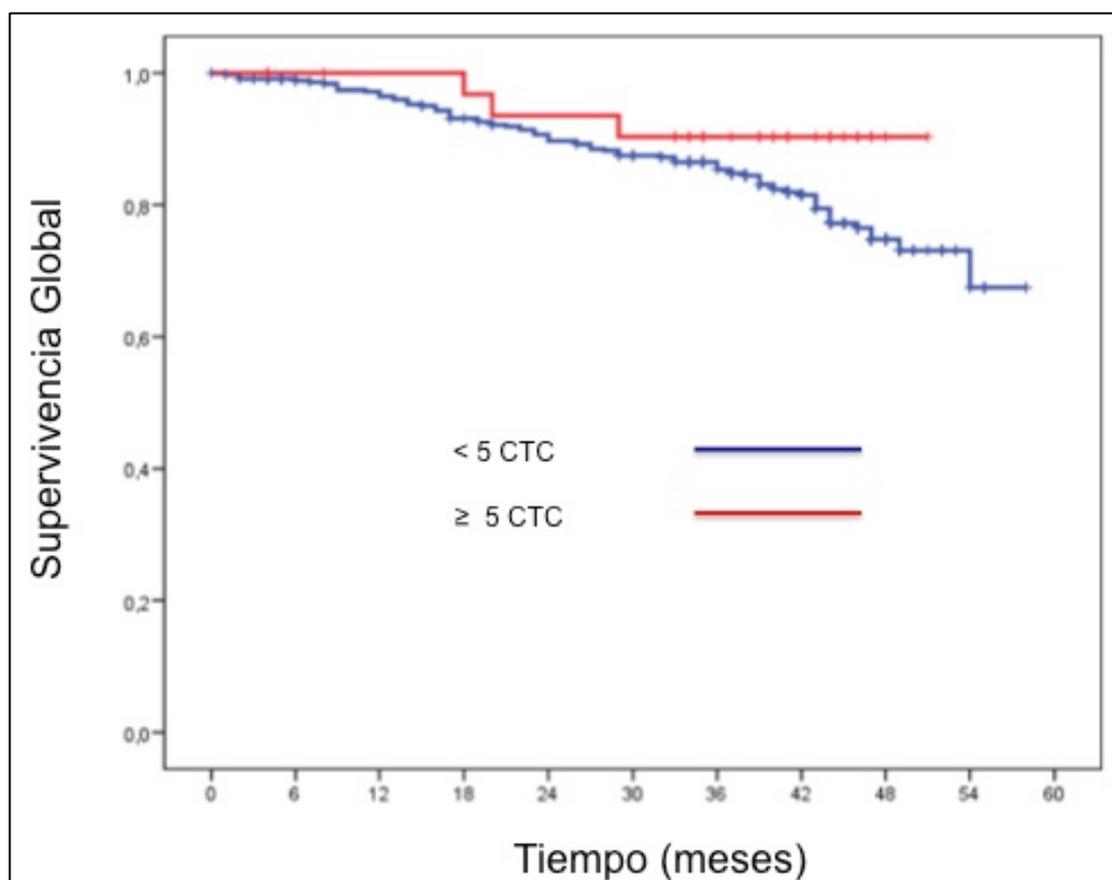


Figura 26: Supervivencia global en función del número de CTC (< 5 CTC vs ≥ 5 CTC).

5.4 Análisis estratificado por estadios

5.4.1 Punto de corte 1 CTC

Se detectó presencia de CTC en un mayor porcentaje de pacientes con estadio IIIC (47,3%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P = 0,016$) (Tabla 7).

Tabla 7. Pacientes con ≥ 1 CTC por estadios

Estadio	< 1 CTC n (%)	≥ 1 CTC n (%)
Estadio IIIA	21 (60)	14 (40)
Estadio IIIB	237 (68,5)	109 (31,5)
Estadio IIIC	48 (52,7)	43 (47,3)

Se observó que el porcentaje de recaídas en pacientes con ≥ 1 CTC fue 21,4% en pacientes con estadio IIIA, 17,4% en pacientes con estadio IIIB y 58,1% en pacientes con estadio IIIC (Tabla 8).

Tabla 8. Pacientes con recaída por número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) y estadio.

Estadio	Nº CTC	Sin recaída n (%)	Con recaída n (%)	<i>P</i>
IIIA	< 1 CTC	18 (85,7)	3 (14,3)	0,58
	≥ 1 CTC	11 (78,6)	3 (21,4)	
IIIB	< 1 CTC	178 (75,7)	57 (24,3)	0,16
	≥ 1 CTC	90 (82,6)	19 (17,4)	
IIIC	< 1 CTC	20 (41,7)	28 (58,3)	0,98
	≥ 1 CTC	18 (41,9)	25 (58,1)	

Con respecto a la SLE en pacientes con estadio IIIA, en el subgrupo con < 1 CTC, 14% de los pacientes presentaron recaída de la enfermedad, mientras que en el subgrupo con ≥ 1 CTC, 21% de los pacientes presentaron recaída de la enfermedad. Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos subgrupos. Se observó un incremento no significativo del riesgo de recaída entre los pacientes con ≥ 1 CTC (HR 1,62; IC 95%: 0,33-8,05; *P* = 0,55), comparado con los pacientes con < 1 CTC.

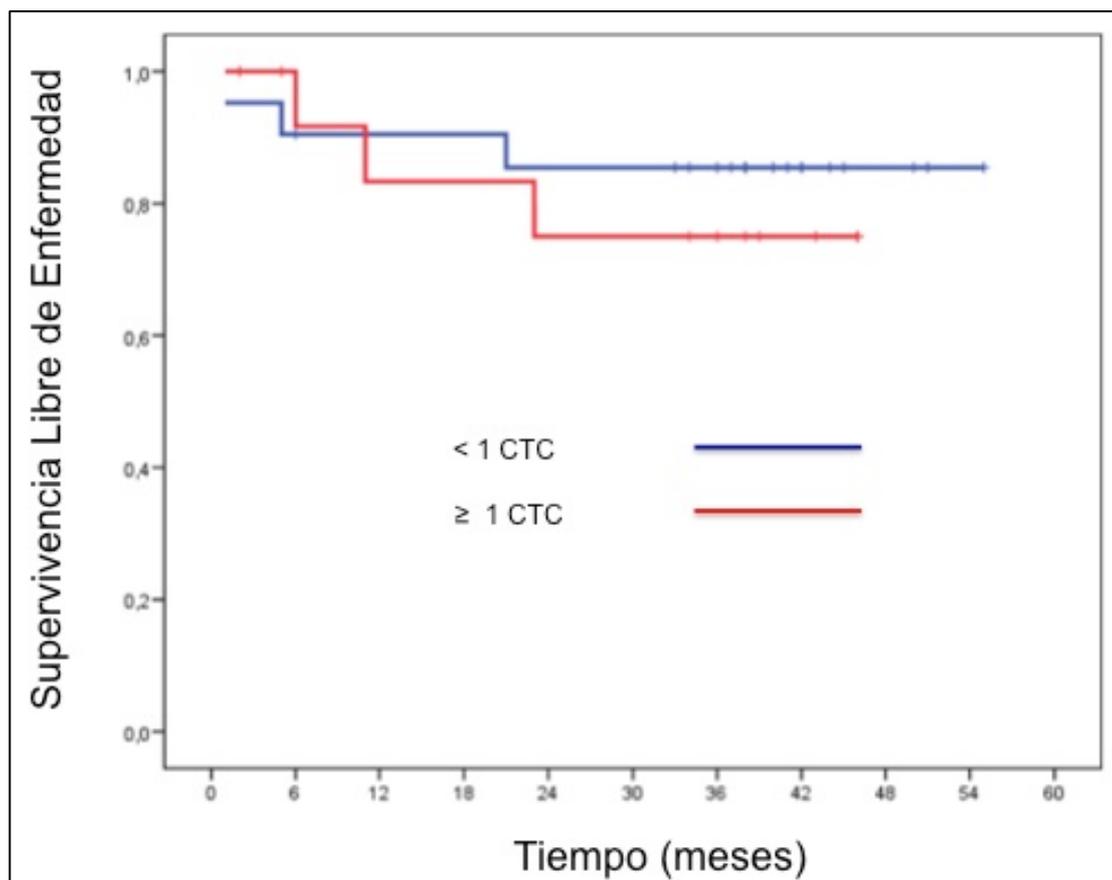


Figura 27: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.

Con respecto a la SG en pacientes con estadio IIIA, en el subgrupo con < 1 CTC, 14% de los pacientes fallecieron, mientras que en el subgrupo con ≥ 1 CTC, 29% de los pacientes murieron. Las medianas de SG no fueron alcanzadas en ninguno de los dos subgrupos. Se observó un incremento no significativo del riesgo de muerte entre los pacientes con ≥ 1 CTC, comparado con los pacientes con < 1 CTC (HR 2,04; IC 95%: 0,46-9,16; $P = 0,35$).

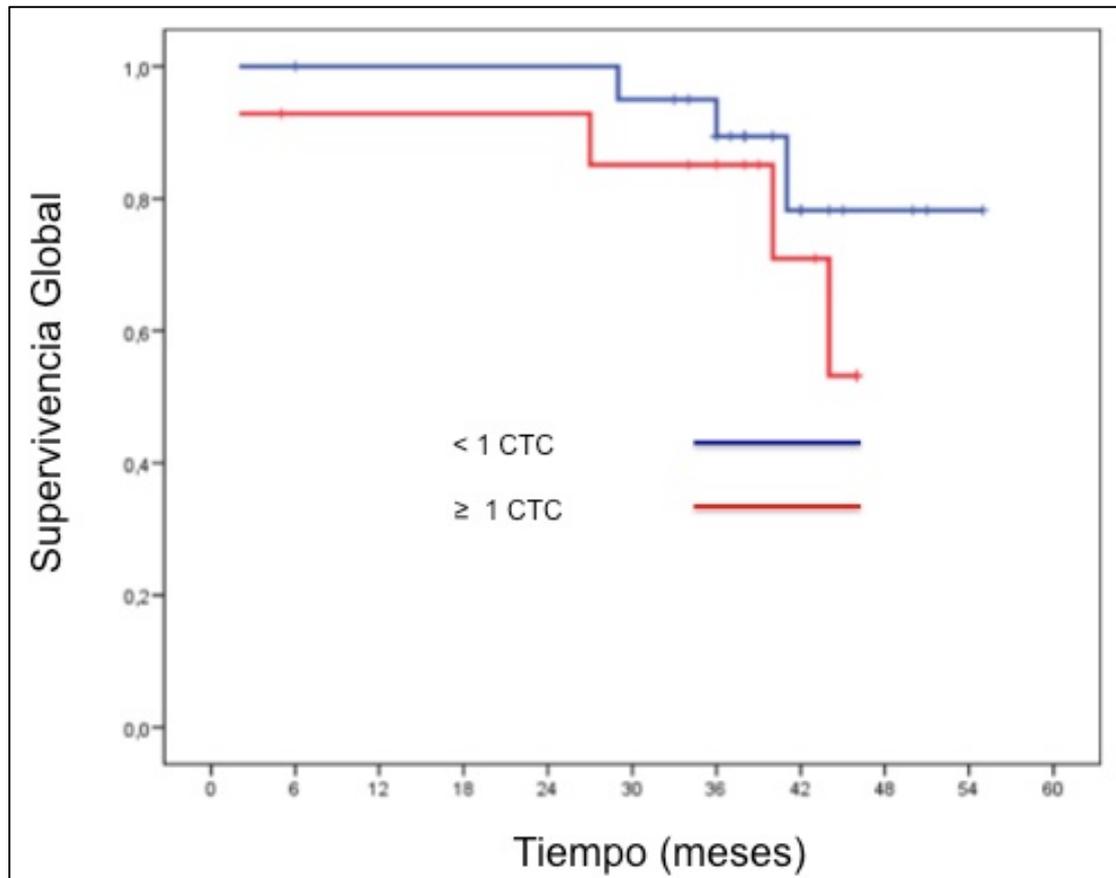


Figura 28: Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs \geq 1 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.

Con respecto a la SLE y la SG en pacientes con estadios IIIB y IIIC no se observaron diferencias significativas entre los subgrupos con < 1 CTC y \geq 1 CTC, aunque en pacientes con estadio IIIB parece haber un menor riesgo de recaída y muerte en el subgrupo con \geq 1 CTC (Tablas 9 y 10).

Tabla 9. Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 1 CTC	85,4 (7,8)	1,62	0,33-8,05	0,55
	≥1 CTC	75 (12,5)			
IIIB	< 1 CTC	76,5 (2,9)	0,68	0,41-1,15	0,15
	≥1 CTC	83,6 (3,7)			
IIIC	< 1 CTC	44,2 (7,3)	1,01	0,58-1,74	0,98
	≥1 CTC	46,5 (7,8)			

Tabla 10. Supervivencia global en función del número de CTC (< 1 CTC vs ≥ 1 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 1 CTC	89,7 (6,9)	2,04	0,46-9,16	0,35
	≥1 CTC	85,1 (9,7)			
IIIB	< 1 CTC	89,2 (2,1)	0,72	0,37-1,39	0,33
	≥1 CTC	92,2 (2,6)			
IIIC	< 1 CTC	73,8 (6,5)	0,99	0,49-1,96	0,97
	≥1 CTC	69 (7,1)			

5.4.2 Punto de corte 2 CTC

El porcentaje de pacientes con ≥ 2 CTC en cada estadio fue: 22,9% en los estadios IIIA, 17,9% en los estadios IIIB y 25,3% en los estadios IIIC, sin observarse diferencias significativas entre estadios ($P = 0,26$) (Tabla 11).

Tabla 11. Pacientes con ≥ 2 CTC por estadios.

Estadio	< 2 CTC n (%)	≥ 2 CTC n (%)
Estadio IIIA	27 (77,1)	8 (22,9)
Estadio IIIB	284 (82,1)	62 (17,9)
Estadio IIIC	68 (74,7)	23 (25,3)

Se observó que el porcentaje de recaídas en pacientes con ≥ 2 CTC fue 25% en pacientes con estadio IIIA, 17,7% en pacientes con estadio IIIB y 65,2% en pacientes con estadio IIIC (Tabla 12).

Tabla 12. Pacientes con recaída por número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) y estadio.

Estadio	Nº CTC	Sin recaída n (%)	Con recaída n (%)	<i>P</i>
IIIA	< 2 CTC	23 (85,2)	4 (14,8)	0,50
	\geq 2 CTC	6 (75)	2 (25)	
IIIB	< 2 CTC	217 (77)	65 (23)	0,36
	\geq 2 CTC	51 (82,3)	11 (17,7)	
IIIC	< 2 CTC	30 (44,1)	38 (55,9)	0,43
	\geq 2 CTC	8 (34,8)	15 (65,2)	

Con respecto a la SLE en pacientes con estadio IIIA, el porcentaje de pacientes con recaída de la enfermedad fue 15% y 25% en los subgrupos con < 2 CTC y \geq 2 CTC, respectivamente. Las medianas de SLE no fueron alcanzadas en ninguno de los dos subgrupos. Se observó un incremento no significativo del riesgo de recaída entre los pacientes con \geq 2 CTC, comparado con los pacientes con < 2 CTC (HR 1,93; IC 95%: 0,35-10,55; *P* = 0,45).

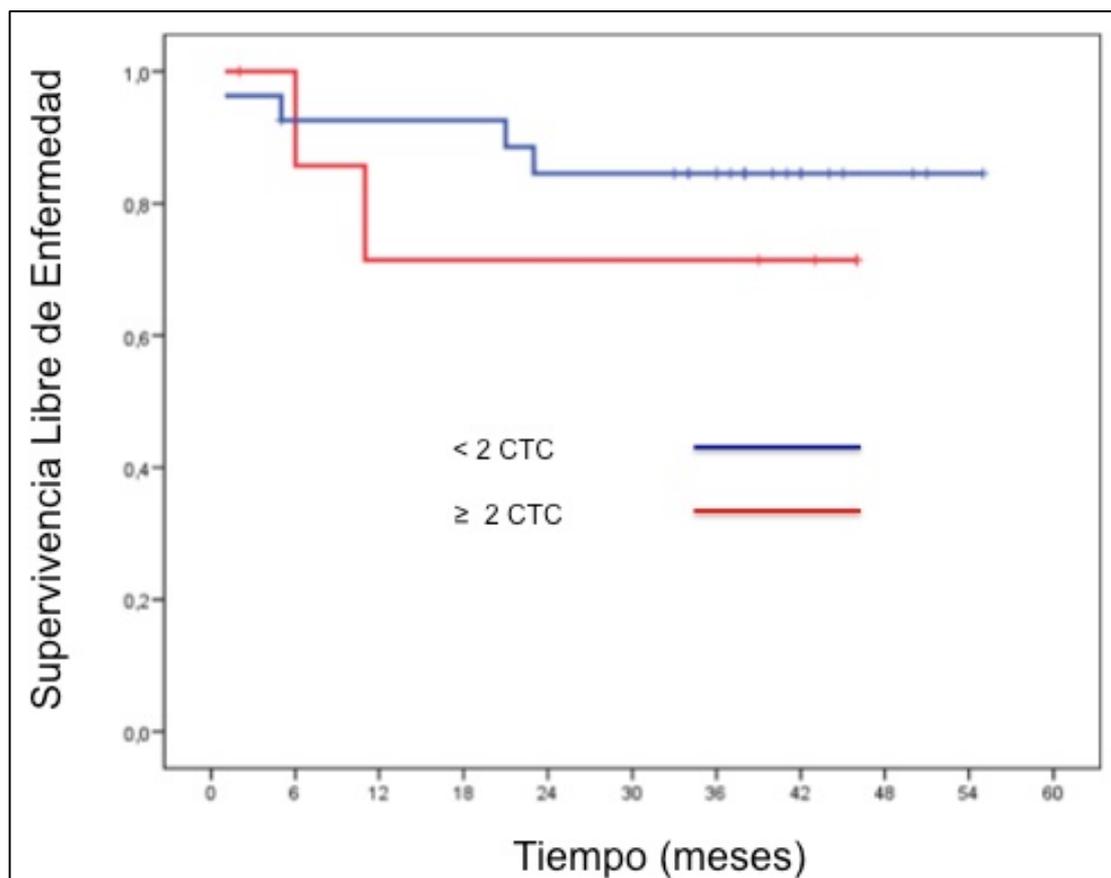


Figura 29: Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.

Con respecto a la SG en pacientes con estadio IIIA, el porcentaje de pacientes fallecidos fue 15% y 37% en los subgrupos con < 2 CTC y \geq 2 CTC, respectivamente. Las medianas de SG no fueron alcanzadas en ninguno de los dos subgrupos. Se observó un incremento no significativo del riesgo de muerte entre los pacientes con \geq 2 CTC (HR 2,14; IC 95%: 0,47-9,69; $P = 0,32$), comparado con los pacientes con < 2 CTC.

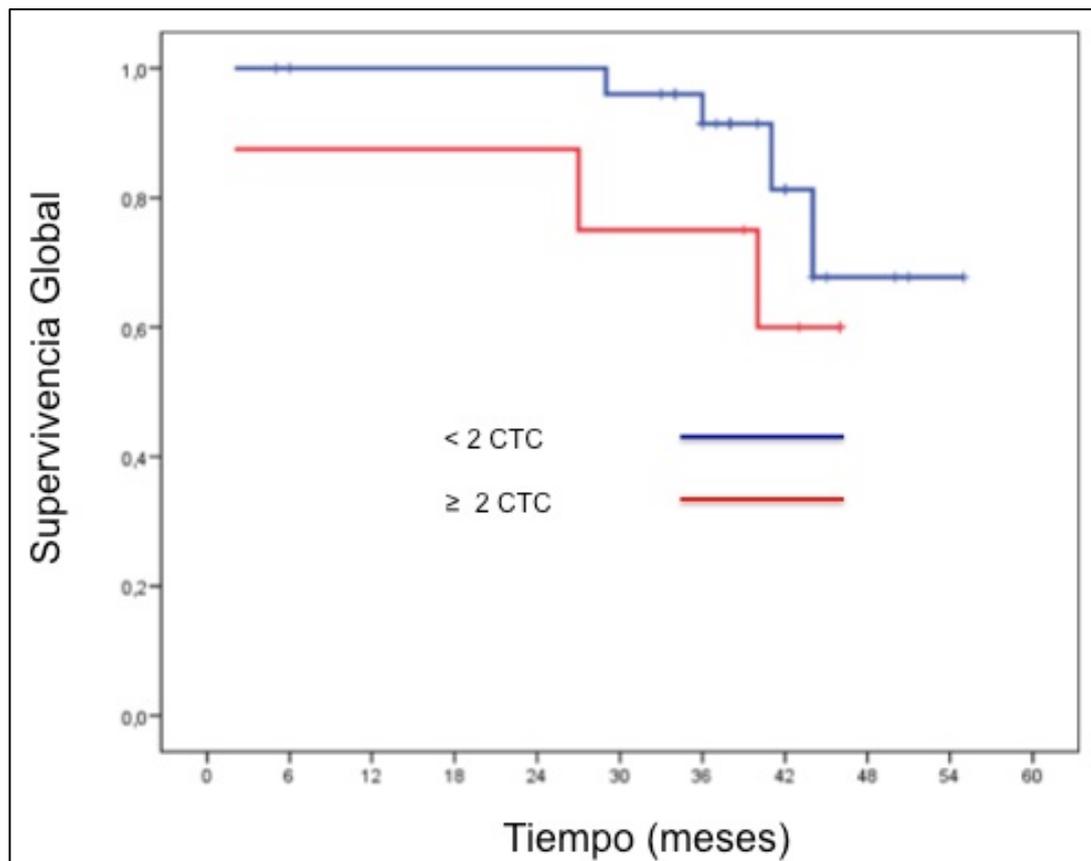


Figura 30: Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadio IIIA.

Con respecto a la SLE y la SG en pacientes con estadios IIIB y IIIC no se observaron diferencias significativas entre los subgrupos con < 2 CTC y \geq 2 CTC, aunque en pacientes con estadio IIIB parece haber un menor riesgo de recaída y muerte en el subgrupo con \geq 2 CTC (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 2 CTC	84,5 (7,1)	1,93	0,35-10,55	0,45
	\geq 2 CTC	71,4 (17,1)			
IIIB	< 2 CTC	77,9 (2,6)	0,76	0,40-1,43	0,39
	\geq 2 CTC	82,8 (5,0)			
IIIC	< 2 CTC	46,0 (6,1)	1,26	0,68-2,33	0,45
	\geq 2 CTC	43,1 (10,8)			

Tabla 14. Supervivencia global en función del número de CTC (< 2 CTC vs \geq 2 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 2 CTC	96,0 (3,9)	2,14	0,47-9,69	0,32
	\geq 2 CTC	75,0 (15,3)			
IIIB	< 2 CTC	90,2 (1,8)	0,68	0,29-1,61	0,38
	\geq 2 CTC	91,4 (3,7)			
IIIC	< 2 CTC	71,1 (5,6)	1,02	0,46-2,28	0,96
	\geq 2 CTC	72,7 (9,5)			

5.4.3 Punto de corte 3 CTC

El porcentaje de pacientes con ≥ 3 CTC en cada estadio fue: IIIA 14,3%, IIB 11% y IIC 15,4%. No se encontraron diferencias significativas entre estadios ($P = 0,47$) (Tabla 15).

Tabla 15. Pacientes con ≥ 3 CTC por estadios.

Estadio	< 3 CTC n (%)	≥ 3 CTC n (%)
Estadio IIIA	30 (85,7)	5 (14,3)
Estadio IIB	308 (89,0)	38 (11,0)
Estadio IIC	77 (84,6)	14 (15,4)

Se observó que el porcentaje de recaídas en pacientes con ≥ 3 CTC fue 0% en pacientes con estadio IIIA, 21,1% en pacientes con estadio IIB y 57,1% en pacientes con estadio IIC (Tabla 16).

Tabla 16. Pacientes con recaída por número de CTC (< 3 CTC vs ≥ 3 CTC) y estadio.

Estadio	Nº CTC	Sin recaída n (%)	Con recaída n (%)	<i>P</i>
IIIA	< 3 CTC	24 (80,0)	6 (20,0)	0,27
	≥ 3 CTC	5 (100)	0 (0)	
IIIB	< 3 CTC	238 (77,8)	68 (22,2)	0,87
	≥ 3 CTC	30 (78,9)	8 (21,1)	
IIIC	< 3 CTC	32 (41,6)	45 (58,4)	0,93
	≥ 3 CTC	6 (42,9)	8 (57,1)	

Con respecto a la SLE y la SG en pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC no se observaron diferencias significativas entre los subgrupos con < 3 CTC y ≥ 3 CTC (Tablas 17 y 18).

Tabla 17. Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 3 CTC vs \geq 3 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 3 CTC	79,1 (7,6)	-	-	-
	\geq 3 CTC	-			
IIIB	< 3 CTC	78,5 (2,4)	0,94	0,45-1,96	0,88
	\geq 3 CTC	80,7 (6,5)			
IIIC	< 3 CTC	45,8 (5,7)	1,05	0,47-2,34	0,89
	\geq 3 CTC	42,0 (14,3)			

* En el subgrupo de pacientes con estadio IIIA y \geq 3 CTC no se produjeron eventos de SLE, por lo que los cálculos no pudieron ser realizados.

Tabla 18. Supervivencia global en función del número de CTC (< 3 CTC vs \geq 3 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 3 CTC	92,9 (4,9)	0,62	0,07-5,38	0,67
	\geq 3 CTC	80,0 (17,9)			
IIIB	< 3 CTC	90,0 (1,8)	0,55	0,17-1,77	0,32
	\geq 3 CTC	94,4 (3,8)			
IIIC	< 3 CTC	70,6 (5,3)	0,80	0,28-2,29	0,68
	\geq 3 CTC	76,9 (11,7)			

5.4.4 Punto de corte 5 CTC

El porcentaje de pacientes con ≥ 5 CTC en cada estadio fue: 5,7% en el estadio IIIA, 6,9% en el estadio IIIB y 8,8% en el estadio IIIC. No se encontraron diferencias significativas entre estadios ($P = 0,78$) (Tabla 19).

Tabla 19. Pacientes con ≥ 5 CTC por estadios.

Estadio	< 5 CTC n (%)	≥ 5 CTC n (%)
Estadio IIIA	33 (94,3)	2 (5,7)
Estadio IIIB	322 (93,1)	24 (6,9)
Estadio IIIC	83 (91,2)	8 (8,8)

El porcentaje de recaídas en pacientes con ≥ 5 CTC fue 0% en pacientes con estadio IIIA, 12,5% en pacientes con estadio IIIB y 50% en pacientes con estadio IIIC (Tabla 20).

Tabla 20. Pacientes con recaída por número de CTC (< 5 CTC vs \geq 5 CTC) y estadio.

Estadio	Nº CTC	Sin recaída n (%)	Con recaída n (%)	<i>P</i>
IIIA	< 5 CTC	27 (81,8)	6 (18,2)	0,51
	\geq 5 CTC	2 (100)	0 (0)	
IIIB	< 5 CTC	247 (77,2)	73 (22,8)	0,24
	\geq 5 CTC	21 (87,5)	3 (12,5)	
IIIC	< 5 CTC	34 (41,0)	49 (59,0)	0,62
	\geq 5 CTC	4 (50,0)	4 (50,0)	

Con respecto a la SLE y la SG en pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC no se observaron diferencias significativas entre los subgrupos con < 5 CTC y \geq 5 CTC (Tablas 21 y 22).

Tabla 21. Supervivencia libre de enfermedad en función del número de CTC (< 5 CTC vs \geq 5 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 5 CTC	80,5 (7,2)	-	-	-
	\geq 5 CTC	-			
IIIB	< 5 CTC	78,2 (2,4)	0,54	0,17-1,72	0,29
	\geq 5 CTC	86,9 (7,1)			
IIIC	< 5 CTC	45,5 (5,6)	1,03	0,37-2,86	0,95
	\geq 5 CTC	42,9 (18,7)			

* En el subgrupo de pacientes con estadio IIIA y \geq 5 CTC no se produjeron eventos de SLE, por lo que los cálculos no pudieron ser realizados.

Tabla 22. Supervivencia global en función del número de CTC (< 5 CTC vs \geq 5 CTC) entre los pacientes con estadios IIIA, IIIB y IIIC.

Estadio	Nº CTC	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
IIIA	< 5 CTC	90,5 (5,2)	-	-	-
	\geq 5 CTC	-			
IIIB	< 5 CTC	90,1 (1,7)	0,55	0,17-1,77	0,32
	\geq 5 CTC	95,5 (4,4)			
IIIC	< 5 CTC	71,5 (5,0)	0,80	0,28-2,29	0,68
	\geq 5 CTC	71,4 (17,1)			

* En el subgrupo de pacientes con estadio IIIA y \geq 5 CTC no se produjeron eventos de SG, por lo que los cálculos no pudieron ser realizados.

5.5 Análisis univariable de factores de riesgo y otras variables clínicas

En el análisis univariable se observó que los pacientes con estadios IIIC (HR 4,07; IC 95%: 1,75-9,47; $P < 0,001$), los que no recibieron quimioterapia adyuvante (HR 0,41; IC 95%: 0,22-0,77; $P = 0,005$), los que presentaron obstrucción o perforación intestinal (HR 1,78; IC 95%: 1,21-2,60; $P = 0,003$), los que presentaron un tumor T4 (HR 2,04; IC 95%: 1,44-2,89; $P < 0,001$), los que presentaron un estadio ganglionar N2 (HR 3,07; IC 95%: 2,18-4,31; $P < 0,001$) y los que presentaron invasión vascular (HR 1,66; IC 95%: 1,12-2,45; $P = 0,01$), tuvieron una significativamente peor SLE (Tabla 23 y 24).

Tabla 23. Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad (variables clínicas).

Variables	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
Estadios				
Estadio IIIA	81,7 (6,8)			<0,001
Estadio IIIB	78,8 (2,3)	1,23	0,54-2,83	
Estadio IIIC	45,3 (5,3)	4,07	1,75-9,47	
Quimioterapia				
Si	73,8 (2,2)	0,41	0,22-0,77	0,005
No	51,0 (10,8)			
Doblete vs monoterapia				
5FU/capecita bina	72,0 (5,1)	1,03	0,66-1,62	0,88
FOLFOX/XEL OX	73,7 (2,5)			
FOLFOX vs XELOX				
FOLFOX	77,3 (3,1)	0,67	0,45-1,01	0,056
XELOX	69,1 (3,9)			

Tabla 24. Análisis univariable de la supervivencia libre de enfermedad (factores de riesgo).

Variables	SLE a 36m % (EE)	HR	IC 95%	P
Grado de diferenciación				
Bien	75,9 (3,6)			0,26
Moderado	72,5 (3,3)	1,21	0,79-1,83	
Mal	65,7 (5,7)	1,53	0,92-2,54	
Obstrucción / perforación				
Si	59,5 (5,5)	1,78	1,21-2,60	0,003
No	75,2 (2,3)			
Nº ganglios aislados				
<13	75,4 (4,1)	0,83	0,55-1,24	0,36
≥13	71,0 (2,6)			
Estadio N				
N2	52,2 (4,1)	3,07	2,18-4,31	<0,001
N1	82,4 (2,2)			
Estadio T				
T4	58,2 (4,6)	2,04	1,44-2,89	<0,001
T1-3	77,3 (2,3)			
Invasión de vasos linfáticos				
Si	71,0 (4,0)	1,30	0,85-1,98	0,22
No	76,4 (3,1)			
Invasión vascular				
Si	64,1 (4,7)	1,66	1,12-2,45	0,01
No	75,3 (2,8)			

Con respecto a la SG, el estadio IIIC (HR 1,95; IC 95%: 0,86-4,41; $P < 0,001$), la no administración de quimioterapia adyuvante (HR 0,31; IC 95%: 0,16-0,61; $P = 0,001$), el estadio tumoral T4 (HR 2,08; IC 95%: 1,35-3,19; $P = 0,001$), el estadio ganglionar N2 (HR 2,34; IC 95%: 1,54-3,57; $P < 0,001$), la presencia de invasión linfática (HR 1,68; IC 95%: 1,01-2,79; $P = 0,045$) y la presencia de invasión vascular (HR 2,04; IC 95%: 1,28-3,25; $P = 0,003$), se asociaron significativamente con peores resultados (Tabla 25 y 26).

Tabla 25. Análisis univariable de la supervivencia global (variables clínicas).

Variables	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	<i>P</i>
Estadios				
Estadio IIIA	84,5 (6,4)			<0,001
Estadio IIIB	90,1 (1,7)	0,64	0,29-1,42	
Estadio IIIC	71,5 (4,8)	1,95	0,86-4,41	
Quimioterapia				
Si	87,4 (1,6)	0,31	0,16-0,61	0,001
No	69,1 (9,7)			
Doblete vs monoterapia				
5FU / capecitabina	83,9 (4,1)	1,49	0,89-2,49	0,13
FOLFOX / XELOX	88,0 (1,8)			
FOLFOX vs XELOX				
FOLFOX	90,2 (2,2)	0,78	0,46-1,33	0,37
XELOX	85,3 (3,0)			

Tabla 26. Análisis univariable de la supervivencia global (factores de riesgo).

Variables	SG a 36m % (EE)	HR	IC 95%	<i>P</i>
Grado de diferenciación				
Bien	87,4 (2,8)			0,32
Moderado	88,0 (2,4)	1,01	0,60-1,69	
Mal	78,5 (4,9)	1,52	0,82-2,80	
Obstrucción / perforación				
Si	78,0 (4,6)	1,46	0,89-2,39	0,14
No	88,1 (1,7)			
Nº ganglios aislados				
<13	89,6 (2,8)	0,93	0,57-1,50	0,76
≥13	84,6 (2,0)			
Estadio N				
N2	76,9 (3,5)	2,34	1,54-3,57	<0,001
N1	90,9 (1,7)			
Estadio T				
T4	78,5 (3,8)	2,08	1,35-3,19	0,001
T1-3	89,0 (1,7)			
Invasión de vasos linfáticos				
Si	83,5 (3,3)	1,68	1,01-2,79	0,045
No	89,1 (2,2)			
Invasión vascular				
Si	76,9 (4,1)	2,04	1,28-3,25	0,003
No	89,5 (1,9)			

En un análisis exploratorio se observó que no hubo diferencias estadísticamente ni en términos de SLE (HR 1,03; IC 95%: 0,66-1,62; $P = 0,88$) ni SG (HR 1,49; IC 95%: 0,89-2,49; $P = 0,13$), entre el tratamiento en monoterapia basado en fluoropirimidinas y la quimioterapia basada en oxaliplatino (Tablas 23 y 25). Además, entre los pacientes que recibieron quimioterapia basada en oxaliplatino, hubo una mejor SLE marginalmente significativa (HR 0,67; IC 95%: 0,45-1,01; $P = 0,056$) y una tendencia a una mejor SG (HR 0,78; IC 95%: 0,46-1,33; $P = 0,37$) a favor del esquema FOLFOX, en comparación con el esquema XELOX (Tablas 23 y 25).

5.6 Análisis multivariable

En el análisis multivariable de la SLE se incluyeron las variables que mostraron una asociación significativa con la SLE en el análisis univariable (estadio tumoral T, estadio ganglionar N, presencia de obstrucción o perforación intestinal, invasión vascular y administración de quimioterapia adyuvante). Tras ajustar el modelo por estas características clínicopatológicas se observó que la presencia de CTC (≥ 1 CTC) no se asoció significativamente con un incremento del riesgo de recaída en la población global (HR 0,97; IC 95%: 0,65-1,45; $P = 0,87$). El estadio tumoral T4 (HR 1,71; IC 95%: 1,14-2,56; $P = 0,009$) y el estadio ganglionar N2 (HR 2,76; IC 95%: 1,86-4,09; $P < 0,001$) se asociaron significativamente a una peor SLE, mientras que la administración de

quimioterapia adyuvante redujo significativamente el riesgo de recaída (HR 0,39; IC 95%: 0,19-0,77; $P = 0,007$).

Tabla 27. Análisis multivariable de la supervivencia libre de enfermedad.

Variables	HR	IC 95%	<i>P</i>
Estadio T			
T4	1,71	1,14-2,56	0,009
T1-T3			
Estadio N			
N2	2,76	1,86-4,09	<0,001
N1			
Obstrucción / perforación			
Si	1,54	0,99-2,42	0,058
No			
Invasión vascular			
Si	1,39	0,94-2,08	0,09
No			
Quimioterapia			
Si	0,39	0,19-0,77	0,007
No			
Nº CTC			
≥ 1 CTC	0,97	0,65-1,45	0,87
< 1 CTC			

Para el análisis multivariable de la SG se incluyeron las variables que mostraron una asociación significativa con la SG en el análisis univariable (estadio tumoral T, estadio ganglionar N, invasión de vasos linfáticos, invasión vascular y administración de quimioterapia adyuvante). Tras ajustar el modelo por estas características clínicopatológicas se observó que la presencia de CTC (≥ 1 CTC) no se asoció significativamente con un incremento del riesgo de muerte en la población global (HR 0,96; IC 95%: 0,56-1,65; $P = 0,89$). El estadio ganglionar N2 (HR 2,00; IC 95%: 1,19-3,35; $P = 0,008$) y la invasión vascular (HR 2,14; IC 95%: 1,21-3,80; $P = 0,009$) se asociaron significativamente a una pobre SG. En el análisis multivariable sólo se observó una tendencia a una mejor SG a favor de la quimioterapia adyuvante (HR 0,45; IC 95%: 0,19-1,05; $P = 0,06$).

Tabla 28. Análisis multivariable de la supervivencia global.

Variables	HR	IC 95%	P
Estadio T			
T4	1,67	0,99-2,81	0,06
T1-T3			
Estadio N			
N2	2,00	1,19-3,35	0,008
N1			
Invasión de vasos linfáticos			
Si	1,27	0,72-2,27	0,41
No			
Invasión vascular			
Si	2,14	1,21-3,80	0,009
No			
Quimioterapia			
Si	0,45	0,19-1,05	0,06
No			
Nº CTC			
≥ 1 CTC	0,96	0,56-1,65	0,89
< 1 CTC			

6. DISCUSIÓN

Los pacientes con CCR estadio III, tras ser sometidos a una cirugía con intención curativa, reciben tratamiento quimioterápico adyuvante con intención de disminuir el riesgo de recaída. Sin embargo, sólo un subgrupo de pacientes alcanza un beneficio de dicho tratamiento. Además, la quimioterapia adyuvante se asocia a importantes toxicidades, principalmente gastrointestinales y hematológicas.²⁷⁶ Por tal motivo, son necesarios nuevos marcadores pronósticos que nos permitan identificar aquel subgrupo de pacientes con menor riesgo de recaída en el que podríamos obviar la quimioterapia adyuvante y continuar exclusivamente vigilancia.

Se ha evaluado el papel de las CTC en cáncer de colon metastásico, demostrando ser un factor pronóstico y predictor independiente de la SLP y la SG.^{230,232,234-236,266-268}

Existen datos que sugieren que la presencia de CTC en pacientes con cáncer de mama en estadios precoces es un fuerte factor pronóstico.^{246,251,253,254,256-261} Sin embargo, aunque se ha visto que los niveles de CTC se correlacionan con el estadio en el CCR,²³¹ aun está por determinarse su papel en el escenario adyuvante.

En nuestra población estudiada, la mediana de edad de los pacientes fue 66 años, que es ligeramente mayor a lo observado en los estudios en los que se evalúa la eficacia de la quimioterapia adyuvante,^{172,201-203} aunque hay que tener

en cuenta que en nuestro estudio no hubo un límite de edad para la inclusión de pacientes.

En la población global, las tasas de SLE y SG a 36 meses fueron 72,3% y 86,3%, respectivamente, lo cual es concordante con los resultados de los estudios previamente mencionados,^{172,201-203} a pesar que un 5% de nuestros pacientes no recibieron tratamiento adyuvante y 21% recibieron tratamiento en monoterapia.

En nuestro estudio, ni el recuento ≥ 1 CTC, ni ≥ 2 CTC, ni ≥ 3 CTC, ni ≥ 5 CTC se asociaron con peores resultados en términos de SLE y SG, aunque hay que tener en cuenta que el número de eventos producidos hasta el momento de este análisis de datos es bajo y es necesario un mayor seguimiento de estos pacientes para sacar conclusiones definitivas.

Sastre y cols. encontraron que la detección de CTC se correlacionaba con el estadio en pacientes con CCR.²³¹ En nuestro análisis por subgrupos se observó que la detección de ≥ 1 CTC y ≥ 2 CTC fue significativamente más frecuente en pacientes con estadio IIC, que son el subgrupo con mayor riesgo de recaída. Nuestros hallazgos y los del estudio previamente mencionado nos sugieren que la presencia de CTC podría ser un marcador indirecto de la carga tumoral en pacientes con CCR y por lo tanto, aquellos pacientes con CCR precoz con

presencia de CTC tras la cirugía podrían considerarse con mayor riesgo de recaída y beneficiarse de un seguimiento más estrecho.

Varios estudios llevados a cabo en poblaciones de pacientes con CCR estadios I-III han demostrado que la presencia de CTC detectadas mediante RT-PCR, se asocia con un incremento del riesgo de recaída y una pobre SG.^{229,270,277-279} Uen y cols., llevaron a cabo un estudio en el que se incluyeron 438 pacientes con cáncer de colon estadios I-III, a quienes se les realizó 2 determinaciones de CTC, antes y después de la cirugía, encontrando que la presencia persistente de CTC tras la cirugía se asoció a una pobre supervivencia libre de recaída.²⁷⁰ De la misma forma, Linuma y cols., llevaron a cabo un estudio multicéntrico en el que se incluyeron 735 pacientes con cáncer de colon estadios B y C de Dukes, en el que se encontró que la presencia de CTC detectada por RT-PCR se asoció a una peor SLE y SG y que por lo tanto, la determinación de CTC por esta técnica podría ser una herramienta útil para identificar a aquellos pacientes con alto riesgo de recaída y pobre pronóstico.²⁷⁹ Aunque nuestro estudio fue realizado con una técnica de detección de CTC diferente, nosotros encontramos que entre los pacientes con estadio IIIA, la detección de ≥ 1 CTC y ≥ 2 CTC se asoció a una peor SLE y SG, lo cual es concordante con los hallazgos de los estudios previamente mencionados.^{229,270,277-279} Sin embargo estos resultados no fueron estadísticamente significativos probablemente por el pequeño tamaño muestral de este subgrupo de pacientes.

Entre los pacientes con CCR estadio III, aquellos con estadio IIIA son el subgrupo de mejor pronóstico, teniendo incluso mejor pronóstico que aquel subgrupo de pacientes con CCR estadio II de alto riesgo, por lo que es esperable que estos pacientes obtengan un menor beneficio de la quimioterapia adyuvante. De confirmarse nuestros hallazgos, la detección de CTC mediante la técnica CellSearch podría ayudarnos a identificar aquel subgrupo de muy buen pronóstico en el que podríamos obviar la quimioterapia adyuvante y evitar las toxicidades que ella conlleva.

Estos peores resultados en pacientes con ≥ 1 CTC y ≥ 2 CTC no fueron observados en los subgrupos de pacientes con estadios IIIB y IIIC. Llama la atención que entre los pacientes con estadio IIIB, aquellos con ≥ 1 CTC y ≥ 2 CTC parecen tener una mejor SLE y SG, aunque hay que tener en cuenta que un desbalance de factores de riesgo y el escaso número de eventos pueden estar influyendo en estos resultados.

En el análisis por subgrupos no se observaron diferencias significativas en términos de SLE y SG entre aquellos pacientes con < 3 CTC y ≥ 3 CTC, ni entre aquellos con < 5 CTC y ≥ 5 CTC, en ninguno de los estadios (IIIA, IIIB y IIIC). Aunque según la bibliografía disponible los puntos de corte de 3 CTC y 5 CTC podrían ser poco útiles en el escenario adyuvante del CCR, ya que la presencia de CTC en estos pacientes suele ser escasa a diferencia de los pacientes con CCR metastásico.^{273,275}

Aunque aún no ha sido validado, el punto de corte de ≥ 1 CTC parece ser el más adecuado en el escenario adyuvante. Incluso, existe evidencia que este punto de corte también podría ser útil en el escenario metastásico. Así, Gazzaniga y cols., compararon los puntos de corte de 1 CTC y 3 CTC en 119 pacientes con CCR metastásico, encontrando que la presencia de ≥ 1 CTC fue un predictor de pobre pronóstico en este escenario y sugieren que aquellos pacientes con 1-2 CTC deberían ser cambiados del grupo de pronóstico favorable, definido convencionalmente por la presencia de < 3 CTC, al grupo de pronóstico desfavorable, de tal manera que puedan ser monitorizados más estrechamente.²⁸⁰ En efecto, los pocos estudios que han evaluado el papel de las CTC detectadas mediante la técnica CellSearch en pacientes con CCR precoz han utilizado ≥ 1 CTC como punto de corte para determinar su valor pronóstico en este escenario.^{274,281} Scholten y cols., llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que se incluyeron 180 pacientes con CCR estadios I-III a quienes se les realizó una determinación de CTC antes de la cirugía, encontrándose que la presencia de CTC se asoció significativamente a una peor SLE (57% vs 78%; $P = 0,018$) y SG (70% vs 80%; $P = 0,003$) a 3 años, comparado con aquellos pacientes sin CTC.²⁸¹

En el estudio arriba mencionado,²⁸¹ el 23% de los pacientes con CCR presentaron ≥ 1 CTC, mientras que en nuestro estudio se detectó ≥ 1 CTC en 35% de los pacientes. Esta mayor presencia de CTC en nuestra población puede deberse a que en el estudio llevado a cabo por Scholten y cols. se incluyeron pacientes con CCR estadios I-III, mientras que en nuestro estudio todos los

pacientes fueron estadio III, y como lo mencionamos previamente la presencia de CTC parece correlacionarse con el estadio en pacientes con CCR y parece ser un marcador indirecto de la carga tumoral.²³¹ Otra explicación para esta mayor presencia de CTC en nuestra población puede ser que los pacientes incluidos en nuestro estudio habían sido sometidos a cirugía con intención curativa y esta podría haber favorecido la diseminación de CTC. Esta hipótesis es apoyada por los hallazgos de Park y cols.,²⁸² quienes llevaron a cabo un pequeño estudio en el que se puso de manifiesto el impacto desfavorable de la manipulación quirúrgica en la diseminación de CTC.

En el análisis por subgrupos, como era esperable, se observó que aquellos pacientes con estadios IIC presentaron una SLE y SG significativamente más bajas, alcanzando tasas de SLE y SG a 36 meses de 45,3% y 71,5%, respectivamente. Además se observó que la administración de quimioterapia redujo de forma significativa el riesgo de recaída y muerte, independientemente del esquema usado, alcanzando tasas de SLE y SG a 36 meses de 73,8% y 87,4%, respectivamente, siendo estos resultados concordantes con la literatura disponible.^{172,201-203}

A diferencia de lo observado en los estudios MOSAIC, NSABP-C07 y NO16968,^{171-173,202-204} en los que la quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino demostró prolongar la SLE y la SG, en nuestro estudio, el añadir oxaliplatino a la quimioterapia adyuvante basada en fluoropirimidinas no

impactó en la SLE, aunque si parece haber un incremento no significativo de la SG a favor del grupo de pacientes que recibió quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino. Estos resultados pueden haberse visto influenciados por el menor tamaño muestral de nuestro estudio y un seguimiento más corto de nuestros pacientes hasta el momento del análisis. Además, hay que tener en cuenta que en nuestro estudio, un importante porcentaje de los pacientes incluidos fueron ancianos (50% de los pacientes eran mayores de 66 años y 25% de los pacientes eran mayores de 73 años) y hay evidencia disponible de que el añadir oxaliplatino a los esquemas basados en fluoropirimidinas no aporta beneficio en estos pacientes.²⁸³

Los esquemas FOLFOX y XELOX han demostrado beneficio en supervivencia al ser comparados con quimioterapia basada en fluoropirimidinas en el tratamiento adyuvante del CCR,^{171,202-204} sin embargo no se han llevado a cabo estudios que comparen la eficacia de ambos esquemas en este escenario. En un análisis exploratorio de nuestro estudio, se observó que la SLE fue marginalmente superior en el grupo de pacientes que recibieron FOLFOX, en comparación con el grupo de pacientes que recibieron XELOX, evidenciándose además una tendencia a una mejor SG a favor del esquema FOLFOX. Si bien nuestros resultados sugieren una ligera superioridad del esquema FOLFOX sobre XELOX, estos deben valorarse con cuidado, ya que ambos esquemas han sido enfrentados en el escenario metastásico, demostrando tener eficacia equivalente,

^{284,285} además los resultados observados con estos esquemas en los estudios de adyuvancia MOSAIC y NO16968, son comparables. ^{171,202-204}

En el análisis univariable, las características clínicopatológicas que se asociaron significativamente con una peor SLE fueron: el estadio tumoral T4, el estadio ganglionar N2, la presencia de obstrucción o perforación intestinal y la presencia de invasión vascular. Asimismo, las características clínicopatológicas que se asociaron significativamente con una SG mas corta fueron: el estadio tumoral T4, el estadio ganglionar N2, la presencia de invasión linfática y la presencia de invasión vascular. Estos resultados confirman lo descrito en la literatura, ^{175,176,179,180} que estas características son factores de riesgo en pacientes con CCR localizado y que en la práctica clínica, pueden ayudarnos a identificar al subgrupo de pacientes con mayor riesgo de recaída, de tal manera que estos puedan beneficiarse de estrategias terapéuticas más agresivas y un seguimiento mas estrecho.

En el análisis multivariable ajustado por estos factores de riesgo se observó que la detección de ≥ 1 CTC no se asoció a peores resultados en términos de SLE y SG. Sin embargo el estadio ganglionar N2 mostró una fuerte asociación tanto con la SLE como con la SG. Gazzaniga y cols. llevaron a cabo un pequeño estudio en el que se incluyeron 37 pacientes con CCR estadios II de alto riesgo y III, a quienes se les realizó una determinación de CTC mediante la técnica CellSearch, tras la cirugía y antes de iniciar el tratamiento adyuvante. ²⁷⁴

Se observó que la detección de ≥ 1 CTC se correlacionó significativamente con la afectación ganglionar y el estadio. En nuestro estudio, aunque la detección de CTC no se asoció a un mayor riesgo de recaída y muerte, se observó que la presencia de ≥ 1 CTC fue significativamente más frecuente en pacientes con estadio IIIC, quienes en su gran mayoría tenían un estadio ganglionar N2, por lo que debemos esperar un mayor seguimiento que nos permita sacar conclusiones definitivas sobre el carácter pronóstico de las CTC en pacientes con estadio III de alto riesgo.

Como crítica a nuestro estudio, una segunda determinación de CTC tras finalizar el tratamiento adyuvante probablemente nos hubiese ayudado a identificar aquel subgrupo con mayor riesgo de recaída, ya que la persistencia de CTC tras la administración de la quimioterapia adyuvante o la aparición de CTC en pacientes que previamente no las tenían podría ser un predictor de recaída tumoral. Esta hipótesis es sugerida por Lu y cols., quienes llevaron a cabo un estudio en el que incluyeron 90 pacientes con cáncer de colon estadio III a quienes se les determinaron CTC tras finalizar el tratamiento adyuvante con FOLFOX. En este estudio, la presencia persistente de CTC fue un predictor independiente de recaída y se correlacionó fuertemente con una reducción de la SLE y SG.²⁸⁶

Finalmente, la evaluación de biomarcadores para la toma de decisiones terapéuticas en el CCR metastásico es el paradigma de la medicina personalizada.

Diversos estudios llevados a cabo en este escenario han demostrado que el estado mutacional KRAS no sólo predice respuesta a los fármacos dirigidos contra el EGFR, sino que además es un factor pronóstico en estos pacientes.²⁸⁷⁻²⁹⁴ Asimismo, el valor pronóstico del estado mutacional BRAF ha sido claramente demostrado en varios estudios.^{211,295-301} Estos factores pronósticos moleculares y otros como las mutaciones de PI3K y los micro-RNAs,³⁰²⁻³⁰⁵ junto a la determinación de CTC, podrían ayudarnos a identificar aquel subgrupo de peor pronóstico que podría obtener mayor beneficio del tratamiento adyuvante.

7. CONCLUSIONES

- El punto de corte ≥ 3 CTC establecido en CCR metastásico no es el mas adecuado para ser usado en CCR precoz, dada la escasez de CTC en este escenario. Teniendo en cuenta nuestros hallazgos y lo previamente reportado, nosotros sugerimos un recuento de CTC ≥ 1 como punto de corte óptimo a ser usado en futuros estudios en el escenario adyuvante del CCR.
- En pacientes con CCR estadio III, la presencia de CTC es mas frecuente en aquel subgrupo de pacientes con mayor riesgo de recaída.
- En pacientes con CCR estadio IIIA, la detección de ≥ 1 CTC parece asociarse con una peor SLE y SG.
- Entre los pacientes con CCR estadio III, el grupo con CCR estadio IIIA es el de mejor pronóstico, por lo que de confirmarse nuestros hallazgos, podríamos identificar al subgrupo con CCR IIIA de mejor pronóstico en el que podríamos valorar obviar la quimioterapia adyuvante.
- Independientemente del esquema usado, nuestros resultados confirman el beneficio en SLE y SG, de administrar quimioterapia adyuvante en pacientes con CCR estadio III.

- En nuestro estudio, en donde la mediana de edad fue mayor a la reportada en los estudios de adyuvancia, no se confirma el beneficio de añadir oxaliplatino a la quimioterapia basada en fluoropirimidinas, lo que apoyaría los hallazgos de análisis previamente reportados en los que los pacientes ancianos no obtienen un mayor beneficio con los esquemas basados en oxaliplatino.
- En nuestro análisis, el tratamiento adyuvante con FOLFOX parece reducir el riesgo de recaída en comparación con XELOX, aunque este hallazgo necesita ser confirmado en estudios con mayor tamaño muestral que estén diseñados para comparar la eficacia de ambos esquemas.
- Nuestros hallazgos confirman que el estadio tumoral T4, el estadio ganglionar N2, la presencia de obstrucción o perforación intestinal, la invasión vascular y la invasión de vasos linfáticos, son características asociadas a un pobre pronóstico en pacientes con CCR precoz.
- Es necesario un mayor seguimiento de los pacientes incluidos en nuestro estudio para que podamos sacar conclusiones definitivas sobre el papel de las CTC en pacientes con CCR estadio III.

8. BIBLIOGRAFIA

1. GLOBOCAN 2012. 2013 Available from: <http://globocan.iarc.fr>
2. Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:1688–94.
3. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. *CA Cancer J Clin* 2009;59:366–78.
4. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE--5-a population-based study. *Lancet Oncol* 2014;15:23–34.
5. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Ehemann C, Zuber AG, Anderson RN, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer* 2010;116:544–73.
6. Haggard FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg* 2009;22:191–7.
7. Chan AT, Giovannucci EL. Primary prevention of colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138:2029–43.e10.
8. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet* 2010;375:1030–47.

9. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control* 2013;24:1207–22.
10. Kwak EL, Chung DC. Hereditary colorectal cancer syndromes: an overview. *Clin Colorectal Cancer* 2007;6:340–4.
11. Hartz A, He T, Ross JJ. Risk factors for colon cancer in 150,912 postmenopausal women. *Cancer Causes Control* 2012;23:1599–605.
12. Barone M, Lofano K, De Tullio N, Licinio R, Licino R, Albano F, et al. Dietary, endocrine, and metabolic factors in the development of colorectal cancer. *J Gastrointest Cancer* 2012;43:13–9.
13. Norat T, Lukanova A, Ferrari P, Riboli E. Meat consumption and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer* 2002;98:241–56.
14. Chao A, Thun MJ, Connell CJ, McCullough ML, Jacobs EJ, Flanders WD, et al. Meat consumption and risk of colorectal cancer. *JAMA* 2005;293:172–82.
15. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 1990;323:1664–72.

16. Giovannucci E, Willett WC. Dietary factors and risk of colon cancer. *Ann Med* 1994;26:443–52.
17. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Willett WC. Intake of fat, meat, and fiber in relation to risk of colon cancer in men. *Cancer Res* 1994;54:2390–7.
18. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, et al. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:906–16.
19. Geelen A, Schouten JM, Kamphuis C, Stam BE, Burema J, Renkema JM, et al. Fish consumption, n-3 fatty acids, and colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Epidemiol* 2007;166:1116–25.
20. Kimura Y, Kono S, Toyomura K, Nagano J, Mizoue T, Moore MA, et al. Meat, fish and fat intake in relation to subsite-specific risk of colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Sci* 2007;98:590–7.
21. Hall MN, Chavarro JE, Lee IM, Willett WC, Ma J. A 22-year prospective study of fish, n-3 fatty acid intake, and colorectal cancer risk in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1136–43.

22. Cross AJ, Ferrucci LM, Risch A, Graubard BI, Ward MH, Park Y, et al. A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association. *Cancer Res* 2010;70:2406–14.
23. Goldbohm RA, van den Brandt PA, van 't Veer P, Brants HA, Dorant E, Sturmans F, et al. A prospective cohort study on the relation between meat consumption and the risk of colon cancer. *Cancer Res* 1994;54:718–23.
24. Cross AJ, Sinha R. Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer. *Environ Mol Mutagen* 2004;44:44–55.
25. Sugimura T, Wakabayashi K, Nakagama H, Nagao M. Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Sci* 2004;95:290–9.
26. Wurzelmann JI, Silver A, Schreinemachers DM, Sandler RS, Everson RB. Iron intake and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:503–7.
27. Lee DH, Anderson KE, Harnack LJ, Folsom AR, Jacobs DR. Heme iron, zinc, alcohol consumption, and colon cancer: Iowa Women's Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:403–7.

28. Tappel A. Heme of consumed red meat can act as a catalyst of oxidative damage and could initiate colon, breast and prostate cancers, heart disease and other diseases. *Med Hypotheses* 2007;68:562–4.
29. Kuhnle GGC, Bingham SA. Dietary meat, endogenous nitrosation and colorectal cancer. *Biochem Soc Trans* 2007;35:1355–7.
30. Kuhnle GG, Story GW, Reda T, Mani AR, Moore KP, Lunn JC, et al. Diet-induced endogenous formation of nitroso compounds in the GI tract. *Free Radic Biol Med* 2007;43:1040–7.
31. Yusof AS, Isa ZM, Shah SA. Dietary patterns and risk of colorectal cancer: a systematic review of cohort studies (2000-2011). *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13:4713–7.
32. Fung TT, Hu FB, Wu K, Chiuve SE, Fuchs CS, Giovannucci E. The Mediterranean and Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diets and colorectal cancer. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1429–35.
33. Beresford SA, Johnson KC, Ritenbaugh C, Lasser NL, Snetselaar LG, Black HR, et al. Low-fat dietary pattern and risk of colorectal cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA* 2006;295:643–54.

34. Alexander DD, Cushing CA, Lowe KA, Scurman B, Roberts MA. Meta-analysis of animal fat or animal protein intake and colorectal cancer. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1402–9.
35. Järvinen R, Knekt P, Hakulinen T, Aromaa A. Prospective study on milk products, calcium and cancers of the colon and rectum. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:1000–7.
36. Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Colditz GA, et al. Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1015–22.
37. Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Colorectal cancer risk and dietary intake of calcium, vitamin D, and dairy products: a meta-analysis of 26,335 cases from 60 observational studies. *Nutr Cancer* 2009;61:47–69.
38. Martínez ME, Willett WC. Calcium, vitamin D, and colorectal cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:163–8.
39. Ishihara J, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Tsugane S. Dietary calcium, vitamin D, and the risk of colorectal cancer. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1576–83.

40. Pericleous M, Mandair D, Caplin ME. Diet and supplements and their impact on colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol* 2013;4:409–23.
41. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al. Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 2011;343:d6617.
42. Terry P, Giovannucci E, Michels KB, Bergkvist L, Hansen H, Holmberg L, et al. Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:525–33.
43. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, et al. Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet* 2003;361:1496–501.
44. van Duijnhoven FJ, Bueno-de-Mesquita HB, Ferrari P, Jenab M, Boshuizen HC, Ros MM, et al. Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1441–52.
45. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, et al. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* 1999;340:169–76.

46. Michels KB, Edward Giovannucci, Joshipura KJ, Rosner BA, Stampfer MJ, Fuchs CS, et al. Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1740–52.
47. Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, Bergkvist L, Berrino F, van den Brandt PA, et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA* 2005;294:2849–57.
48. Schatzkin A, Mouw T, Park Y, Subar AF, Kipnis V, Hollenbeck A, et al. Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1353–60.
49. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc* 1996;96:1027–39.
50. Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol* 1997;26:1–13.
51. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, et al. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005;97:179–94.

52. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *Am J Prev Med* 2007;32:210–6.
53. Pietinen P, Malila N, Virtanen M, Hartman TJ, Tangrea JA, Albanes D, et al. Diet and risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men. *Cancer Causes Control* 1999;10:387–96.
54. Terry P, Baron JA, Bergkvist L, Holmberg L, Wolk A. Dietary calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study in women. *Nutr Cancer* 2002;43:39–46.
55. McCullough ML, Robertson AS, Rodriguez C, Jacobs EJ, Chao A, Carolyn J, et al. Calcium, vitamin D, dairy products, and risk of colorectal cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort (United States). *Cancer Causes Control* 2003;14:1–12.
56. Lamprecht SA, Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2003;3:601–14.
57. Duthie SJ. Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:101–9.

58. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Fuchs C, Rosner BA, et al. Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the Nurses' Health Study. *Ann Intern Med* 1998;129:517-24.
59. Jacobs EJ, Connell CJ, Patel AV, Chao A, Rodriguez C, Seymour J, et al. Multivitamin use and colon cancer mortality in the Cancer Prevention Study II cohort (United States). *Cancer Causes Control* 2001;12:927-34.
60. Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, Roddam AW, Key TJ. Folate intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. *Int J Cancer* 2005;113:825-8.
61. Bardou M, Barkun AN, Martel M. Obesity and colorectal cancer. *Gut* 2013;62:933-47.
62. Harriss DJ, Atkinson G, George K, Tim Cable N, Reilly T, Haboubi N, et al. Lifestyle factors and colorectal cancer risk (1): systematic review and meta-analysis of associations with body mass index. *Colorectal Dis* 2009;11:547-63.
63. Ning Y, Wang L, Giovannucci EL. A quantitative analysis of body mass index and colorectal cancer: findings from 56 observational studies. *Obes Rev* 2010;11:19-30.

64. Ma Y, Yang Y, Wang F, Zhang P, Shi C, Zou Y, et al. Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS ONE* 2013;8:e53916.
65. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med* 1995;122:327–34.
66. Wolin KY, Yan Y, Colditz GA, Lee IM. Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009;100:611–6.
67. Seitz HK, Simanowski UA, Garzon FT, Rideout JM, Peters TJ, Koch A, et al. Possible role of acetaldehyde in ethanol-related rectal cocarcinogenesis in the rat. *Gastroenterology* 1990;98:406–13.
68. Choi SW, Stickel F, Baik HW, Kim YI, Seitz HK, Mason JB. Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. *J Nutr* 1999;129:1945–50.
69. Kune GA, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: a review of the scientific evidence from 1957 to 1991. *Nutr Cancer* 1992;18:97–111.
70. Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Alcohol, low-methionine--low-folate diets, and risk of colon cancer in men. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:265–73.

71. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, et al. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med* 2004;140:603–13.
72. Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, et al. Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2007;121:2065–72.
73. Mizoue T, Inoue M, Wakai K, Nagata C, Shimazu T, Tsuji I, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer in Japanese: a pooled analysis of results from five cohort studies. *Am J Epidemiol* 2008;167:1397–406.
74. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Ascherio A, Kearney J, et al. A Prospective Study of Cigarette Smoking and Risk of Colorectal Adenoma and Colorectal Cancer in U.S. Men. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:183–91.
75. Chyou PH, Nomura AM, Stemmermann GN. A prospective study of colon and rectal cancer among Hawaii Japanese men. *Ann Epidemiol* 1996;6:276–82.
76. Stürmer T, Glynn RJ, Lee IM, Christen WG, Hennekens CH. Lifetime cigarette smoking and colorectal cancer incidence in the Physicians' Health Study I. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1178–81.

77. Otani T, Iwasaki M, Yamamoto S, Sobue T, Hanaoka T, Inoue M, et al. Alcohol consumption, smoking, and subsequent risk of colorectal cancer in middle-aged and elderly Japanese men and women: Japan Public Health Center-based prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1492–500.
78. Paskett ED, Reeves KW, Rohan TE, Allison MA, Williams CD, Messina CR, et al. Association between cigarette smoking and colorectal cancer in the Women's Health Initiative. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1729–35.
79. Poynter JN, Haile RW, Siegmund KD, Campbell PT, Figueiredo JC, Limburg P, et al. Associations between smoking, alcohol consumption, and colorectal cancer, overall and by tumor microsatellite instability status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2745–50.
80. Gram IT, Braaten T, Lund E, Le Marchand L, Weiderpass E. Cigarette smoking and risk of colorectal cancer among Norwegian women. *Cancer Causes Control* 2009;20:895–903.
81. Wei PL, Lin SY, Chang YJ. Cigarette Smoking and Colorectal Cancer: From Epidemiology to Bench. *J Exp Clin Med* 2011;3:257–61.
82. Grodstein F, Martínez ME, Platz EA, Giovannucci E, Colditz GA, Kautzky M, et al. Postmenopausal hormone use and risk for colorectal cancer and adenoma. *Ann Intern Med* 1998;128:705–12.

83. Paganini-Hill A. Estrogen replacement therapy and colorectal cancer risk in elderly women. *Dis Colon Rectum* 1999;42:1300–5.
84. Delellis Henderson K, Duan L, Sullivan-Halley J, Ma H, Clarke CA, Neuhausen SL, et al. Menopausal hormone therapy use and risk of invasive colon cancer: the California Teachers Study. *Am J Epidemiol* 2010;171:415–25.
85. Friedman GD, Coates AO, Potter JD, Slattery ML. Drugs and colon cancer. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 1998;7:99–106.
86. Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Schernhammer ES, Curhan GC, Fuchs CS. Long-term use of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of colorectal cancer. *JAMA* 2005;294:914–23.
87. Jacobs EJ, Thun MJ, Bain EB, Rodriguez C, Henley SJ, Calle EE. A large cohort study of long-term daily use of adult-strength aspirin and cancer incidence. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:608–15.
88. Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Schernhammer ES, Wu K, Fuchs CS. Aspirin dose and duration of use and risk of colorectal cancer in men. *Gastroenterology* 2008;134:21–8.

89. Flossmann E, Rothwell PM, British Doctors Aspirin Trial and the UK-TIA Aspirin Trial. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet* 2007;369:1603–13.
90. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010;376:1741–50.
91. Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007;25:267–9.
92. Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res* 2009;29:2727–37.
93. Jawad N, Direkze N, Leedham SJ. Inflammatory bowel disease and colon cancer. *Recent Results Cancer Res* 2011;185:99–115.
94. Torres J, Pineton de Chambrun G, Itzkowitz S, Sachar DB, Colombel JF. Review article: colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:497–508.

95. Rubin DC, Shaker A, Levin MS. Chronic intestinal inflammation: inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer. *Front Immunol* 2012;3:107.
96. Dyson JK, Rutter MD. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: what is the real magnitude of the risk? *World J Gastroenterol* 2012;18:3839-48.
97. Grivennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol* 2013;35:229-44.
98. Ekbom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement. *Lancet* 1990;336:357-9.
99. Ekbom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 1990;323:1228-33.
100. Bernstein CN, Blanchard JF, Kliewer E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer* 2001;91:854-62.
101. Kastrinos F, Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes. *Cancer J* 2011;17:405-15.
102. Jo WS, Chung DC. Genetics of hereditary colorectal cancer. *Semin Oncol* 2005;32:11-23.

103. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med* 2003;138:560–70.
104. Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, Tops CM, Vasen HF, Wijnen JT, et al. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. *CA Cancer J Clin* 2006;56:213–25.
105. Vasen HF, Wijnen JT, Menko FH, Kleibeuker JH, Taal BG, Griffioen G, et al. Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Gastroenterology* 1996;110:1020–7.
106. Hampel H, Stephens JA, Pukkala E, Sankila R, Aaltonen LA, Mecklin JP, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset. *Gastroenterology* 2005;129:415–21.
107. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991;34:424–5.
108. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 2010;138:2044–58.

109. Hendriks YM, Wagner A, Morreau H, Menko F, Stormorken A, Quehenberger F, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. *Gastroenterology* 2004;127:17–25.
110. Chen S, Wang W, Lee S, Nafa K, Lee J, Romans K, et al. Prediction of germline mutations and cancer risk in the Lynch syndrome. *JAMA* 2006;296:1479–87.
111. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 2000;119:854–65.
112. Lynch HT, Lynch JF, Lynch PM, Attard T. Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management. *Fam Cancer* 2008;7:27–39.
113. Lynch HT, Lynch JF, Shaw TG. Hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Gastrointest Cancer Res* 2011;4:S9–S17.
114. Laurent S, Franchimont D, Coppens JP, Leunen K, Macken L, Peeters M, et al. Familial adenomatous polyposis: clinical presentation, detection and surveillance. *Acta Gastroenterol Belg* 2011;74:415–20.
115. Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, et al. Colon cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010;74:106–33.

116. Casciato DA, Territo MC. Manual de Oncología Clínica. Lippincott USA; 2009.
117. Saidi HS, Karuri D, Nyaim EO. Correlation of clinical data, anatomical site and disease stage in colorectal cancer. *East Afr Med J* 2008;85:259–62.
118. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
119. Field K, Lipton L. Metastatic colorectal cancer-past, progress and future. *World J Gastroenterol* 2007;13:3806–15.
120. Amri R, Bordeianou LG, Sylla P, Berger DL. Impact of Screening Colonoscopy on Outcomes in Colon Cancer Surgery. *JAMA Surg* 2013;148:747.
121. Wolmark N, Wieand HS, Rockette HE, Fisher B, Glass A, Lawrence W, et al. The prognostic significance of tumor location and bowel obstruction in Dukes B and C colorectal cancer. Findings from the NSABP clinical trials. *Ann Surg* 1983;198:743–52.
122. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer* 1986;57:1866–70.

123. Griffin MR, Bergstralh EJ, Coffey RJ, Beart RW Jr, Melton LJ 3rd. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987;60:2318–24.
124. Carraro PG, Segala M, Cesana BM, Tiberio G. Obstructing colonic cancer: failure and survival patterns over a ten-year follow-up after one-stage curative surgery. *Dis Colon Rectum* 2001;44:243–50.
125. Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T, Galle PR, Büchler MW. Colorectal cancer. *Lancet* 2005;365:153–65.
126. Morrin MM, Kruskal JB, Farrell RJ, Goldberg SN, McGee JB, Raptopoulos V. Endoluminal CT colonography after an incomplete endoscopic colonoscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1999;172:913–8.
127. Copel L, Sosna J, Kruskal JB, Raptopoulos V, Farrell RJ, Morrin MM. CT colonography in 546 patients with incomplete colonoscopy. *Radiology* 2007;244:471–8.
128. Van Cutsem E, Nordlinger B, Cervantes A, ESMO Guidelines Working Group. Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. *Ann Oncol* 2010;Suppl 5:v93–7.
129. Taylor AJ, Youker JE. Imaging in colorectal carcinoma. *Semin Oncol* 1991;18:99–110.

130. Horton KM, Abrams RA, Fishman EK. Spiral CT of colon cancer: imaging features and role in management. *Radiographics* 2000;20:419–30.
131. Kim NK, Kim MJ, Yun SH, Sohn SK, Min JS. Comparative study of transrectal ultrasonography, pelvic computerized tomography, and magnetic resonance imaging in preoperative staging of rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1999;42:770–5.
132. Rifkin MD, Ehrlich SM, Marks G. Staging of rectal carcinoma: prospective comparison of endorectal US and CT. *Radiology* 1989;170:319–22.
133. Brown G, Radcliffe AG, Newcombe RG, Dallimore NS, Bourne MW, Williams GT. Preoperative assessment of prognostic factors in rectal cancer using high-resolution magnetic resonance imaging. *Br J Surg* 2003;90:355–64.
134. Bipat S, Glas AS, Slors FJ, Zwinderman AH, Bossuyt PM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology* 2004;232:773–83.
135. Furukawa H, Ikuma H, Seki A, Yokoe K, Yuen S, Aramaki T, et al. Positron emission tomography scanning is not superior to whole body multidetector helical computed tomography in the preoperative staging of colorectal cancer. *Gut* 2006;55:1007–11.

136. Akiyoshi T, Oya M, Fujimoto Y, Kuroyanagi H, Ueno M, Yamaguchi T, et al. Comparison of preoperative whole-body positron emission tomography with MDCT in patients with primary colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2009;11:464–9.
137. Truant S, Huglo D, Hebbar M, Ernst O, Steinling M, Pruvot FR. Prospective evaluation of the impact of [18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography of resectable colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2005;92:362–9.
138. Bipat S, van Leeuwen MS, Comans EF, Pijl ME, Bossuyt PM, Zwinderman AH, et al. Colorectal liver metastases: CT, MR imaging, and PET for diagnosis--meta-analysis. *Radiology* 2005;237:123–31.
139. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS, Henry RS, Lerner H, Legault-Poisson S, et al. The prognostic significance of preoperative carcinoembryonic antigen levels in colorectal cancer. Results from NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) clinical trials. *Ann Surg* 1984;199:375–82.
140. Wiggers T, Arends JW, Volovics A. Regression analysis of prognostic factors in colorectal cancer after curative resections. *Dis Colon Rectum* 1988;31:33–41.

141. Lindmark G, Bergström R, Pahlman L, Glimelius B. The association of preoperative serum tumour markers with Dukes' stage and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1995;71:1090–4.
142. Park YJ, Park KJ, Park JG, Lee KU, Choe KJ, Kim JP. Prognostic factors in 2230 Korean colorectal cancer patients: analysis of consecutively operated cases. *World J Surg* 1999;23:721–6.
143. Park IJ, Choi G-S, Lim KH, Kang BM, Jun SH. Serum carcinoembryonic antigen monitoring after curative resection for colorectal cancer: clinical significance of the preoperative level. *Ann Surg Oncol* 2009;16:3087–93.
144. Thirunavukarasu P, Sukumar S, Sathaiah M, Mahan M, Pragatheeshwar KD, Pingpank JF, et al. C-stage in colon cancer: implications of carcinoembryonic antigen biomarker in staging, prognosis, and management. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:689–97.
145. Edge SB, Cancer AJCO. *AJCC Cancer Staging Handbook: From the AJCC Cancer Staging Manual*. 7 ed. Springer; 2010.
146. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol* 2003;16:376–88.

147. Prandi M, Lionetto R, Bini A, Francioni G, Accarpio G, Anfossi A, et al. Prognostic evaluation of stage B colon cancer patients is improved by an adequate lymphadenectomy: results of a secondary analysis of a large scale adjuvant trial. *Ann Surg* 2002;235:458–63.
148. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol* 2003;21:2912–9.
149. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:433–41.
150. Peeters KC, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Kranenbarg EK, Putter H, Wiggers T, et al. The TME trial after a median follow-up of 6 years: increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. *Ann Surg* 2007;246:693–701.
151. Quirke P, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Couture J, et al. Effect of the plane of surgery achieved on local recurrence in patients with operable rectal cancer: a prospective study using data from the MRC CR07 and NCIC-CTG C016 randomised clinical trial. *Lancet* 2009;373:821–8.

152. Guillaou PJ, Quirke P, Thorpe H, Walker J, Jayne DG, Smith AM, et al. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2005;365:1718–26.
153. Lacy AM, Delgado S, Castells A, Prins HA, Arroyo V, Ibarzabal A, et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg* 2008;248:1–7.
154. Colon Cancer Laparoscopic or Open Resection Study Group, Buunen M, Veldkamp R, Hop WC, Kuhry E, Jeekel J, et al. Survival after laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: long-term outcome of a randomised clinical trial. *Lancet Oncol* 2009;10:44–52.
155. Wolmark N, Fisher B, Rockette H, Redmond C, Wickerham DL, Fisher ER, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy or BCG for colon cancer: results from NSABP protocol C-01. *J Natl Cancer Inst* 1988;80:30–6.
156. Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, Wieand HS, Leigh JE, Rubin J, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol* 1989;7:1447–56.

157. Francini G, Petrioli R, Lorenzini L, Mancini S, Armenio S, Tanzini G, et al. Folinic acid and 5-fluorouracil as adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Gastroenterology* 1994;106:899–906.
158. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet* 1995;345:939–44.
159. O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, Macdonald JS, Haller DG, Mayer RJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:246–50.
160. Zaniboni A, Labianca R, Marsoni S, Torri V, Mosconi P, Grilli R, et al. GIVIO-SITAC 01: A randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and folinic acid administered to patients with colon carcinoma--long term results and evaluation of the indicators of health-related quality of life. Gruppo Italiano Valutazione Interventi in Oncologia. Studio Italiano Terapia Adjuvante Colon. *Cancer* 1998;82:2135–44.
161. Taal BG, Van Tinteren H, Zoetmulder FA, NACCP group. Adjuvant 5FU plus levamisole in colonic or rectal cancer: improved survival in stage II and III. *Br J Cancer* 2001;85:1437–43.

162. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, et al. Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II/Dukes' B2 colon cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:2936–43.
163. Schippinger W, Samonigg H, Schaberl-Moser R, Greil R, Thödtmann R, Tschmelitsch J, et al. A prospective randomised phase III trial of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil and leucovorin in patients with stage II colon cancer. *Br J Cancer* 2007;97:1021–7.
164. Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, McConkey C, Hills RK, Williams NS, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet* 2007;370:2020–9.
165. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. *J Clin Oncol* 1999;17:1356–63.
166. Mamounas E, Wieand S, Wolmark N, Bear HD, Atkins JN, Song K, et al. Comparative efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes“ B versus Dukes” C colon cancer: results from four National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies (C-01, C-02, C-03, and C-04). *J Clin Oncol* 1999;17:1349–55.

167. Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, Thomé SD, Alberts SR, Haller DG, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? *J Clin Oncol* 2004;22:1797–806.
168. Figueredo A. Adjuvant Therapy for Stage II Colon Cancer: A Systematic Review From the Cancer Care Ontario Program in Evidence-Based Care's Gastrointestinal Cancer Disease Site Group. *J Clin Oncol* 2004;22:3395–407.
169. Figueredo A, Coombes ME, Mukherjee S. Adjuvant therapy for completely resected stage II colon cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;3:CD005390.
170. Meyers BM, Al-Shamsi HO, Figueredo AT. Cochrane systematic review and meta-analysis of adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2013;31:3548.
171. André T, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009;27:3109–16.

172. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, Smith RE, Colangelo LH, Yothers G, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol* 2007;25:2198–204.
173. Yothers G, O'Connell MJ, Allegra CJ, Kuebler JP, Colangelo LH, Petrelli NJ, et al. Oxaliplatin as adjuvant therapy for colon cancer: updated results of NSABP C-07 trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol* 2011;29:3768–74.
174. Betge J, Rehak P, Langner C, Langer C. Adjuvant chemotherapy improves survival in patients with American Joint Committee on Cancer stage II colon cancer. *Cancer* 2012;118:2184–5.
175. Quah HM, Chou JF, Gönen M, Shia J, Schrag D, Landmann RG, et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum* 2008;51:503–7.
176. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Schlemmer A, Rehak P, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: prognostic significance and quality of pathology reporting. *Cancer* 2012;118:628–38.
177. Liebig C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5131–7.

178. Huh JW, Kim HR, Kim YJ. Prognostic value of perineural invasion in patients with stage II colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2010;17:2066–72.
179. Chen HS, Sheen-Chen SM. Obstruction and perforation in colorectal adenocarcinoma: an analysis of prognosis and current trends. *Surgery* 2000;127:370–6.
180. Petersen VC, Baxter KJ, Love SB, Shepherd NA. Identification of objective pathological prognostic determinants and models of prognosis in Dukes' B colon cancer. *Gut* 2002;51:65–9.
181. Takagawa R, Fujii S, Ohta M, Nagano Y, Kunisaki C, Yamagishi S, et al. Preoperative serum carcinoembryonic antigen level as a predictive factor of recurrence after curative resection of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008;15:3433–9.
182. Huh JW, Oh BR, Kim HR, Kim YJ. Preoperative carcinoembryonic antigen level as an independent prognostic factor in potentially curative colon cancer. *J Surg Oncol* 2010;101:396–400.
183. Benson AB, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3408–19.

184. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandala M, Cervantes A, et al. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24 Suppl 6:vi64–72.
185. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;342:69–77.
186. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, Schaffer D, Coleman LW, Leppert M, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with an improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:917–23.
187. Guidoboni M, Gafà R, Viel A, Doglioni C, Russo A, Santini A, et al. Microsatellite instability and high content of activated cytotoxic lymphocytes identify colon cancer patients with a favorable prognosis. *Am J Pathol* 2001;159:297–304.
188. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23:609–18.
189. Lanza G, Gafà R, Santini A, Maestri I, Guerzoni L, Cavazzini L. Immunohistochemical test for MLH1 and MSH2 expression predicts clinical outcome in stage II and III colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2006;24:2359–67.

190. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247–57.
191. Jover R, Zapater P, Castells A, Llor X, Andreu M, Cubiella J, et al. Mismatch repair status in the prediction of benefit from adjuvant fluorouracil chemotherapy in colorectal cancer. *Gut* 2006;55:848–55.
192. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3219–26.
193. de Gramont A, de Gramont A, Chibaudel B, Larsen AK, Tournigand C, André T, et al. The evolution of adjuvant therapy in the treatment of early-stage colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011;10:218–26.
194. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Goodman PJ, et al. Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N Engl J Med* 1990;322:352–8.
195. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, et al. Fluorouracil plus levamisole as effective adjuvant therapy after resection of stage III colon carcinoma: a final report. *Ann Intern Med* 1995;122:321–6.

196. Wolmark N, Rockette H, Mamounas E, Jones J, Wieand S, Wickerham DL, et al. Clinical trial to assess the relative efficacy of fluorouracil and leucovorin, fluorouracil and levamisole, and fluorouracil, leucovorin, and levamisole in patients with Dukes' B and C carcinoma of the colon: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-04. *J Clin Oncol* 1999;17:3553-9.
197. Haller DG, Catalano PJ, Macdonald JS, O'Rourke MA, Frontiera MS, Jackson DV, et al. Phase III study of fluorouracil, leucovorin, and levamisole in high-risk stage II and III colon cancer: final report of Intergroup 0089. *J Clin Oncol* 2005;23:8671-8.
198. André T, Colin P, Louvet C, Gamelin E, Bouché O, Achille E, et al. Semimonthly versus monthly regimen of fluorouracil and leucovorin administered for 24 or 36 weeks as adjuvant therapy in stage II and III colon cancer: results of a randomized trial. *J Clin Oncol* 2003;21:2896-903.
199. André T, Quinaux E, Louvet C, Colin P, Gamelin E, Bouché O, et al. Phase III study comparing a semimonthly with a monthly regimen of fluorouracil and leucovorin as adjuvant treatment for stage II and III colon cancer patients: final results of GERCOR C96.1. *J Clin Oncol* 2007;25:3732-8.

200. Cassidy J, Douillard JY, Twelves C, McKendrick JJ, Scheithauer W, Bustová I, et al. Pharmacoeconomic analysis of adjuvant oral capecitabine vs intravenous 5-FU/LV in Dukes' C colon cancer: the X-ACT trial. *Br J Cancer* 2006;94:1122–9.
201. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, Burris H, Carrato A, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2005;352:2696–704.
202. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2343–51.
203. Haller DG, Tabernero J, Maroun J, de Braud F, Price T, Van Cutsem E, et al. Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1465–71.
204. Schmoll HJ, Tabernero J, Maroun JA, De Braud FG, Price TJ, Van Cutsem E, et al. Capecitabine plus oxaliplatin (XELOX) versus bolus 5-fluorouracil/leucovorin (5-FU/LV) as adjuvant therapy for stage III colon cancer: Survival follow-up of study NO16968 (XELOXA). *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2012;30:388.

205. Tournigand C, André T, Achille E, Lledo G, Flesh M, Mery-Mignard D, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 2004;22:229–37.
206. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, Goldberg RM, Hantel A, Thomas JP, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. *J Clin Oncol* 2007;25:3456–61.
207. Van Cutsem E, Labianca R, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, et al. Randomized phase III trial comparing biweekly infusional fluorouracil/leucovorin alone or with irinotecan in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: PETACC-3. *J Clin Oncol* 2009;27:3117–25.
208. Ychou M, Raoul JL, Douillard JY, Gourgou-Bourgade S, Bugat R, Mineur L, et al. A phase III randomised trial of LV5FU2 + irinotecan versus LV5FU2 alone in adjuvant high-risk colon cancer (FNCLCC Accord02/FFCD9802). *Ann Oncol* 2009;20:674–80.
209. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335–42.

210. Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E, Scheithauer W, Figuer A, Wong R, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008;26:2013–9.
211. Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I, Folprecht G, Nowacki MP, Cascinu S, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011;29:2011–9.
212. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, de Braud F, Schuch G, Zobel A, et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. *Ann Oncol* 2011;22:1535–46.
213. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, Sharif S, Petrelli NJ, Lopa SH, et al. Bevacizumab in stage II-III colon cancer: 5-year update of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-08 trial. *J Clin Oncol* 2013;31:359–64.
214. de Gramont A, Van Cutsem E, Schmoll HJ, Tabernero J, Clarke S, Moore MJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2012;13:1225–33.

215. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S, Mahoney MR, Mooney M, Thibodeau SN, et al. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: a randomized trial. *JAMA* 2012;307:1383–93.
216. Taieb J, Taberero J, Mini E, Subtil F, Folprecht G, Van Laethem JL, et al. Subgroup analyses results of the PETACC8 phase III trial comparing adjuvant FOLFOX4 with or without cetuximab (CTX) in resected stage III colon cancer (CC). *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2013;31:3525.
217. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell* 2009;139:1315–26.
218. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature* 2012;481:306–13.
219. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004;10:6897–904.
220. Maestro LM, Sastre J, Rafael SB, Veganzones SB, Vidaurreta M, Martin M, et al. Circulating tumor cells in solid tumor in metastatic and localized stages. *Anticancer Res* 2009;29:4839–43.

221. Dotan E, Cohen SJ, Alpaugh KR, Meropol NJ. Circulating tumor cells: evolving evidence and future challenges. *Oncologist* 2009;14:1070–82.
222. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:781–91.
223. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:1420–30.
224. Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res* 2006;12:4218–24.
225. Moreno JG, Miller MC, Gross S, Allard WJ, Gomella LG, Terstappen LW. Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer. *Urology* 2005;65:713–8.
226. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:6302–9.

227. Patel H, Le Marer N, Wharton RQ, Khan ZA, Araia R, Glover C, et al. Clearance of circulating tumor cells after excision of primary colorectal cancer. *Ann Surg* 2002;235:226–31.
228. Bessa X, Piñol V, Castellví-Bel S, Piazuelo E, Lacy AM, Elizalde JI, et al. Prognostic value of postoperative detection of blood circulating tumor cells in patients with colorectal cancer operated on for cure. *Ann Surg* 2003;237:368–75.
229. Allen-Mersh TG, McCullough TK, Patel H, Wharton RQ, Glover C, Jonas SK. Role of circulating tumour cells in predicting recurrence after excision of primary colorectal carcinoma. *Br J Surg* 2007;94:96–105.
230. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:3213–21.
231. Sastre J, Maestro ML, Puente J, Veganzones S, Alfonso R, Rafael S, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables. *Ann Oncol* 2008;19:935–8.
232. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2009;20:1223–9.

233. Miller MC, Doyle GV, Terstappen LW. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol* 2010;2010:617421.
234. Tol J, Koopman M, Miller MC, Tibbe A, Cats A, Creemers GJ, et al. Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol* 2010;21:1006–12.
235. Sastre J, Maestro ML, Gómez-España A, Rivera F, Valladares M, Massuti B, et al. Circulating tumor cell count is a prognostic factor in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors study. *Oncologist* 2012;17:947–55.
236. Sastre J, Vidaurreta M, Gómez A, Rivera F, Massuti B, López MR, et al. Prognostic Value of the Combination of Circulating Tumor Cells Plus KRAS in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With Chemotherapy Plus Bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2013;12:280-6.
237. Martin M, Custodio S, de las Casas ML, García-Saenz JÁ, de la Torre JC, Bellón-Cano JM, et al. Circulating tumor cells following first chemotherapy cycle: an early and strong predictor of outcome in patients with metastatic breast cancer. *Oncologist* 2013;18:917–23.

238. Krebs MG, Metcalf RL, Carter L, Brady G, Blackhall FH, Dive C. Molecular analysis of circulating tumour cells-biology and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol* 2014;11:129-44.
239. Torino F, Bonmassar E, Bonmassar L, De Vecchis L, Barnabei A, Zuppi C, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer patients. *Cancer Treat Rev* 2013;39:759-72.
240. Liberko M, Kolostova K, Bobek V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;88:338-56.
241. Zieglschmid V, Hollmann C, Gutierrez B, Albert W, Strothoff D, Gross E, et al. Combination of immunomagnetic enrichment with multiplex RT-PCR analysis for the detection of disseminated tumor cells. *Anticancer Res* 2005;25:1803-10.
242. Demel U, Tilz GP, Foeldes-Papp Z, Gutierrez B, Albert WH, Bocher O. Detection of tumour cells in the peripheral blood of patients with breast cancer. Development of a new sensitive and specific immunomolecular assay. *J Exp Clin Cancer Res* 2004;23:465-8.
243. Lankiewicz S, Rivero BG, Bócher O. Quantitative real-time RT-PCR of disseminated tumor cells in combination with immunomagnetic cell enrichment. *Mol Biotechnol* 2006;34:15-27.

244. Talasz AH, Powell AA, Huber DE, Berbee JG, Roh KH, Yu W, et al. Isolating highly enriched populations of circulating epithelial cells and other rare cells from blood using a magnetic sweeper device. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:3970-5.
245. Weigelt B, Bosma AJ, Hart AA, Rodenhuis S, van 't Veer LJ. Marker genes for circulating tumour cells predict survival in metastasized breast cancer patients. *Br J Cancer* 2003;88:1091-4.
246. Wong NS, Kahn HJ, Zhang L, Oldfield S, Yang LY, Marks A, et al. Prognostic significance of circulating tumour cells enumerated after filtration enrichment in early and metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2006;99:63-9.
247. Dawood S, Broglio K, Valero V, Reuben J, Handy B, Islam R, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: from prognostic stratification to modification of the staging system? *Cancer* 2008;113:2422-30.
248. Nole F, Munzone E, Zorzino L, Minchella I, Salvatici M, Botteri E, et al. Variation of circulating tumor cell levels during treatment of metastatic breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Ann Oncol* 2008;19:891-7.

249. Budd GT, Cristofanilli M, Ellis MJ, Stopeck A, Borden E, Miller MC, et al. Circulating tumor cells versus imaging--predicting overall survival in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:6403-9.
250. Liu MC, Shields PG, Warren RD, Cohen P, Wilkinson M, Ottaviano YL, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5153-9.
251. Lianidou ES, Markou A. Circulating tumor cells as emerging tumor biomarkers in breast cancer. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1579-90.
252. Giuliano M, Giordano A, Jackson S, Hess KR, De Giorgi U, Mego M, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Res* 2011;13:R67.
253. Zhang L, Riethdorf S, Wu G, Wang T, Yang K, Peng G, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2012;18:5701-10.
254. Aurilio G, Sciandivasci A, Munzone E, Sandri MT, Zorzino L, Cassatella MC, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in primary and metastatic breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012;12:203-14.
255. Giordano A, Cristofanilli M. CTCs in metastatic breast cancer. *Recent Results Cancer Res* 2012;195:193-201.

256. Pierga JY, Bidard FC, Mathiot C, Brain E, Delaloge S, Giachetti S, et al. Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. *Clin Cancer Res* 2008;14:7004–10.
257. Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, Krauspe S, Malarski N, Gajda M, et al. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. *J Clin Oncol* 2008;26:1208–15.
258. García-Saenz JÁ, Martín M, Maestro ML, Vidaurreta M, Veganzones S, Rafael S, et al. Circulating tumour cells in locally advanced breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2009;11:544–7.
259. Bidard FC, Mathiot C, Delaloge S, Brain E, Giachetti S, de Cremoux P, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2010;21:729–33.
260. Lucci A, Hall CS, Lodhi AK, Bhattacharyya A, Anderson AE, Xiao L, et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. *Lancet Oncol* 2012;13:688–95.
261. Franken B, de Groot MR, Mastboom WJ, Vermes I, van der Palen J, Tibbe AG, et al. Circulating tumor cells, disease recurrence and survival in newly diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012;14:R133.

262. Camara O, Rengsberger M, Egbe A, Koch A, Gajda M, Hammer U, et al. The relevance of circulating epithelial tumor cells (CETC) for therapy monitoring during neoadjuvant (primary systemic) chemotherapy in breast cancer. *Ann Oncol* 2007;18:1484–92.
263. Danila DC, Heller G, Gignac GA, Gonzalez-Espinoza R, Anand A, Tanaka E, et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:7053–8.
264. Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, et al. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol* 2009;10:233–9.
265. Scher HI, Heller G, Molina A, Kheoh TS, Attard G, Moreira J, et al. Evaluation of circulating tumor cell (CTC) enumeration as an efficacy response biomarker of overall survival (OS) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): Planned final analysis (FA) of COU-AA-301, a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of abiraterone acetate (AA) plus low-dose prednisone (P) post docetaxel. *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2011;29:LBA4517.
266. de Albuquerque A, Kubisch I, Stölzel U, Ernst D, Boese-Landgraf J, Breier G, et al. Prognostic and predictive value of circulating tumor cell analysis in colorectal cancer patients. *J Transl Med* 2012;10:222.

267. Aggarwal C, Meropol NJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, et al. Relationship among circulating tumor cells, CEA and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2013;24:420–8.
268. Seeberg LT, Waage A, Brunborg C, Hugenschmidt H, Renolen A, Stav I, et al. Circulating Tumor Cells in Patients With Colorectal Liver Metastasis Predict Impaired Survival. *Ann Surg* 2014 [Epub ahead of print].
269. Bessa X, Elizalde JI, Boix L, Piñol V, Lacy AM, Saló J, et al. Lack of prognostic influence of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 2001;120:1084–92.
270. Uen YH, Lu CY, Tsai HL, Yu FJ, Huang MY, Cheng TL, et al. Persistent presence of postoperative circulating tumor cells is a poor prognostic factor for patients with stage I-III colorectal cancer after curative resection. *Ann Surg Oncol* 2008;15:2120–8.
271. Rahbari NN, Aigner M, Thorlund K, Mollberg N, Motschall E, Jensen K, et al. Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138:1714–26.
272. Peach G, Kim C, Zacharakis E, Purkayastha S, Ziprin P. Prognostic significance of circulating tumour cells following surgical resection of colorectal cancers: a systematic review. *Br J Cancer* 2010;102:1327–34.

273. Thorsteinsson M, Jess P. The clinical significance of circulating tumor cells in non-metastatic colorectal cancer--a review. *Eur J Surg Oncol* 2011;37:459–65.
274. Gazzaniga P, Gianni W, Raimondi C, Gradilone A, Russo Lo G, Longo F, et al. Circulating tumor cells in high-risk nonmetastatic colorectal cancer. *Tumour Biol* 2013;34:2507-9.
275. Thorsteinsson M, Söletormos G, Jess P. Low number of detectable circulating tumor cells in non-metastatic colon cancer. *Anticancer Res* 2011;31:613–7.
276. Hu CY, Chan W, Delclos GP, Du XL. Adjuvant chemotherapy and risk of gastrointestinal, hematologic, and cardiac toxicities in elderly patients with stage III colon cancer. *Am J Clin Oncol* 2012;35:228–36.
277. Uen YH, Lin SR, Wu DC, Su YC, Wu JY, Cheng TL, et al. Prognostic significance of multiple molecular markers for patients with stage II colorectal cancer undergoing curative resection. *Ann Surg* 2007;246:1040–6.
278. Lu CY, Uen YH, Tsai HL, Chuang SC, Hou MF, Wu DC, et al. Molecular detection of persistent postoperative circulating tumour cells in stages II and III colon cancer patients via multiple blood sampling: prognostic significance of detection for early relapse. *Br J Cancer* 2011;104:1178–84.

279. Iinuma H, Watanabe T, Mimori K, Adachi M, Hayashi N, Tamura J, et al. Clinical significance of circulating tumor cells, including cancer stem-like cells, in peripheral blood for recurrence and prognosis in patients with Dukes' stage B and C colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1547–55.
280. Gazzaniga P, Raimondi C, Gradilone A, Biondi Zoccai G, Nicolazzo C, Gandini O, et al. Circulating tumor cells in metastatic colorectal cancer: do we need an alternative cutoff? *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139:1411–6.
281. Scholten L, Terstappen LW, van der Palen J, Mastboom W, Tibbe A, Vermes I, et al. Circulating tumor cells as a possible prognostic tool in newly diagnosed nonmetastatic colorectal cancer? *J Clin Oncol (ASCO Meeting Abstracts)* 2012;30:395.
282. Park SY, Choi GS, Park JS, Kim HJ, Ryuk JP, Choi WH. Influence of surgical manipulation and surgical modality on the molecular detection of circulating tumor cells from colorectal cancer. *J Korean Surg Soc* 2012;82:356.

283. Tournigand C, André T, Bonnetain F, Chibaudel B, Lledo G, Hickish T, et al. Adjuvant therapy with fluorouracil and oxaliplatin in stage II and elderly patients (between ages 70 and 75 years) with colon cancer: subgroup analyses of the Multicenter International Study of Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer trial. *J Clin Oncol* 2012;30:3353–60.
284. Rothenberg ML, Cox JV, Butts C, Navarro M, Bang YJ, Goel R, et al. Capecitabine plus oxaliplatin (XELOX) versus 5-fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin (FOLFOX-4) as second-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III noninferiority study. *Ann Oncol* 2008;19:1720–6.
285. Ducreux M, Bennouna J, Hebbar M, Ychou M, Lledo G, Conroy T, et al. Capecitabine plus oxaliplatin (XELOX) versus 5-fluorouracil/leucovorin plus oxaliplatin (FOLFOX-6) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer. *Int J Cancer* 2011;128:682–90.
286. Lu CY, Tsai HL, Uen YH, Hu HM, Chen CW, Cheng TL, et al. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining clinical outcome to mFOLFOX chemotherapy in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer* 2013;108:791–7.

287. Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;360:1408–17.
288. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, Aparicio J, de Braud F, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:663–71.
289. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1757–65.
290. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ, Basik M, Harbison CT, Wu S, et al. Expression of Epiregulin and Amphiregulin and K-ras Mutation Status Predict Disease Control in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated With Cetuximab. *J Clin Oncol* 2007;25:3230–7.
291. Lievre A, Bachet JB, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, et al. KRAS Mutations As an Independent Prognostic Factor in Patients With Advanced Colorectal Cancer Treated With Cetuximab. *J Clin Oncol* 2008;26:374–9.
292. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-Type KRAS Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1626–34.

293. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010;11:753–62.
294. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, Le Pessot F, Lamy A, Galais MP, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007;96:1166–9.
295. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:5705–12.
296. Bokemeyer C, Van Cutsem E, Rougier P, Ciardiello F, Heeger S, Schlichting M, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. *Eur J Cancer* 2012;48:1466–75.
297. Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;361:98–9.

298. Tol J, Dijkstra JR, Klomp M, Teerenstra S, Dommerholt M, Vink-Börger ME, et al. Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *Eur J Cancer* 2010;46:1997–2009.
299. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011;377:2103–14.
300. Richman SD, Seymour MT, Chambers P, Elliott F, Daly CL, Meade AM, et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. *J Clin Oncol* 2009;27:5931–7.
301. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58:90–6.
302. Kato S, Iida S, Higuchi T, Ishikawa T, Takagi Y, Yasuno M, et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007;121:1771–8.

303. Liao X, Morikawa T, Lochhead P, Imamura Y, Kuchiba A, Yamauchi M, et al. Prognostic role of PIK3CA mutation in colorectal cancer: cohort study and literature review. *Clin Cancer Res* 2012;18:2257–68.
304. Zhai H, Ju J. Implications of microRNAs in colorectal cancer development, diagnosis, prognosis, and therapeutics. *Front Genet* 2011;2:1-11.
305. Vickers MM, Bar J, Gorn-Hondermann I, Yarom N, Daneshmand M, Hanson JE, et al. Stage-dependent differential expression of microRNAs in colorectal cancer: potential role as markers of metastatic disease. *Clin Exp Metastasis* 2012;29:123–32.