

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS
FACULTAD DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES PREDICTIVOS DE CARCINOMATOSIS PERITONEAL EN CÁNCER DE COLON

AUTOR

VÍCTOR J. OVEJERO GÓMEZ

DIRECTORES

**Dr. Fco. JAVIER FREIRE SALINAS
Dr. JOSÉ JAVIER GÓMEZ ROMÁN**

Santander, Enero 2016

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Memoria presentada por **D. VÍCTOR J. OVEJERO GÓMEZ** para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

(firma del doctorando)

El presente trabajo ha sido realizado bajo mi dirección en el Laboratorio de Patología Molecular del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y autorizo su presentación ante el Tribunal que lo ha de juzgar.

(firma del Director de Tesis Doctoral)

José Javier Gómez Román

Fco. Javier Freire Salinas

“An ounce of prevention is worth a pound of cure”

“Una onza de prevención vale una libra de cura”

(Benjamin Franklin, 1706 – 1790)

“It’s what the Surgeon doesn’t see that kills the patient”

“Es aquello que el cirujano no ve lo que mata al paciente”

(Paul H Sugarbaker, Washington Cancer Institute)

**A mis padres,
A Vicky
A Víctor Jr.**

Al paciente oncológico

Este trabajo de investigación ha sido posible gracias a la colaboración de numerosas personas a las que quiero expresar mi más sincero agradecimiento, especialmente:

Al **Dr. D. Javier Gómez Román**, Jefe de Sección del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla” de Santander, por la oportunidad que me ha brindado de poder realizar un trabajo científico sobre una de las materias que más me apasiona en mi carrera profesional, animándome cuando el desaliento y las adversidades parecían hacer fracasar mi empeño.

Al **Dr. D. Javier Freire Salinas**, biólogo molecular del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla” de Santander, por creer en mi proyecto y dedicar tantas horas de su tiempo a las directrices de la investigación, con una amistad más propia de amigo que de compañero de trabajo.

Al **Dr. D. Fernando Val Bernal**, Catedrático de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla” de Santander, por sus orientaciones sobre las posibilidades de la Anatomía Patológica moderna en el estudio de la

carcinomatosis peritoneal que facilitaron la puesta en marcha de este proyecto de investigación.

Al **Dr. D. Pedro Muñoz Cacho**, Técnico de Salud Pública en la Unidad Multidisciplinar del Servicio Cántabro de Salud, por su tiempo y enseñanza de conocimientos estadísticos sin cuya ayuda me hubiera resultado muy difícil interpretar los hallazgos del estudio.

A **Dña. Pilar García-Berbel**, colaboradora e investigadora en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla” de Santander, por su amistad y paciencia en mi aprendizaje de las técnicas inmunohistoquímicas.

A **Dña. Teresa Azcarretazabal González-Ontaneda**, médica adjunta del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Sierrallana de Torrelavega, por su ayuda desinteresada en la búsqueda del material histológico, sin el cual habría sido imposible una parte importante de este trabajo.

Al **Dr. D. Alfredo Ingelmo Setién**, Jefe del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Sierrallana de Torrelavega, por la oportunidad que me ha ofrecido de desarrollar mis inquietudes profesionales y estimar la valía de esta profesión.

A **Dña. Saray Pereda Marcos**, técnico de laboratorio del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Marqués de Valdecilla” de Santander, por su amabilidad y desinteresada ayuda en el inicio de mi andadura.

A **mis padres**, por enseñarme el valor del trabajo personal, su apoyo incondicional y esfuerzo para permitir que todas mis aspiraciones pudieran hacerse realidad.

Y, por supuesto, a **Vicky**, mi compañera y esposa, por su apoyo y comprensión en tantos proyectos y momentos difíciles que han puesto a prueba su amor; demostrándome la importancia de las decisiones para ser feliz.

ÍNDICE

ÍNDICE	13
RESUMEN	19
INTRODUCCIÓN	23
1.- Cáncer de colon	25
1.1.- Epidemiología del cáncer colorrectal	25
1.2.- Estadaje, tratamiento y pronóstico actual	28
1.3.- Marcadores tradicionales de recurrencia	31
1.3.1.- Mediadores clínicos	31
1.3.2.- Mediadores histopatológicos	33
1.3.3.- Mediadores moleculares	37
2.- Carcinomatosis peritoneal de origen colónico	38
2.1.- Recuerdo anatómico y fisiológico de la membrana peritoneal	38
2.2.- Concepto y fisiopatología peritoneal de la dinámica de fluidos	41
2.3.- Diagnóstico y cuantificación de la enfermedad carcinomatosa	44
2.4.- Tratamiento y supervivencia de la carcinomatosis peritoneal	48
3.- Biomarcadores de riesgo en carcinomatosis colónica	50
3.1.- Nuevas perspectivas de abordaje: concepto de “Carcinoprofilaxis” ..	50
3.2.- Marcadores de riesgo clínico en recurrencia carcinomatosa	52
3.3.- Fundamentos biológicos de la diseminación peritoneal	59
3.3.1.- Polaridad de la célula epitelial	59
3.3.2.- Transición de epitelio a mesénquima	61
3.3.3.- Etapas moleculares asociadas al proceso de implantación	64
3.4.- Prototipos de biomarcador carcinomatoso	68
3.4.1.- c-MET	68
3.4.2.- IGF-1	71
3.5.- Nuevos aspirantes a biomarcador carcinomatoso	74
3.5.1.- Plexina β_1	74
3.5.2.- Colágeno $XI\alpha_1$	78
3.6.- Escalas de riesgo de recurrencia y aportación pronóstica	80

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	83
MATERIAL Y MÉTODOS	87
1.- Selección de la población a estudio	89
2.- Recogida de información	90
3.- Descripción de las variables analizadas	91
3.1.- Variables relacionadas con la filiación y antecedentes	91
3.2.- Variables relacionadas con el diagnóstico	91
3.3.- Variables relacionadas con la cirugía y el postoperatorio	92
3.4.- Variables relacionadas con la histopatología.....	93
3.5.- Variables relacionadas con el seguimiento oncológico	94
3.6.- Variables relacionadas con el estudio inmunohistoquímico	94
4.-Selección de los factores de riesgo	95
5.- Categorización de los pacientes para inmunohistoquímica	97
6.- Técnicas inmunohistoquímicas	97
6.1.- Descripción técnica	98
6.2.- Cuantificación de la inmunotinción	99
7.- Análisis bioestadístico	99
RESULTADOS	101
1.- Análisis descriptivo de la población estudiada	103
1.1.- Descripción de los pacientes	103
1.2.- Localización, tamaño y estadiaje tumoral	107
1.3.- Formas de recurrencia y tratamiento.....	110
1.4.- Estado actual y supervivencia	112
2.- Factores de riesgo inespecífico en recaída carcinomatosa	114
3.- Factores de riesgo específicos en recaída carcinomatosa	118
4.- Estudio inmunohistoquímico	124
4.1. c-Met	124
4.2. IGF-1	126
4.3. Plexina β_1	127

4.4. Colágeno X α_1	129
5.- Modelo predictivo de riesgo carcinomatoso	130
5.1.- Escala de riesgo clínico e histopatológico	130
5.2.- Aplicación inmunohistoquímica al modelo predictivo	133
DISCUSIÓN	135
1.- Coherencia de nuestra población.....	137
2.- Implicación de factores inespecíficos de riesgo carcinomatoso	139
3.- Concordancia de factores de riesgo carcinomatoso específicos ...	149
4.- Aplicación de biomarcadores inmunohistoquímicos en recaída	160
4.1.- Implicaciones del c-Met	160
4.2.- Implicaciones del IGF-1	161
4.3.- Implicaciones de la plexina β_1	163
4.4.- Implicaciones del colágeno X α_1	164
5.- Validación del modelo predictivo para recidiva carcinomatosa.....	166
CONCLUSIONES	175
BIBLIOGRAFÍA	179
ANEXOS	207
Anexo I.....	209
Anexo II.....	210
Anexo III.....	212

RESUMEN

El cáncer de colon supone un problema sanitario de primer orden en la cultura occidental por su elevada frecuencia poblacional y sus pobres expectativas en estadios avanzados a pesar de los avances terapéuticos. Más de la mitad de los pacientes podrían ser susceptibles de algún tipo de recurrencia a pesar de una colectomía con intención curativa, y un diagnóstico precoz de dicha recidiva podría establecer una mayor probabilidad de control de la enfermedad. La superficie peritoneal representa la segunda localización metastásica más frecuente en este cáncer.

La recurrencia carcinomatosa se produce mayoritariamente a lo largo del segundo año de una resección curativa. Su diagnóstico supone un verdadero desafío por la inespecificidad semiológica y la baja efectividad de los estudios complementarios, especialmente en las etapas iniciales; lo cual mantiene vigente la rentabilidad del “second-look” con posibilidad de tratamiento en el mismo tiempo quirúrgico.

La importancia del diagnóstico precoz de una carcinomatosis metacrónica radica en que el 25% de los pacientes presentarán el peritoneo como única localización de recidiva tumoral y el éxito de un tratamiento de rescate con intención curativa depende del grado de extensión de la enfermedad.

Por tanto, resulta evidente que el mayor beneficio terapéutico de la recidiva se obtiene cuando la diseminación peritoneal es mínima y el paciente se encuentra asintomático. No obstante, pensamos que la mejor aportación que se podría realizar a estos enfermos sería la identificación de factores de riesgo capaces de predecir la recurrencia carcinomatosa antes de que se produzca, como método para discriminar aquellos casos susceptibles de carcinoprofilaxis.

A lo largo de la literatura se han asociado diferentes factores epidemiológicos, clínicos, analíticos, quirúrgicos, histopatológicos e incluso moleculares y genéticos a la recurrencia peritoneal; pero las discrepancias entre los diferentes autores han impedido establecer un consenso sobre la implicación exacta de cada uno. Esta variabilidad ha dificultado el establecimiento de una asociación pronóstica entre los distintos factores que permita realizar una predicción individualizada de recaída peritoneal en estos pacientes hasta la fecha.

En el presente estudio analizamos una amplia selección de pacientes diagnosticados de cáncer colónico entre 1.995 y 2.007, procedentes de una sola área

geográfica y tratados con intención curativa por un mismo número reducido de cirujanos con el objetivo de elaborar un modelo matemático empírico capaz de predecir el riesgo de recaída peritoneal en este cáncer, basándonos en la valoración conjunta de los diferentes factores de riesgo propuestos en recurrencia colónica.

Adicionalmente, hemos incorporado una selección de biomarcadores moleculares que podrían tener alguna relación con las diferentes etapas de la diseminación carcinomatosa. En concreto, existe evidencia de que c-Met y el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-1) presentan asociación con la recaída peritoneal probablemente por implicación directa en la transición epitelio-mesénquima, durante las fases iniciales, y promoción de un ambiente angiogénico. El IGF-1 también contribuiría a dicha colonización mediante la acción de metaloproteasas y la modulación del sistema inmune.

De forma novedosa, hemos analizado las implicaciones de la plexina β_1 , al participar en cambios de la polaridad celular y en procesos de la respuesta inmune, inflamatoria y angiogénica; y del colágeno $XI\alpha_1$ como posible integrante de la remodelación de la matriz extracelular durante la invasión mesotelial.

El análisis de todos estos factores en nuestra población nos conduce a pensar que la recaída peritoneal por cáncer de colon podría estar directamente relacionada con variables de índole clínico como la existencia de una carcinomatosis peritoneal sincrónica al diagnóstico, una anemia preoperatoria y la determinación patológica del CEA sérico; e histopatológico como la infiltración de la serosa visceral o de órganos vecinos, el tamaño tumoral, la presencia de depósitos tumorales mesentéricos y la infiltración perineural.

Por otro lado, una inmunotinción positiva para c-Met, IGF-1 o plexina β_1 en el tumor primario está implicada en la recurrencia peritoneal. En cambio, la expresión del colágeno $XI\alpha_1$ parece ser un buen indicador de carcinoma infiltrante pero carece de valor en la predicción carcinomatosa. Es posible que los inmunomarcadores IGF-1 y plexina β_1 participen en el proceso de diseminación peritoneal mediante mecanismos de acción semejantes.

La asociación estadística de los factores clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos expuestos nos permite aventurar un modelo matemático de fácil aplicación en la práctica clínica diaria, capaz de determinar, con una elevada efectividad, el riesgo de recaída peritoneal en cáncer de colon.

Quizás un estudio prospectivo que complemente al actual nos ofrezca una información más exacta en la obtención de un modelo predictivo de riesgo universal cuya validación externa permita una orientación adecuada de estos pacientes.

INTRODUCCIÓN

1.- Cáncer de colon

1.1.- Epidemiología del cáncer colorrectal

El carcinoma colorrectal es el tumor maligno más frecuente en países occidentales cuando se considera globalmente pero representa el tercero en frecuencia después del carcinoma pulmonar y prostático en el hombre y el segundo después del mamario en la mujer. En la esfera del aparato digestivo, se trata de la neoproliferación que más muertes ocasiona, lo cual explica que sea un problema sanitario de primer orden.

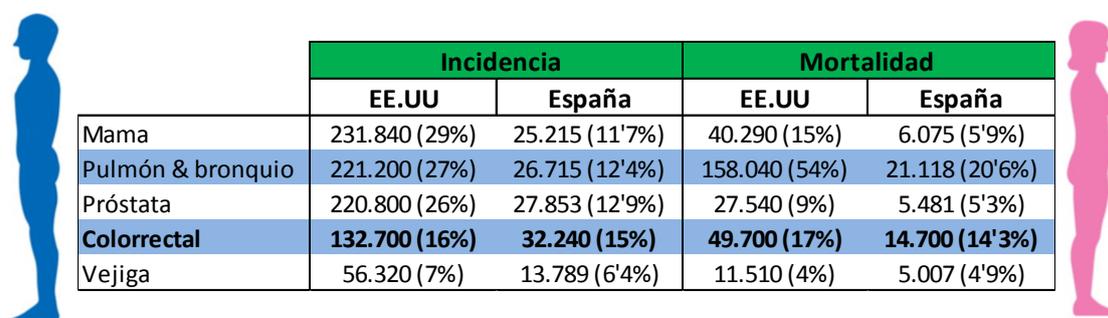
Las formas más habituales presentan una fuerte asociación entre múltiples factores ambientales y genéticos con una edad de presentación media de 70 años pudiéndose diferenciar fundamentalmente una variante esporádica ó no hereditaria (75-80% de casos) y otra genética asociada a antecedentes familiares (15-20%), síndrome de Lynch (5%) y poliposis adenomatosa familiar (<1%).

A nivel mundial, cada año desarrollan cáncer colorrectal más de un millón de personas y alrededor de unas 600.000 mueren por la enfermedad¹ a pesar de las mejoras en su diagnóstico y tratamiento, con tasas de curación del 60% cuando la enfermedad se limita a la pared intestinal.

Se considera que el 33% de los cánceres colorrectales avanzados se encuentran en el colon proximal y la invasión de estructuras adyacentes se suele

producir en el 10% de los pacientes lo cual se traduce en un riesgo relativo de morir por este cáncer 2'6 veces más alto.

En Estados Unidos la previsión diagnóstica de cáncer colorrectal para el año 2.015 supera los 130.000 casos nuevos y se aproxima a las 50.000 muertes anuales por la enfermedad. Si consideramos este país como modelo occidental por su volumen poblacional, desarrollo sanitario y diversidad racial, cuyo valor es extrapolable a la mayoría de países europeos; este tumor representaría la tercera neoproliferación más frecuente por estimación de nuevos casos y muertes esperadas por cáncer, lo cual supone casi el 10% de las muertes oncológicas del país². Se estima que uno de cada diecisiete habitantes de Estados Unidos padecerá cáncer colorrectal a lo largo de su vida.



	Incidencia		Mortalidad	
	EE.UU	España	EE.UU	España
Mama	231.840 (29%)	25.215 (11'7%)	40.290 (15%)	6.075 (5'9%)
Pulmón & bronquio	221.200 (27%)	26.715 (12'4%)	158.040 (54%)	21.118 (20'6%)
Próstata	220.800 (26%)	27.853 (12'9%)	27.540 (9%)	5.481 (5'3%)
Colorrectal	132.700 (16%)	32.240 (15%)	49.700 (17%)	14.700 (14'3%)
Vejiga	56.320 (7%)	13.789 (6'4%)	11.510 (4%)	5.007 (4'9%)

Figura 1. Incidencia y mortalidad de los cinco cánceres más frecuentes en Estados Unidos (EE.UU.) y España. Adaptado de Siegel R et al² y de la página web de la Sociedad Española de Oncología Médica (seom@seom.org).

En contraste, España aporta más de 30.000 casos nuevos anuales que equivale a unos 30-40 casos por 100.000 habitantes y supone el 10-15 % de todos los cánceres diagnosticados; representando la segunda causa de muerte después del cáncer pulmonar (figura 1). La población española presenta un riesgo medio individual del 3'5% de padecer cáncer colorrectal a lo largo de la vida, a diferencia de la población norteamericana con un riesgo del 6%³.

En nuestra comunidad, la incidencia anual informada por el Registro de Tumores de Cantabria⁴ para un periodo consolidado entre 1.997 y 2.008 parece mostrar una tendencia al aumento, similar a la documentada en otras comunidades con mayor registro histórico. En su conjunto, la incidencia ajustada global para el cáncer colo-rectal en dicho periodo se cifra en 30'1 casos / 100.000 habitantes considerando que el cáncer de colon mantuvo una proporción de 1'8:1 con respecto al rectal (figura 2).

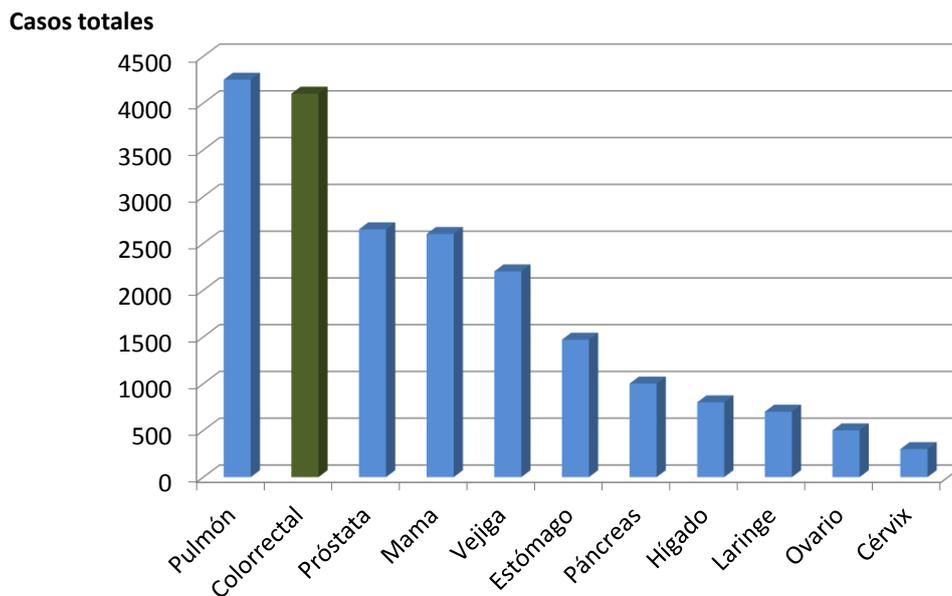


Figura 2. Incidencia relativa del cáncer en Cantabria según topografía entre 1.997 y 2.008. Adaptado del Programa de Detección Precoz del Cáncer Colorrectal en Cantabria⁴.

La incidencia nacional de cáncer colo-rectal ubica a nuestra provincia en el tercer lugar por detrás de Asturias y Canarias con respecto al mismo periodo de tiempo y excluyendo aquellos registros sin calidad avalada por la Agencia Internacional de Registro del Cáncer.

La distribución por edades mantiene homogeneidad en relación al conjunto nacional, resultando excepcional su diagnóstico antes de los 40-45 años y presentando un aumento progresivo con la edad, haciéndose más acusado a partir de los 60-65 años en el hombre y de los 70-75 años en la mujer.

La localización también conserva dicha uniformidad observándose más de la mitad de los cánceres entre el recto (22%), el colon sigmoides (20%) y la unión recto-sigma (14%). El resto de segmentos de colon no superó el 3% cada uno, salvo el colon ascendente (7%) y ciego (7%). No se registró la localización intestinal precisa en el 18% de los pacientes.

Desde un punto de vista histopatológico, la mayoría fueron adenocarcinomas, de los cuales el 47% estaban limitados a la pared intestinal (estadio I-II), el 16% presentaron afectación ganglionar (estadio III) y el 35% cursaron con metástasis a distancia (estadio IV). Sólo un 2% fueron diagnosticados “in situ”.

La tasa de mortalidad en su evolución fue de 29'8 casos / 100.000 habitantes con un índice mortalidad / incidencia del 47'9%, que traduce un diagnóstico tardío o una gran agresividad de la enfermedad. Esta valoración equivale al 11'6% del total de fallecimientos por cáncer y al 3'03% de la población fallecida en nuestra provincia.

En la actualidad, las campañas activas de screening poblacional persiguen una reducción de la mortalidad basándose en el diagnóstico precoz.

1.2.- Estadiaje, tratamiento y pronóstico actual

La estadificación del cáncer colorrectal responde a la necesidad clínica de discriminar grupos de pacientes según sus características histopatológicas con el objeto de establecer un pronóstico, seleccionar un tratamiento adecuado y determinar unos criterios uniformes que permitan comparar la evolución de los pacientes.

A lo largo de la historia se han utilizado diversas clasificaciones para este cáncer pero las dos que más han perdurado en el tiempo han sido la clasificación modificada de Astler-Coller con respecto a la estadificación inicial de Dukes de principios del siglo XX⁵ y el sistema de estadiaje TNM. Un análisis combinado de las mismas ha permitido correlacionar las formas de estadificación y una valoración pronóstica global en términos de supervivencia⁶.

En la actualidad, la clasificación TNM⁷ resulta más ventajosa que las anteriores al ofrecer más detalles sobre la extensión tumoral basándose en el grado de infiltración de la pared del intestinal (T), el nivel de afectación ganglionar (N) y la existencia de metástasis en otros órganos o estructuras (M), unificando todas las posibilidades de extensión tumoral en cinco grandes categorías o estadios que se subdividen en varias subcategorías. Al mismo tiempo permite una correlación entre la valoración clínico-radiológica prequirúrgica (cTNM), la influencia de un posible tratamiento neoadyuvante (yTNM), el estudio histopatológico postquirúrgico (pTNM) y la posibilidad de recurrencia después de un intervalo libre de enfermedad (rTNM).

La mayoría de los facultativos están familiarizados con estos sistemas pero en la práctica actual el estadiaje de Dukes y su modificación por Astler y Coller guardan una perspectiva más histórica mientras que la clasificación TNM parece haberse impuesto en la realización de ensayos clínicos y planificación de tratamientos por mantener una nomenclatura común a la mayoría de las estadificaciones oncológicas.

En el tratamiento clásico de este cáncer excepcionalmente tiene indicación la neoadyuvancia y la técnica quirúrgica difiere dependiendo del segmento afectado (figura 3)⁸. En todos los casos se deberá practicar al inicio una exploración de toda la cavidad abdominal para evaluar la extensión local y a distancia de la enfermedad, evitando perforaciones iatrogénicas del tumor aunque su manipulación, por sí misma, no guarda una relación evidente con el riesgo de diseminación (grado C de recomendación).

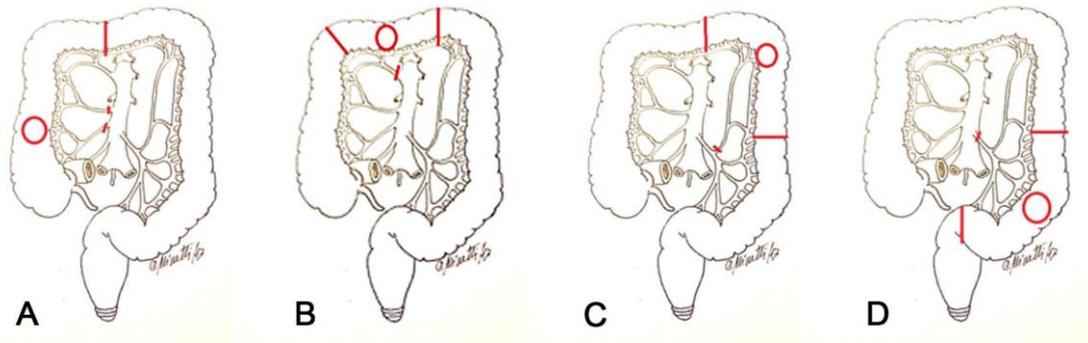


Figura 3. Representación esquemática de diferentes colectomías adaptadas a una linfadenectomía radical apropiada, dependiendo de la localización del tumor primario. A) Colon derecho, B) Colon trasverso, C) Ángulo esplénico y D) Sigma.

Las directrices quirúrgicas se rigen por una resección en bloque del tumor y los órganos adyacentes implicados (grado B) con un margen de seguridad superior a los 5 centímetros en sentido proximal y distal (grado D), y la inclusión del mesenterio adyacente al menos en diez centímetros desde el margen macroscópico del tumor, para incluir el aporte sanguíneo y drenaje linfático implicados en el mismo (grado C) desde su raíz vascular⁹.

El desarrollo de las técnicas laparoscópicas y las ventajas de este tipo de abordaje mínimamente invasivo ha permitido su estandarización con un nivel de evidencia A, siempre que se cumplan los criterios oncológicos de resección tumoral.

En términos generales, los resultados al tratamiento ofrecen una supervivencia media a los 5 años, con independencia del estadio, del 64%; aunque debemos considerar que la afectación ganglionar es determinante en este periodo ya que en tumores T₁₋₂ y T₃ sin infiltración ganglionar la supervivencia es del 90% y del 80%, respectivamente. En cambio, cuando existe metástasis ganglionar N₁ la supervivencia disminuye al 74% y al 51% en los casos N₂. Se debe considerar el análisis de al menos doce ganglios, como número de referencia en cuanto a pronóstico, especialmente si hubieran resultado negativos⁹.

La valoración por estadio ofrece una mayor simplicidad en términos absolutos de supervivencia, pudiéndose cifrar ésta a los 5 años en el 93'2, 82'5, 59'5 y 8'1% para los estadio I a IV, respectivamente (figura 4).

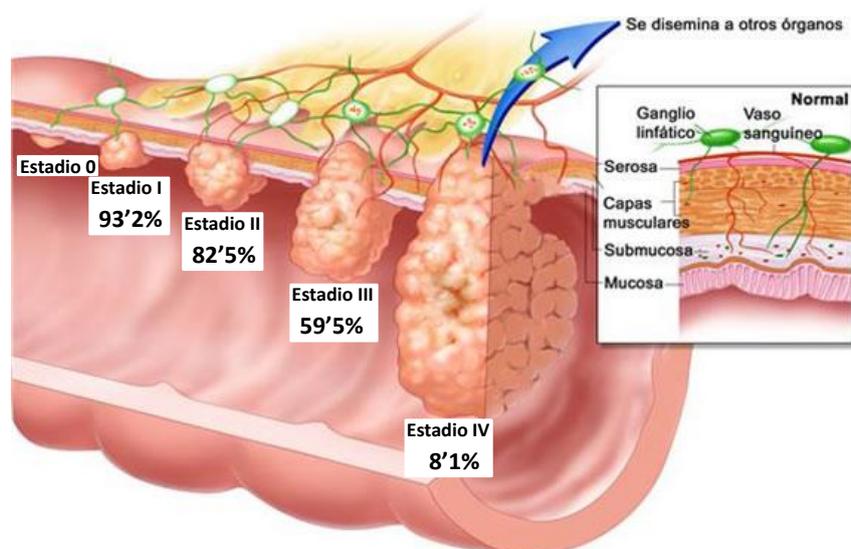


Figura 4. Vinculación del grado de infiltración parietal en relación con el estadiaje y supervivencia.

En los estadios 0 y I sólo se requiere un seguimiento postoperatorio, el estadio II carece de un patrón único pudiéndose plantear el seguimiento o la quimioterapia adyuvante sin criterios de unanimidad absoluta en términos de supervivencia aunque para algunos autores se podría obtener una mejoría del 3'6% a los cinco años en pacientes seleccionados. Por consenso se asume que la existencia de algún factor de mal pronóstico como la infiltración serosa (T_4), la escasa diferenciación celular (G_3), la obstrucción o perforación del tumor, el análisis de menos de doce adenopatías, la invasión vascular o perineural y un CEA preoperatorio elevado es indicación para dicha adyuvancia.

En cambio, en el estadio III está ampliamente demostrado el impacto positivo de la quimioterapia en la supervivencia. En los últimos años está adquiriendo relevancia el papel de la resección de todo el mesenterio del área cólica implicada en el tumor como índice de una correcta resección oncológica¹⁰ ya que podría suponer un 15% más de supervivencia global, habiéndose observado un impacto en la supervivencia del 27% para el estadio III de la enfermedad.

A pesar de la realización de una resección con intención curativa, se estima que entre el 25 y 50% de los pacientes presentarán una recidiva local o a distancia, y las posibilidades de un tratamiento efectivo son mayores cuanto más precoz es el diagnóstico. La mayoría de estas recurrencias se producen en los dos años siguientes a la resección quirúrgica aunque hasta el 30% de los pacientes sometidos a un tratamiento con intención curativa presentarán enfermedad metastásica en los cinco años siguientes. Las formas más frecuentes de recidiva se encuentran en el hígado

(30-70%), peritoneo (50%) pulmón (20-40%), hueso (5-10%) y con menos frecuencia en cerebro, glándulas suprarrenales y ovarios^{11, 12}.

A pesar de las modificaciones en el manejo de la enfermedad, ninguna de las clasificaciones propuestas hasta la actualidad presenta la capacidad suficiente para predecir su pronóstico de una manera efectiva, especialmente en los estadios intermedios, de tal suerte que en estos casos la evolución es bastante impredecible y los esquemas de tratamiento actual podrían precisar de modificaciones adaptadas a otros factores con mayor peso en el pronóstico del cáncer.

1.3.- Marcadores tradicionales de recurrencia

1.3.1.- Mediadores clínicos

A nivel clínico, se ha considerado que los siguientes factores podrían guardar una relación directa con la recidiva tumoral:

- Edad: La mayoría de los pacientes se diagnostican inicialmente después de los 60 años y sólo el 10% se diagnosticará por debajo de la cuarta década, a partir de la cual el riesgo de padecer este cáncer se incrementa¹³, presentando una fuerte asociación a partir de los 50 años. El diagnóstico con una edad inferior suele relacionarse con estadios más avanzados, una tasa de mortalidad perioperatoria baja y un pronóstico aparentemente mejor en comparación con el resto de la población¹⁴. No obstante, aunque la incidencia del cáncer y su recidiva se incrementan con la edad, el riesgo de recaída peritoneal podría decrecer progresivamente a partir de los 70 años, en el contexto de una menor actividad biológica.

- Sexo: La influencia hormonal, fundamentalmente por vía estrogénica, parece ser uno de los condicionantes en el riesgo de recurrencia. El efecto estrogénico podría presentar un efecto protector frente a la inestabilidad de microsatélites, lo cual explicaría que el antecedente de embarazo reduzca el riesgo mientras que la menopausia lo aumentaría. De igual forma, el uso de anticonceptivos orales o una terapia de reemplazo reducirían el riesgo de inestabilidad de microsatélites¹⁵.

- Síndrome metabólico: La hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo II, obesidad y alteraciones del perfil lipídico (hipertriglicerinemias, elevación de cLDL y niveles bajos de cHDL) constituyen la semiología del síndrome. El síndrome en su conjunto no parece tener un efecto aparente en este cáncer pero sus componentes por separado podrían guardar una relación dispar en su incidencia y pronóstico. Los dos primeros parecen guardar una estrecha relación con un mayor riesgo de recurrencia mientras que la dislipemia y su tratamiento con estatinas podrían presentar un efecto aparentemente protector sobre este cáncer¹⁶. La obesidad mantiene un riesgo paralelo

con la diabetes mellitus aunque el mecanismo asociado al cáncer colorrectal podría estar más relacionado con las alteraciones metabólicas derivadas de la hiperinsulinemia.

- Antecedentes familiares de cáncer de colon: Existen factores familiares y hereditarios asociados al cáncer colorrectal en el 25% de los casos. El riesgo de padecerlo se duplica o triplica en familiares de primer grado, siendo más elevado cuanto más joven fuera el familiar afectado en el momento del diagnóstico (figura 5), y casi se cuadruplica cuando existen dos o más familiares de primer grado afectados. Este hecho sugiere una predisposición genética¹⁷ que también podría influir en un mayor riesgo de recidiva.

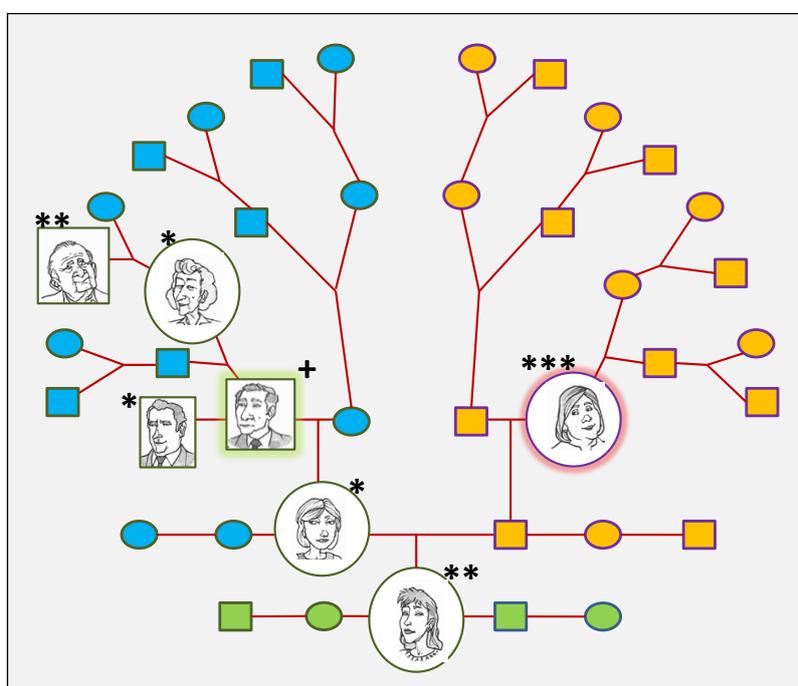


Figura 5. Árbol genealógico con representación física de los miembros asociados al cáncer de colon (*paciente de riesgo). Los antecedentes en padres e hijos (*familiares de 1º grado) aumenta el riesgo de padecerlo en dos o tres veces, mientras que en abuelos, hermanos y nietos (**familiares de 2º grado) el riesgo es sólo un 25-50% mayor que el estimado para la población promedio.

***La incidencia de un nuevo cáncer de colon, una vez superada la enfermedad, alcanza un 6% en ausencia de historia familiar.

- Diagnóstico previo de cáncer de colon: Estos pacientes presentan mayor riesgo de padecer un cáncer metacrónico. Alrededor del 40% de las variantes esporádicas desarrollarán pólipos metacrónicos y el 6% sufrirán un segundo cáncer durante el seguimiento¹⁸.

- Sintomatología: La obstrucción y la perforación han constituido clásicamente signos asociados a mal pronóstico al representar enfermedad avanzada. La

implicación inmunológica y la posible traslocación de gérmenes y células han sido implicados como condicionantes de recidiva. Algunos estudios¹⁹ relacionan la obstrucción intestinal con una reducción de la supervivencia libre de enfermedad a los 5 años pero sin influencia significativa sobre la supervivencia global. Su asociación a la recaída peritoneal es dudosa. La perforación de colon presenta peor pronóstico y una mayor relación con la carcinomatosis, aunque se cree que la perforación local o a distancia del tumor primario podría influir de diferente forma²⁰.

- Recuento linfocitario en sangre periférica: La presencia de linfocitos T específicos de tumor en sangre periférica e infiltrando el tejido tumoral podría correlacionar el sistema inmunológico con las células tumorales. Su fisiopatología se basaría en la estimulación linfocitaria por antígenos de superficie de las células tumorales con el fin de eliminarlas pero se desconoce el motivo exacto por el que fracasa su función hasta derivar en un estado de inmunodeficiencia incapaz de controlar la diseminación del tumor.

Diversos autores^{21, 22} han relacionado la probabilidad de recurrencia con la inflamación sistémica inducida por el propio tumor mediante la relación entre neutrófilos y linfocitos en sangre periférica, estableciendo que un cociente igual o superior a cinco resulta predictor de recurrencia y peor pronóstico. Este concepto se ha extendido a otras formas neoproliferativas con el mismo significado.

- Transfusión perioperatoria: Se estima que una anemia inferior a 10 gramos de hemoglobina/dL supone un alto riesgo de precisar una transfusión perioperatoria al tiempo que parece existir una correlación entre la transfusión sanguínea y un efecto inmunosupresor de la misma mediado por linfocitos CD₃⁺ y monocitos²³⁻²⁵. Este motivo explica que la transfusión perioperatoria se asocie con un riesgo moderado de recurrencia para el cáncer colorrectal^{20, 26}.

- Factores técnicos inherentes a la propia resección: Un acceso quirúrgico dificultoso por la localización del tumor, especialmente cuando se encuentra implicado el ángulo esplénico o la cavidad pélvica, una incorrecta manipulación tumoral que favorece la diseminación celular o unos márgenes de resección insuficientes podrían contribuir en el riesgo de recurrencia.

1.3.2.- Mediadores histopatológicos

Desde un punto de vista histopatológico algunos de los factores con valor pronóstico y fácilmente evaluables en este tipo de cáncer son:

- Nivel de infiltración de la pared cólica: Se expresa mediante el signo "T" en el sistema de estadificación TNM. Supone un factor pronóstico importante capaz de

predecir la recaída y supervivencia de la enfermedad, categorizando mayor riesgo de recidiva cuanto mayor es la profundidad de la infiltración. Adicionalmente, el riesgo de recidiva local y carcinomatosa se encuentra claramente aumentado cuando el tumor ha sobrepasado la muscular propia (T₃)⁸.

- Grado tumoral²⁷: Indica el grado de diferenciación de la célula tumoral y su participación en la formación de estructuras glandulares en comparación con el tejido colónico normal (figura 6). El pronóstico resulta más pobre cuanto más indiferenciado sea el tumor y representa un indicador independiente de recurrencia²⁸. Atendiendo a la diferenciación, el tumor se puede dividir en:

- Bajo grado:
 - a) Bien diferenciado (grado 1): >75% de estructuras glandulares.
 - b) Moderadamente diferenciado (grado 2): 50 - 75% de estructuras glandulares.
- Alto grado:
 - a) Pobremente diferenciado (grado 3): 25 - 50% de estructuras glandulares.
 - b) Indiferenciado (grado 4): <25% de estructuras glandulares.

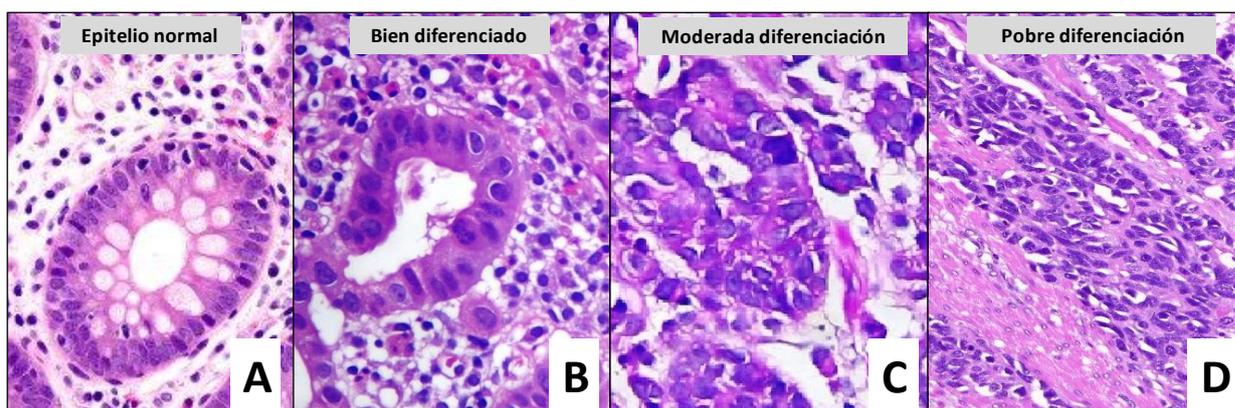


Figura 6. Comparación histopatológica mediante tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E) entre el epitelio sano y los grados de diferenciación celular más habituales en cáncer de colon. A) Epitelio normal en una cripta de Lieberkühn. B) Epitelio bien definido con rasgos malignos. C) Se identifica el epitelio aunque desestructurado por la neoproliferación celular. D) Desestructuración completa del tejido epitelial por células malignas.

- Invasión venosa y linfática²⁹: La afectación vascular suele ser mayoritariamente venosa asociándose a mayor riesgo de metástasis cuando es extramural. La extensión por vía linfática guarda una relación directa con el número de adenopatías positivas.

La afectación ganglionar ha sido considerada un factor de riesgo independiente de recurrencia en este cáncer por lo que se consideró la linfadenectomía radical hasta la raíz vascular del segmento colónico afectado como el tratamiento quirúrgico correcto de la enfermedad por cuanto que se podía realizar un análisis ganglionar

completo y se potenciaba una mayor supervivencia. En la actualidad, este concepto tiene su traducción clínica en el número de ganglios aislados aconsejándose un mínimo de 12 a 15 nódulos para poder aventurar un pronóstico y estadiaje más exacto, ya que la infiltración ganglionar se considera factor pronóstico independiente en este cáncer³⁰. Esta disquisición resulta especialmente crítica en el estadio II donde un aislamiento inferior a 12 adenopatías suele reflejar un pronóstico similar al estadio III³¹, que le convertiría en candidato a adyuvancia.

La infiltración de vasos sanguíneos y vías linfáticas por células tumorales han sido descritas como factores de mal pronóstico aunque el riesgo de metástasis a distancia es mayor en presencia de invasión vascular, independientemente de la afectación ganglionar³², lo cual confiere una mayor agresividad a este factor.

- Infiltración perineural³³: Consiste en la infiltración de la cubierta de los nervios ó perineuro por células tumorales. Su identificación también se ha asociado a un mal pronóstico al presentar mayor riesgo de enfermedad metastásica y recurrencia.

- Tipo histológico: El tumor puede clasificarse según el tipo de célula epitelial que lo constituye. Las tres variantes con peor pronóstico según la OMS³⁴ son los tumores con células en anillo de sello, los mucinosos y los carcinomas de células pequeñas.

- Configuración del borde tumoral: Este concepto hace referencia a la frontera de crecimiento del tumor. Se puede dividir en un patrón de crecimiento infiltrativo ó irregular que es indicativo de mal pronóstico asociándose a infiltración perineural y metástasis a distancia; expansivo que hace referencia a un crecimiento por empuje relacionándose con un mejor pronóstico; y mixto.

- "Budding": Es una desdiferenciación focal en las zonas periféricas del tumor. Una elevada focalidad se asocia a estadios tumorales avanzados. Predice metástasis ganglionares y es un factor de riesgo de recurrencia y mortalidad oncológica³⁵. También se ha descrito que puede ser un indicador de respuesta a nuevos tratamientos, como el Cetuximab o el Panitumumab, en enfermedad metastásica, compitiendo con algunos marcadores moleculares como el K-ras de tal manera que un alto grado de "budding" tumoral sería indicativo de falta de respuesta al tratamiento³⁶.

Algunos estudios correlacionan el grado de "budding" tumoral con la expresión c-Met³⁷, como integrante de la tumorigénesis del cáncer de colon, de tal suerte que una desdiferenciación elevada en el frente de invasión se traduciría en un incremento de c-Met y reflejaría una menor supervivencia libre de enfermedad.

- Infiltración linfocitaria peritumoral: La inflamación y la inmunidad comparten elementos comunes pero presentan un comportamiento diferente frente al cáncer. Las células tumorales favorecen el influjo de células inflamatorias que inducen alteraciones

del estroma y una proliferación celular desmedida por inestabilidad genética, a partir de la cual se iniciarán las diferentes vías de la carcinogénesis³⁸. En este sentido, un exceso de inflamación peritumoral podría considerarse un factor de mal pronóstico.

No obstante, mientras un gran número de células inflamatorias favorece la progresión del cáncer, la presencia de células inmunes podría ser indicativa de una respuesta del huésped frente al cáncer. Los linfocitos T de memoria (CD4⁺), citotóxicos (CD8⁺), natural killer y macrófagos representan la población más implicada en este aspecto^{29, 39}. Su presencia parece guardar una relación inversa con la infiltración linfocítica y perineural⁴⁰. Un déficit en la respuesta inmunitaria antitumoral ocasionaría la selección de clones de células tumorales con capacidad de crecimiento y metástasis.

Así, la infiltración de linfocitos T puede observarse dentro de los nidos de células tumorales, en el estroma tumoral, a lo largo del margen invasivo del tumor y en los ganglios linfáticos regionales como indicador de buen pronóstico. De igual forma, la abundancia de linfocitos T intratumorales se asocia a inestabilidad de microsatélites, que es más característico de tumores con un gran componente inmunógeno, y consecuentemente con mejor pronóstico⁴¹.

Por tanto, algunas características inmunológicas como la densidad, tipo y localización de las células inmunes en el tumor podrían ser mejores predictores de recidiva y supervivencia que los rasgos histopatológicos analizados tradicionalmente para este cáncer^{40, 42}.

Recientemente se está poniendo el acento en nuevos fármacos que modulando la respuesta inmune (inmunoterapia) persiguen la eliminación de señales inhibitoras del efecto antitumoral de los linfocitos T.

- **Fibrosis del estroma tumoral**: se ha relacionado con una mayor incidencia de metástasis a distancia⁴³ asociándose a mala evolución de la enfermedad por efecto de una disminución de la reacción inmune local, hasta el punto de que la fibrosis estromal y la metástasis ganglionar son consideradas factores pronósticos independientes para las metástasis hepáticas.

Este factor podría considerarse la evolución oncológica a una inflamación mantenida en el contexto de un proceso tumoral con escasa o nula respuesta inmune.

1.3.3.- *Mediadores moleculares*

Se han propuesto multitud de marcadores moleculares con valor pronóstico pero su utilidad clínica resulta muy limitada por contradicciones entre estudios, series prospectivas con tamaño muestral escaso para validar su inclusión en la práctica rutinaria o la falta de consenso sobre su técnica de medición en el contexto de una enfermedad heterogénea como el cáncer. El desarrollo y accesibilidad clínica a técnicas modernas está fomentando la elaboración de estudios en busca de nuevos marcadores pronósticos específicos para este cáncer, aunque las directrices clínicas actuales presentan todavía una escasa aportación desde un punto de vista práctico:

- Marcadores tumorales séricos y tisulares: El antígeno carcinoembrionario (CEA) que es una glicoproteína no específica expresada en el 90% de los tumores colorrectales aunque también puede encontrarse concentraciones séricas altas en otros tumores, fumadores, cirrosis, pancreatitis, colitis ulcerosa o úlcera péptica. La presencia de niveles preoperatorios elevados (> 5 ng/ml) de este marcador confieren una menor probabilidad de supervivencia libre de enfermedad a los cinco años y niveles por encima de 15 ng/ml pueden ser indicativos de metástasis ocultas⁴⁴, con una sensibilidad del 60 al 95% para niveles preoperatorios elevados y una resección radical.

Es una proteína que tiende a normalizarse después de la resección quirúrgica al tiempo que se eleva a medida que avanza el estadio de la enfermedad. Por ello, se podría decir que tiene un valor contrastado como factor pronóstico prequirúrgico, en la evolución de la enfermedad después de la resección quirúrgica y como factor predictivo en aquellos casos que reciben quimioterapia paliativa⁴⁵.

De hecho, supone el estudio diagnóstico con mayor relación coste-efectividad para detectar recurrencias potencialmente curables⁴⁶, ya que un incremento leve de sus niveles podría indicar una recidiva local pero una elevación rápida parece sugerir una amplia diseminación de la enfermedad.

La utilidad de otros marcadores como el antígeno carbohidrato (Ca19.9) no ha sido contrastada con claridad.

- Inestabilidad del genoma: Existen diversas vías genéticas caracterizadas por mutaciones específicas que pueden predecir el comportamiento pronóstico del cáncer. La vía de inestabilidad cromosómica, por acúmulo de genes supresores desactivados o protooncogenes anormalmente activos, es responsable del 80% de los carcinomas. Presenta mutaciones características del gen *APC*, *p53* y *K-ras*, aneuploidia o pérdida alélica del cromosoma 18q, que muy probablemente contribuirán al riesgo de recaída posterior.

En esta vía ha logrado relevancia el gen *APC*, presente en prácticamente todos los pacientes con poliposis adenomatosa familiar como piedra angular en el desarrollo del cáncer, y la mutación en genes de la familia Ras. La activación de esta proteína de membrana con actividad GTPasa provoca una cascada de señales que regulan aspectos de la biología celular tan importantes como la proliferación, la diferenciación o la apoptosis. En la práctica su valoración resulta de utilidad en pacientes con estadio III ya que se pueden beneficiar de una quimioterapia adyuvante cuando la mutación no implica un cambio de Glicina por Aspártico⁴⁷, aunque en la actualidad se está utilizando como marcador predictivo de respuesta a fármacos específicos dirigidos contra receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) responsables de la angiogénesis y otros efectos pro-oncogénicos. El análisis de otros biomarcadores selectivos como las mutaciones en el gen *B-raf* podrían ser indicadores válidos de respuesta a tratamientos específicos y pronóstico de la enfermedad.

Las mutaciones de *K-ras* se pueden observar en el 40% de los cánceres de colon aproximadamente. La existencia de mutación en el gen que codifica esta proteína se relaciona con una escasa probabilidad de beneficio a terapias específicas con anticuerpos anti-EGFR⁴⁸.

La vía de la inestabilidad de microsatélites⁴⁹ se debe a una deficiencia en la expresión de las proteínas reparadoras del ADN lo cual conduce a errores en su replicación. Se observa en la mayoría de los cánceres no polipósicos hereditarios y en el 15% de los cánceres de colon esporádicos. Esta vía genética se asocia generalmente a tumores proximales al ángulo esplénico, una menor sensibilidad al 5-fluorouracilo y tiene mejor pronóstico que los asociados a la ruta anterior.

2.- Carcinomatosis peritoneal de origen colónico

2.1.- Recuerdo anatómico y fisiológico de la membrana peritoneal

El desarrollo embriológico del peritoneo se inicia al final de la tercera semana de la gestación. Al final del proceso, los órganos digestivos aparecerán rodeados de una membrana que protegerá tanto a las vísceras como al mesenterio, por el que discurre la circulación sanguínea, linfática y nerviosa.

El peritoneo, de origen mesodérmico, presenta un espesor total de 90 μ y su superficie oscila entre 1 y 2 m². Puede ser visceral, si recubre los órganos abdominales, y parietal, que tapiza la pared abdominal, pelvis y diafragma.

Funcionalmente, la cavidad abdominal se divide en regiones anatómicas por efecto de los ligamentos de anclaje visceral y ejes mesentéricos, que condicionarán un

circuito de circulación peritoneal cuya comprensión explica una de las vías de propagación de infecciones y células malignas libres.

En condiciones normales, las células mesoteliales del peritoneo excretan unos 100 ml diarios de un líquido seroso estéril cuya función básica es la reducción de la fricción entre las vísceras y la pared abdominal, para después ser absorbido rápidamente por la amplia superficie peritoneal hacia los vasos linfáticos y de éstos hacia la circulación general por vía portal^{50, 51}. Por otro lado, el peritoneo también participa en la defensa frente a infecciones intrabdominales y como primera línea de contención a la implantación y progresión tumoral.

Fisiológicamente, la cavidad peritoneal debe entenderse como un sistema tricompartmental (figura 7) constituido por mesotelio, compartimento vascular y linfático; que interaccionan entre sí.

El mesotelio está formado por células planas en su mayor parte, con microvellosidades de superficie, que alternan con células cuboidales secretoras de un líquido seroso rico en glicosaminoglicanos y surfactante, que permite dicho deslizamiento entre el peritoneo visceral y parietal sin fricción; y sintetizan mediadores inflamatorios de respuesta a la agresión celular.

Estas células asientan sobre una membrana basal y una capa de tejido conectivo de espesor variable según la región anatómica, que alberga células intersticiales, vasos linfáticos y sanguíneos⁵²; y pueden responder a estímulos del microambiente al tiempo de poder realizar un transporte activo de partículas, fluidos y células.

Las células mesoteliales también pueden establecer comunicaciones entre la superficie peritoneal y el espacio subperitoneal a través de estructuras de 3 a 12 μm llamadas "stomatas", que se encuentran preferentemente en las zonas peritoneales con más afluencia de células cuboidales. Resulta reseñable su importancia a nivel diafragmático ya que permiten la absorción de la mayor parte del fluido peritoneal desde la cavidad abdominal a los linfáticos diafragmáticos subendoteliales.

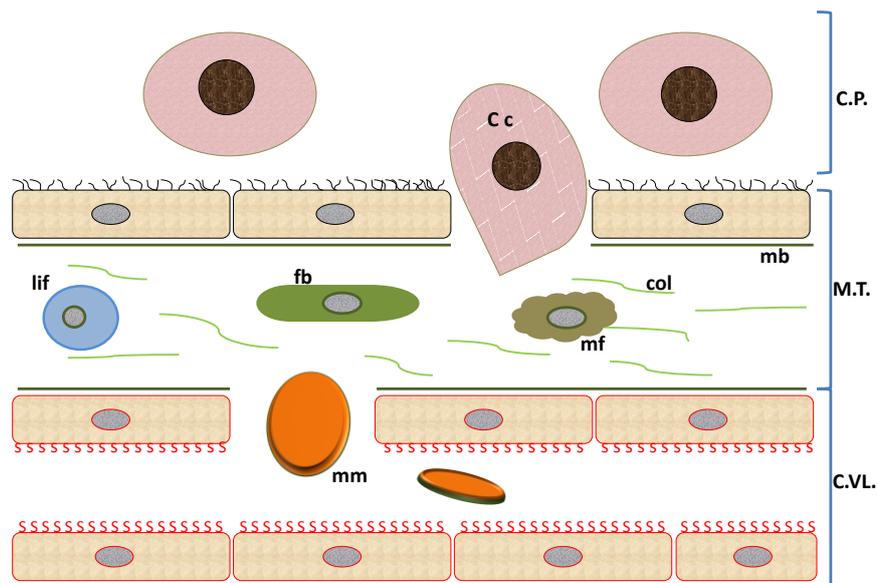


Figura 7. Representación esquemática del sistema compartimental peritoneal. El mesotelio (M.T.), constituido por un epitelio simple, descansa sobre una membrana basal (mb) y un espacio submesotelial con fibroblastos (fb), colágeno (col), macrófagos (mf), linfocitos (lif),... El compartimento vasculo-linfático (C.VL.) con una permeabilidad variable permite el paso de macromoléculas (mm) y células desde el intersticio y la circulación general. Las células tumorales (Cc) de la cavidad peritoneal (C.P.) requieren la implantación mesotelial y superar la barrera peritoneo-plasmática antes de generar una afectación sistémica.

El compartimento vascular está formado por una red capilar cuyo endotelio se encuentra cubierto por una capa de glicoproteínas que se comportan como una barrera de protección que sólo permite el paso de moléculas pequeñas desde la luz capilar al intersticio, de forma que la lesión de esta capa condiciona un aumento de la permeabilidad permitiendo la fuga de moléculas mayores.

Esta red de capilares submesoteliales y su intersticio son el principal mecanismo de la barrera peritoneo-plasmática, seguido del mesotelio peritoneal.

El compartimento linfático está organizado como una red de capilares linfáticos submesoteliales, formados por un endotelio y una membrana basal discontinua, que drenan fluidos, macromoléculas y células a vasos linfáticos de mayor calibre.

La formación de linfa podría explicarse a través de dos mecanismos: Por un lado, la presión intersticial negativa en contraste con la presión intrabdominal positiva y, por otro, la mayor concentración de proteínas a nivel de los vasos linfáticos que condicionaría un incremento de la presión oncótica a este nivel con el arrastre subsiguiente de líquidos y moléculas desde la cavidad peritoneal a la red capilar linfática.

2.2.- Concepto histórico y fisiopatología peritoneal de la dinámica de fluidos

La carcinomatosis peritoneal se puede definir como toda aquella diseminación tumoral, de forma localizada o masiva, que afecta a la serosa peritoneal y estructuras anatómicas vecinas. Este concepto incluye tanto la enfermedad peritoneal maligna primaria como secundaria por la diseminación de otros tumores intra y extrabdominales.

La primera descripción como diseminación regional de una enfermedad maligna se debe a John A. Sampson⁵³ en 1.931 a partir de sus estudios en un modelo de carcinomatosis secundaria a un carcinoma epitelial de ovario. Su propuesta conceptual no fue aceptada por la comunidad científica del momento, motivando que se siguiera considerando como metastásica a distancia con rango de incurabilidad y tratada como terminal.

A finales de los años treinta, diferentes estudios comenzaron a valorar la utilidad de la quimioterapia intraoperatoria en la cavidad abdominal en procesos malignos del peritoneo sin aplicación conjunta de resecciones quirúrgicas. Los resultados fueron frustrantes debido a una efectividad limitada y un alto potencial de toxicidad sistémica^{54, 55}.

No obstante, la posibilidad de un tratamiento local efectivo no fue abandonada realizándose, en 1.979, la primera citorreducción extensa con quimioterapia hipertérmica intraperitoneal en un paciente diagnosticado de pseudomixoma peritoneal y antecedente de adenocarcinoma pancreático⁵⁶ a partir de la descripción del primer modelo farmacocinético de quimioterapia intraperitoneal ideado por R. Dedrick y el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos⁵⁷, según el cual esta vía de administración del citostático permitía exponer al tumor a concentraciones mucho mayores que las alcanzadas por vía sistémica.

En este contexto, Paul H. Sugarbaker desarrolló, en la década de los ochenta, la interpretación y tratamiento actual de la enfermedad quedando patente la necesidad de un manejo multidisciplinar de estos pacientes que favorezca el éxito de un tratamiento multimodal regional basado en una cirugía citorreductora máxima y la administración de quimioterapia intraperitoneal hipertérmica en pacientes seleccionados, con el objeto de controlar la enfermedad a partir de la limitación del cirujano con su técnica quirúrgica⁵⁸.

La recurrencia local y la carcinomatosis peritoneal se rigen por un mismo concepto fisiopatológico basado en la diseminación de células libres o pequeños nódulos tumorales por la superficie peritoneal. Cuando la densidad celular es baja existe una mayor facilidad para desplazarse e implantarse a cierta distancia del tumor

primario a modo de metástasis peritoneal siguiendo el movimiento del líquido peritoneal. Al contrario, una alta densidad celular parece tener más tendencia a asentar y crecer en el mismo lecho quirúrgico de resección.

La diseminación transcelómica de células tumorales malignas se basa en los principios de la dinámica fisiológica de flujos del líquido peritoneal, la fuerza de la gravedad y la capacidad de migración inherente a la propia célula tumoral libre.

La circulación del líquido peritoneal sigue el sentido de las agujas del reloj desde el flanco izquierdo hasta el espacio subdiafragmático derecho.

Su filtración a través del peritoneo está influenciada, de un lado, por la presión hidrostática intraperitoneal aunque procesos infecciosos o tumorales de la cavidad peritoneal podrían influir en el volumen de absorción o resorción; y de otro, por el movimiento intestinal y del diafragma.

Este último serviría de filtro para el líquido que alcanza esta región a partir de los poros ó “stomatas” del peritoneo de la cara abdominal diafragmática que comunicarían con los depósitos linfáticos intradiafragmáticos drenando linfa, por medio de vasos linfáticos pleurales, a ganglios linfáticos regionales y al conducto torácico⁵⁹.

El mecanismo de fuelle que utiliza el diafragma para esta función se basa en la relajación del mismo durante la espiración, que abre estos poros permitiendo que el líquido, moléculas y células pasen por efecto de la presión negativa intratorácica. A continuación, su contracción en la inspiración permitiría que el contenido endolinfático drene desde los conductos linfáticos pleurales y mediastínicos al conducto torácico. De esta forma, este patrón explica una de las vías de diseminación tumoral desde el abdomen al tórax.

Por su parte, el peritoneo del resto de la cavidad abdominal y los omentos utiliza también el efecto de la presión hidrostática intraperitoneal para facilitar la absorción del líquido peritoneal a través de los canales ó poros intercelulares. Esta vía de filtrado asume el 80% del volumen, con drenaje directo en la circulación portal.

La diseminación de células tumorales por la superficie peritoneal contribuiría al bloqueo de estos canales ó poros impidiendo el circuito de filtro del fluido peritoneal.

Este modelo de dinámica peritoneal de fluidos y el efecto gravitario explicaría porqué las localizaciones más frecuentes de implantes malignos peritoneales son el cuadrante inferior derecho, el diafragma derecho, el ligamento hepatoduodenal, el omento y la pelvis⁶⁰; aunque la posible existencia adicional de un filtro inmunológico en dichas localizaciones⁶¹, similar al tejido linfático de los órganos sólidos, podría contribuir también al atrapamiento de células tumorales.

El primer paso en la implantación peritoneal de células malignas desde cualquier tumor gastrointestinal primario se correlaciona con el propio fenotipo

tumoral⁶². En cánceres de bajo grado la diseminación podría responder a un fenómeno de hiperpresión tumoral, típico de tumores de crecimiento lento, como los mucinosos, lo cual permitiría que las células tumorales invadieran el peritoneo por ruptura tumoral. En cambio, los tumores de alto grado responderían a una invasión directa de las estructuras adyacentes, incluido el peritoneo, lo cual facilita su diseminación a distancia ya sea por vía linfática o hematológica.

En cualquier caso, la simple existencia de células tumorales libres flotando en la cavidad peritoneal no se correlaciona inexorablemente con la aparición de una carcinomatosis peritoneal, ya que se necesitarían una serie de fenómenos, que se comentarán posteriormente, para facilitar la implantación y crecimiento de dichas células⁶³. Además, el riesgo tumoral de diseminación hematológica o linfática tampoco guarda una relación directa con la existencia de una siembra peritoneal.

Por tanto, la implantación y proliferación celular en el peritoneo debe estar sujeta a características fenotípicas del propio cáncer, capaz de iniciar el proceso de colonización peritoneal, y una baja inmunogenicidad que permita escapar al sistema inmune del paciente para después inducir un crecimiento neovascular que facilite el aporte celular de nutrientes con el que asegurar su metastatización a distancia.

De forma complementaria, el epiplón mayor es otra de las principales dianas de implantación de células tumorales debido a su enorme superficie, la ausencia de mesotelio, la existencia de “milky spots”^{61, 64} a modo de órganos linfoides secundarios formados por macrófagos, linfocitos B y T con escasa respuesta inmune que tienden a atrapar moléculas y células sin discriminar entre sanas y tumorales; y su alta capacidad angiogénica que facilita un aporte rico de nutrientes para la neoproliferación celular. Su infiltración masiva se traduce en el aspecto clínico de tumoración sólida y pétreo denominada “omental cake” (figura 8).

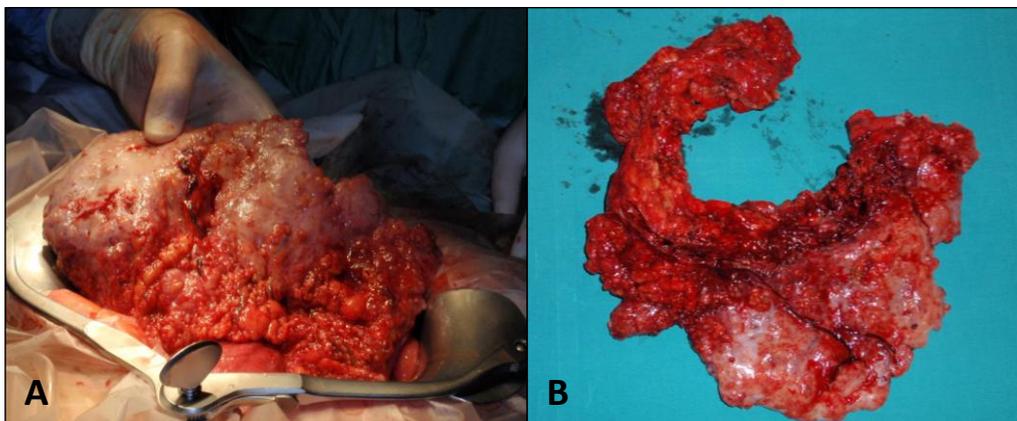


Figura 8. Expresión de la infiltración masiva del epiplón mayor a modo de “omental cake”. Detalle quirúrgico durante la exploración de la cavidad abdominal (A) y una vez finalizada la omentectomía mayor (B).

Algunos autores⁶⁵ han encontrado, a nivel experimental, una relación directamente proporcional entre la densidad de implantes tumorales y el número de estos curiosos complejos linfáticos, ya que esta función de almacén biológico cuenta con el apoyo de una concentración microvascular alrededor de los milky spots cuatro veces superior al resto del epiplon. Esta rica red vascular se debe a las células mesoteliales atrapadas en estos agregados inmunes⁶⁶ que, al ser sometidas a hipoxia por la densidad celular acumulada, sintetizan y liberan factores proangiogénicos, como el VEGF-A, que ayudarían a saciar la gran avidez de nutrientes de las células tumorales para su proliferación.

Ajeno a la evolución oncológica del tumor, la propia manipulación tumoral, ya sea quirúrgica, radiológica o percutánea, puede facilitar el desprendimiento de células a la cavidad peritoneal, promoviendo su diseminación y crecimiento posterior. A este respecto, un estudio citológico con determinación por PCR fue capaz de demostrar un viraje de citología negativa pre-resección a positiva post-resección en el 10% de casos de las series⁶⁷. Los factores que pueden contribuir en este tipo de recurrencia peritoneal están relacionados con las propiedades intrínsecas del tumor pero también con las circunstancias técnicas que rodearon la resección quirúrgica al promover la formación de santuarios de células neoplásicas descamadas en adherencias fibrosas de difícil acceso a los citostáticos, émbolos tumorales desde vasos sanguíneos y linfáticos seccionados a la cavidad peritoneal o la simple proliferación de células neoplásicas por efecto de factores de crecimiento involucrados en el proceso de cicatrización quirúrgica.

En cualquier caso, la simple respuesta inflamatoria secundaria al stress quirúrgico favorecería la implantación de células tumorales en el peritoneo y su interacción con la matriz extracelular, especialmente en ausencia de mesotelio por el acto quirúrgico, para consolidar el proceso de colonización mesotelial.

2.3.- Diagnóstico y cuantificación de la enfermedad carcinomatosa

La diseminación del cáncer colorrectal forma parte de la evolución natural de la enfermedad pudiendo llegar a afectar hasta la mitad de los pacientes. El peritoneo representa la segunda localización metastásica más frecuente después del hígado, y seguidas del pulmón, hueso y cerebro⁶⁸. El tiempo medio desde una resección curativa hasta el diagnóstico de una carcinomatosis metacrónica suele ser de 16 a 18 meses⁶⁹,
70.

En la actualidad, se estima que la superficie peritoneal se encuentra involucrada en el 8-15% de los pacientes al diagnóstico pero se desconoce la

incidencia exacta de la carcinomatosis peritoneal como forma de recurrencia de la enfermedad debido a que la semiología de carcinomatosis colónica resulta muy variable e inespecífica con respecto a otros procesos malignos del abdomen aunque, en presencia de ascitis, un estudio citológico puede resultar diagnóstico en la mitad de los casos.

En términos generales, se estima que la recurrencia peritoneal tiene lugar en el 50% de los pacientes sometidos a una cirugía con intención curativa aunque la incidencia de recurrencia peritoneal solitaria como única forma de extensión tumoral podría alcanzar el 20-25% de los enfermos⁷¹⁻⁷³ después de realizarles un amplio estudio de extensión. Otros autores^{70, 74} que abogan por el second-look en pacientes asintomáticos con factores de riesgo sitúan esta cifra en el 56-58% de los casos.

Este pequeño grupo podría ser un firme candidato a un rescate quirúrgico con intención curativa, máxime si consideramos que el 85% de los enfermos con carcinomatosis peritoneal de origen colorrectal fallecen por enfermedad confinada al abdomen en ausencia de tratamiento⁷⁵, y podría desdecir su asociación tradicional con un mal pronóstico por incurabilidad.

Los estudios analíticos y radiológicos presentan una dudosa efectividad durante el seguimiento postoperatorio llegando al diagnóstico sólo en el 40% de los casos.

Las modalidades de estudio no invasivo más utilizadas son la tomografía computerizada (TC), resonancia magnética nuclear (RMN) y PET-scan que presentan importantes limitaciones técnicas que redundan en la resolución de la imagen y una infravaloración diagnóstica en la mayoría de las ocasiones⁷⁶⁻⁸⁰.

En la actualidad, las guías de diagnóstico por imagen siguen las recomendaciones de la Conferencia de consenso de Milán de 2.006 donde se estableció unánimemente que la TC toracoabdominal multidetector realizada con contraste es el procedimiento de elección en el diagnóstico por imagen de estos pacientes⁸¹ (figura 9), considerando a la PET-scan y RMN como estudios útiles pero no fundamentales para perfilar una decisión terapéutica.

En cualquier caso, el diagnóstico por imagen no debería ceñirse a la simple confirmación de la enfermedad sino también ayudar a establecer una estrategia quirúrgica mediante la valoración del volumen de enfermedad peritoneal, su localización y distribución; y por ende la predicción de qué pacientes se podrían beneficiar de una citorreducción completa.

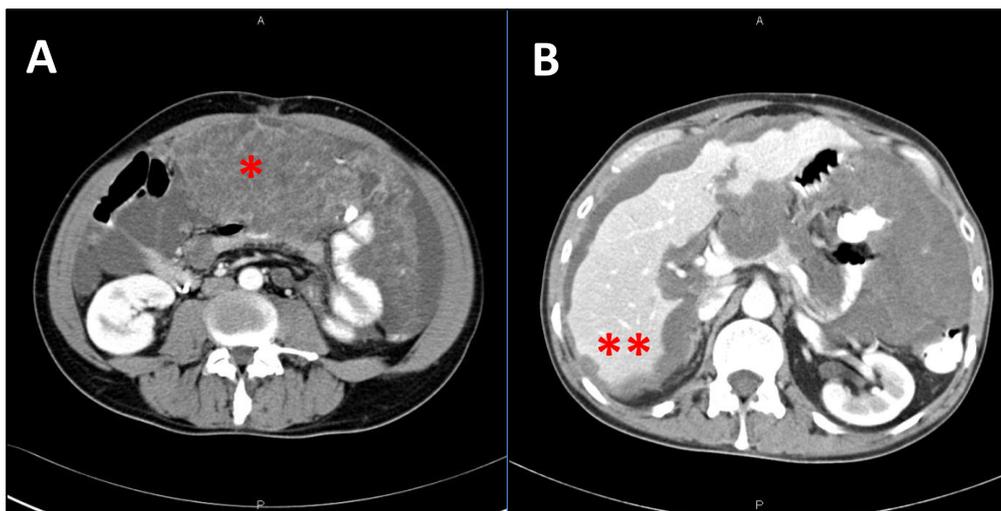


Figura 9. Estudio de TC mostrando una afectación del epiplón mayor a modo de coraza (A) y una deformidad hepática característica por efecto de la ascitis carcinomatosa y la implantación peritoneal (B).

Estas limitaciones pueden obligar a considerar otras alternativas diagnósticas. Existe rivalidad entre la laparoscopia y la laparotomía tradicional en el contexto de las ventajas de un procedimiento mínimamente agresivo que podría determinar las posibilidades técnicas de la cirugía radical al ofrecer una visualización directa de las lesiones y la realización de biopsias, pero no exento de dificultades técnicas que pueden limitar el acceso a todas las regiones anatómicas afectadas, especialmente en un abdomen ya intervenido, y su elevado coste económico.

La laparotomía exploradora mantiene su vigencia con una especial utilidad a modo de “second look” ya que supera con amplia diferencia a los estudios de imagen habituales al ser capaz de demostrar recidiva carcinomatosa en más del 50% de pacientes que durante el seguimiento postoperatorio no presentaban semiología clínica, analítica ni radiológica sospechosa⁷⁴. Este porcentaje se podría disparar al 98% cuando la laparotomía se justifica por una elevación del CEA o la presencia de síntomas sospechosos⁸².

De otro lado, se han propuesto diversas modificaciones a los sistemas de estadificación tradicional para el cáncer colorrectal ya que son poco explícitos en la información referente a la enfermedad metastásica extraganglionar, máxime si consideramos que su tratamiento y pronóstico puede ser diferente según la localización y extensión de la recurrencia.

En el caso de la carcinomatosis peritoneal, el pronóstico de estos pacientes está influenciado por la distribución y volumen de enfermedad así como por el grado de citorreducción conseguido.

La propuesta más simple de clasificación al diagnóstico como ausencia o presencia de metástasis peritoneal en el estudio por imagen ha sido mejorada por otros sistemas de estadificación de la diseminación peritoneal como:

La clasificación de Gilly⁸³ que valora el tamaño del implante tumoral y su distribución local o difusa convirtiendo a este sistema en un método fácilmente reproducible pero de escaso valor a la hora de predecir resecabilidad.

El índice de cáncer peritoneal (PCI)^{84, 85} expresa con más fiabilidad la extensión peritoneal al dividir la cavidad abdominal en 13 regiones con una puntuación de 0 a 3 por región dependiendo del tamaño y extensión de la enfermedad en cada una de ellas (figura 10). Tiene valor pronóstico por cuanto que mantiene correlación con la extensión real de la enfermedad, el grado de resecabilidad y la supervivencia. En un estudio francés⁸⁶ con 523 pacientes se objetivaron diferencias de supervivencia a los 5 años del 50% a inferiores del 10% según el PCI se encontrara por encima de 19 o inferior a 6.

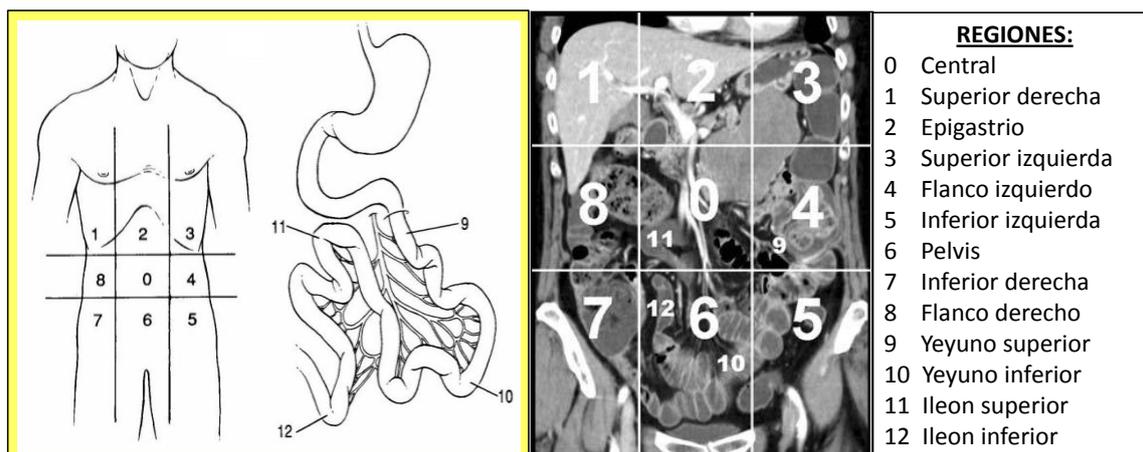


Figura 10. Representación de las regiones abdominopélvicas propuestas para evaluar el PCI y su correlación radiológica.

Otros métodos de cuantificación más sencillos como el índice peritoneal simplificado (SPCI) o la clasificación de Sheffield se basan en una simplificación del anterior pero cuentan con un escaso valor pronóstico y predictivo de la resecabilidad.

Las lagunas en la predicción evolutiva de la enfermedad con las clasificaciones tradicionales han motivado la realización de un gran número de estudios con el objeto de descubrir otros factores que aporten mayor precisión pronóstica. En líneas generales, estos factores pueden dividirse en: Marcadores pronósticos, si aportan información sobre la evolución del paciente con respecto a las características del cáncer, y predictivos, si indican el grado de respuesta del cáncer a un determinado tratamiento⁸⁷.

2.4.- Tratamiento y supervivencia de la carcinomatosis peritoneal colorrectal

Cuando el cáncer de colon se encuentra asociado a una carcinomatosis peritoneal, el tratamiento quirúrgico debe enfocarse más allá de la simple resección del tumor primario y vías de drenaje linfoscavular ya que el factor más importante en la respuesta a una quimioterapia posterior viene dado por la reducción máxima del volumen tumoral.

En la actualidad, la combinación de cirugía citorreductora, para controlar la enfermedad macroscópica, y quimioterapia intraperitoneal hipertérmica (HIPEC), para tratar la enfermedad microscópica, es la única estrategia terapéutica que ha demostrado curación en varios ensayos clínicos controlados y randomizados^{86, 88, 89}. La técnica fue descrita por Paul H. Sugarbaker en 1.985 de forma segura y reproducible. Su objetivo es lograr la ausencia de enfermedad residual siguiendo criterios de viabilidad funcional y calidad de vida.

Se considera que la causa de muerte del 30-50% de los pacientes con este cáncer suele deberse a la presencia de células neoplásicas en la cavidad peritoneal con lo que su control durante el acto quirúrgico representa una de las piezas angulares en el pronóstico de la enfermedad.

Este abordaje quirúrgico resulta complejo pero con una morbilidad asumible (16-65%) y una mortalidad mínima en grupos especializados⁹⁰. Las complicaciones quirúrgicas más graves son las fugas anastomóticas y la sepsis abdominal mientras que la toxicidad citostática suele ser de índole hematológico.

Los factores que parecen influir con carácter independiente en las complicaciones postoperatorias son la duración de la intervención, la extensión de la carcinomatosis, el número de anastomosis realizadas y una citorreducción incompleta.

La combinación del tratamiento quirúrgico y citostático parece permitir un mejor control de la enfermedad al conseguir concentraciones locales del citostático mayor que las aportadas exclusivamente por vía sistémica, reduciendo la concentración y toxicidad sistémica⁹¹, al tiempo que el calor favorece una mayor penetración peritoneal y tiene un efecto citotóxico que contribuye a mejorar el propio efecto antitumoral del citostático (figura 11).

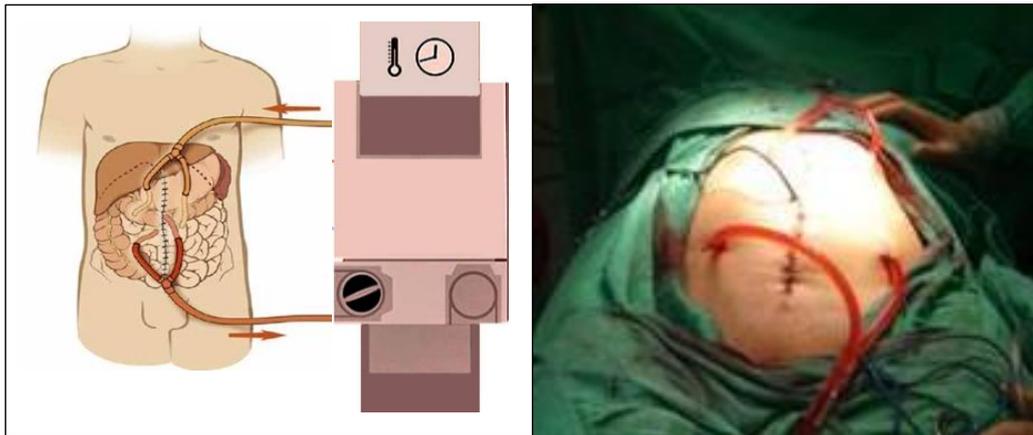


Figura 11. Representación del circuito para la administración de HIPEC y visión quirúrgica en un paciente. Su objetivo es la perfusión de citostáticos en la cavidad peritoneal controlando su temperatura, volumen, presión y velocidad de flujo.

En líneas generales, la carcinomatosis peritoneal de origen colónico se ha considerado una condición terminal de pronóstico infausto. Su respuesta a los protocolos de quimioterapia tradicional mediante 5-fluorouracilo y leucovorín ha sido muy pobre con una supervivencia media inferior a los 12 meses y los esquemas posteriores que incluyen irinotecan, oxaliplatino y agentes biológicos han conseguido una supervivencia de dos años, con una media alrededor del 15% en el mejor de los casos⁹²⁻⁹⁵ del estadio IV de la enfermedad.

En contraste, existe un número creciente de estudios que avalan mejores resultados cuando se realizaba este nuevo abordaje terapéutico multimodal basado en la cirugía citorreductora y HIPEC, en particular cuando la citorreducción es completa. Un estudio multicéntrico de cohortes retrospectivo con más de 500 pacientes sometidos a citorreducción y quimioterapia intraperitoneal con y sin hipertermia logró una supervivencia media de 30'1 meses con una supervivencia global a los 5 años del 27% y libre de enfermedad del 10%⁸⁶.

En análisis comparativos de pacientes con carcinomatosis peritoneal aislada tratados mediante esta estrategia o con quimioterapia sistémica exclusivamente se mantuvieron estos resultados con supervivencias medias de 35-63 y 17-24 meses, respectivamente^{96, 97}.

Otros estudios randomizados con un reclutamiento de pacientes significativo para este tratamiento combinado ha conseguido informar una supervivencia media del 45% a los 5 años con diferencias estadísticas con respecto al grupo control, y una supervivencia media de 41 meses^{86, 98}, estableciendo que el peor indicador de supervivencia y recurrencia parece ser la existencia de enfermedad macroscópica residual o un alto índice peritoneal en el momento de la intervención quirúrgica hasta

el punto de que un índice inferior a 7 podría preveer una supervivencia global a los cinco años del 49% y, en cambio, por encima de 20 sería inferior al 10% para el mismo periodo de tiempo⁹⁹.

Por otro lado, si comparamos los resultados de este tipo intervención quirúrgica combinada con respecto a la resección hepática por metástasis colorrectales, como tratamiento avalado de la enfermedad metastásica, no encontramos diferencias significativas entre ambos en términos de morbilidad, supervivencia global y supervivencia media a los 5 años¹⁰⁰, lo cual supone un indicador adicional de efectividad terapéutica.

En resumen, el tratamiento multimodal basado en citorreducción óptima y HIPEC parece demostrar que el tiempo de supervivencia para estos pacientes oscila entre 22 y 60'1 meses, con un nivel de evidencia 1b-2b; alcanzando, en centros de referencia, unas tasas de supervivencia a los 5 años del 51% en pacientes seleccionados, superiores a las comunicadas para las modernas líneas de quimioterapia sistémica con terapia biológica⁹⁶.

En el futuro inmediato se deberá dilucidar si estos beneficios del tratamiento quirúrgico combinado podrán ser superados con la ayuda de nuevas dianas terapéuticas o mejores propiedades farmacocinéticas a nivel peritoneal.

3.- Biomarcadores de riesgo en carcinomatosis colónica

3.1.- Nuevas perspectivas de abordaje: El concepto de "Carcinoprofilaxis"

Otra de las prioridades actuales en el abordaje de la carcinomatosis colorrectal es la profilaxis de la misma o bien su diagnóstico en las fases iniciales cuando la diseminación peritoneal es mínima y el paciente se encuentra asintomático.

Una revisión de publicaciones que versaron sobre el concepto tradicional de "second-look" para el cáncer de colon señaló que la siembra peritoneal inicial se encuentra confinada a la región del tumor primario para luego extenderse con rapidez por el resto de la cavidad abdominal y pelvis¹⁰¹. Esta apreciación sugiere la necesidad de encontrar aquellos factores de riesgo que hagan preveer la recidiva antes de que se produzca.

En la actualidad, el diagnóstico de carcinomatosis peritoneal en un estadio precoz, como recurrencia de un cáncer de colon, debe considerarse prácticamente un hallazgo casual ya que clínicamente el paciente suele encontrarse asintomático y la resolución de los estudios de imagen no es capaz de demostrar signos incipientes de la misma.

La controversia entre los factores de riesgo propuestos en la literatura impide establecer una propuesta de actuación universal. No obstante, se han desarrollado estudios en fase II que describen la superioridad de una estrategia activa ($p=0'0001$) con respecto a la actitud expectante tradicional¹⁰² en pacientes con cáncer de colon y factores de alto riesgo para recurrencia carcinomatosa, al observar una reducción de la recurrencia en peritoneo del 28 al 4% ($p<0'03$) y un aumento de la supervivencia global ($p<0'03$)¹⁰³.

Estos resultados parecen justificar la necesidad de una relaparotomía sistemática ó “second-look” en pacientes de alto riesgo como método más eficiente de diagnóstico y tratamiento en un solo tiempo^{104, 105}. Uno de los grupos con más experiencia en esta propuesta se encuentra en el Instituto Gustave Roussy de París¹⁰⁶, en cuyo protocolo se contempla la resección quirúrgica del tumor primario y la valoración de los factores de riesgo más asociados en la literatura a recurrencia carcinomatosa. Estos casos seguirán un tratamiento adyuvante durante 6 meses seguido de un “second-look” en busca de posibles recurrencias silentes; si el paciente ha permanecido asintomático, con marcadores tumorales normales y sin sospecha radiológica de recidiva.

Esta forma de prevenir la recurrencia ha supuesto la introducción del concepto de “carcinoprofilaxis” como forma de tratamiento intraperitoneal preventivo de una diseminación masiva. En estos casos, la consecución de una citorreducción completa seguida de HIPEC^{96, 107}, al igual que en la intervención inicial, sigue siendo el marcador pronóstico más importante.

Los resultados aportados por algunos equipos parecen avalar la difusión del “second-look” con posibilidad de cirugía citorreductora y quimioterapia hipertérmica como procedimiento sistemático en pacientes de alto riesgo al amparo de una morbimortalidad aceptable en centros con experiencia, y una supervivencia del 50% a los 5 años para un PCI menor de 10, que podría incrementarse al 70% cuanto más precoz es el diagnóstico y tratamiento de la recurrencia¹⁰⁸.

A pesar de su divulgación en reuniones internacionales, existe un reclutamiento limitado de pacientes que no ha permitido extraer conclusiones firmes con carácter prospectivo para promover su realización sistemática en centros donde exista un Programa de tratamiento integral de carcinomatosis peritoneal.

Existen algunos puntos débiles que cuestionan la eficiencia de este abordaje “empírico” y dificultan su imposición: Se desconoce con exactitud los factores de riesgo carcinomatoso obligando a tratar muchos pacientes en beneficio de pocos, la técnica quirúrgica es compleja y requiere una amplia curva de aprendizaje, los citostáticos utilizados deberían ser optimizados y la resolución limitada de los estudios

de imagen impide el diagnóstico certero de una enfermedad extrabdominal silente que contraindicaría el uso de HIPEC. Además, no existen criterios unánimes en la elección de los citostáticos.

La investigación de nuevos biomarcadores moleculares relacionados con el cáncer de colon podría abrir una esperanza al desarrollo de fármacos frente a dianas celulares específicas^{109, 110}.

3.2.- Marcadores de riesgo clínico en recurrencia carcinomatosa

El pronóstico de la recurrencia peritoneal del cáncer de colon después de una resección quirúrgica con intención curativa es muy desalentadora, a pesar de los progresos terapéuticos actuales con participación multimodal, tanto más cuanto mayor resulte el índice peritoneal al diagnóstico⁹⁹. El máximo esfuerzo del seguimiento oncológico postquirúrgico debe ir dirigido a su diagnóstico en una etapa precoz con el fin de intentar modificar la historia natural de la enfermedad.

Existen multitud de estudios que hacen referencia a los factores de riesgo de recurrencia carcinomatosa en el contexto de otras formas de recidiva tumoral, pero muy pocos establecen una relación directa entre un determinado factor y el diagnóstico de carcinomatosis como única forma de recurrencia. Los factores más directamente implicados en la literatura para este supuesto son:

La carcinomatosis peritoneal sincrónica a la intervención quirúrgica inicial puede afectar al 4'8-15% de los pacientes intervenidos por cáncer de colon^{111, 112} y parece asociarse a un riesgo significativo de recurrencia a pesar de ser resecada en su totalidad (figura 12). Su seguimiento posterior aventura una recurrencia carcinomatosa en más del 50% de los casos que fueron sometidos a un second-look encontrándose asintomáticos⁷⁴, presentando un mayor porcentaje de recurrencia cuanto mayor es el intervalo entre la intervención inicial y el second-look.

La incidencia global de esta forma de recurrencia se sitúa entre el 54 y el 75% con independencia de la presencia o no de síntomas al diagnóstico, para un nivel de evidencia de 3b a 4.

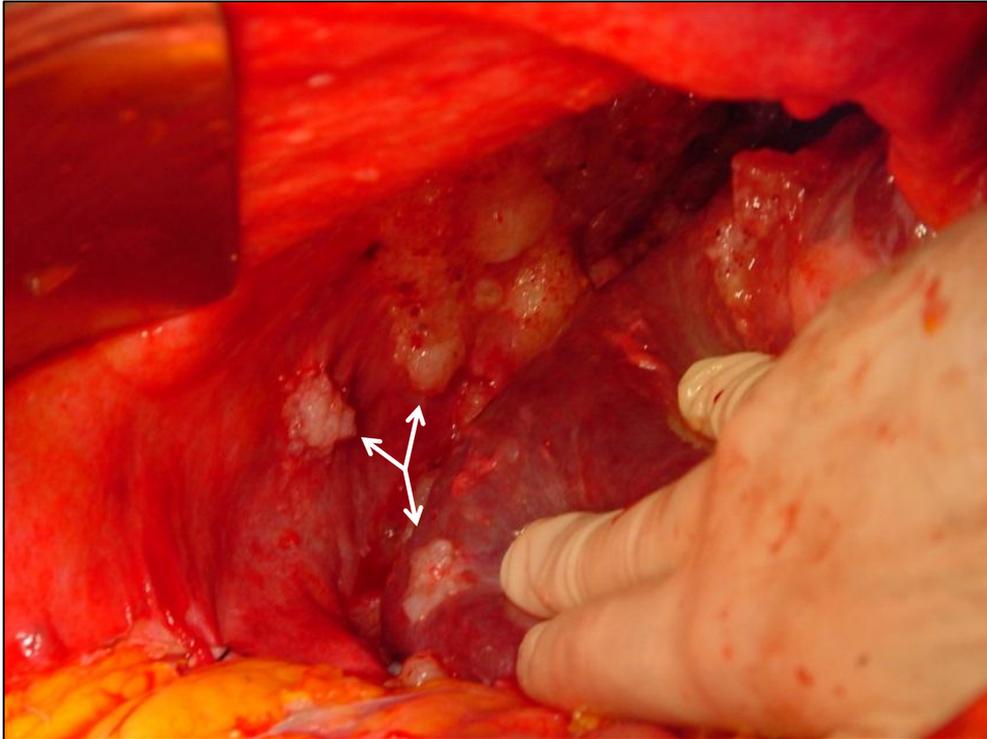


Figura 12. Detalle quirúrgico mostrando la presencia de implantes peritoneales en diafragma derecho y cápsula de Glisson hepática.

La metástasis ovárica sincrónica al cáncer colorrectal se puede observar en el 0'8-7'4% de los casos pero en presencia de carcinomatosis peritoneal la afectación del ovario se produce entre el 29-72% de los casos^{113, 114}. En un estudio de cohortes de 103 mujeres con metástasis ovárica sincrónica o metacrónica a un cáncer colorrectal, el 52% presentaban una diseminación peritoneal sincrónica¹¹⁵. Suelen ser pacientes jóvenes, con un estadio tumoral más avanzado y requerir una cirugía de urgencias.

En ausencia de carcinomatosis, no parece justificada la ooforectomía profiláctica sistemática si el tumor de colon está confinado a la cavidad pélvica, la afectación ovárica es unilateral y el CEA preoperatorio normal; ya que éstos representan factores pronósticos favorables independientes con tratamiento radical seguido de quimioterapia adyuvante^{116, 117}.

Sin embargo, la evolución oncológica de la metástasis ovárica parece demostrar una incidencia de recurrencia carcinomatosa del 56 al 62% a pesar de su resección completa inicial con un nivel de evidencia de 3b a 4, resultando las probabilidades de diagnóstico mayor ante un second-look; aún tratándose de pacientes asintomáticas^{74, 114}.

La perforación del tumor primario también se asocia con fuerza al riesgo posterior de carcinomatosis pero resulta difícil establecer la incidencia exacta de estas perforaciones porque en la literatura se suelen incluir incluso las acontecidas a distancia de dicho tumor. No obstante, se estima que el 33% de los pacientes que

presentaron un tumor perforado al diagnóstico desarrollaran carcinomatosis peritoneal durante el seguimiento¹⁰⁶.

Las perforaciones iatrogénicas del tumor deberían considerarse como un factor de riesgo potencial ya que se produce el mismo mecanismo de diseminación que el empleado por el tumor durante su infiltración parietal.

En líneas generales, se calcula que entre el 1 y el 8% de los cánceres de colon presentan una perforación directa del tumor y probabilidad de supervivencia se estima en el 9% a los 5 años¹¹⁸. La probabilidad de carcinomatosis postoperatoria secundaria a la perforación oscila entre el 14 y el 54% dependiendo del autor consultado^{119, 120}, para un nivel de evidencia de 3b a 4.

Su importancia aumenta como factor de riesgo si comparamos su incidencia de carcinomatosis postoperatoria con respecto al tumor no perforado, observando una diferencia del 14 al 6% respectivamente con significación estadística¹¹⁹.

Los dos subtipos histológicos más frecuentemente asociados a recidiva carcinomatosa son la variante mucinosa y en anillo de sello. De hecho, el adenocarcinoma mucinoso está asociado a una peor supervivencia con independencia del estadio tumoral¹²¹ quizás por una mayor resistencia a la quimioterapia que otros adenocarcinomas, aunque también por su capacidad de infiltración linfovascular como factor pronóstico independiente¹²². Su edad de presentación es más joven que para el resto de subtipos, presentando una elevación preoperatoria de CEA y una inestabilidad de microsátélites mayor que el resto de carcinomas. Suele asociarse con tumores del colon derecho, un mayor tamaño y un estadiaje más avanzado que las formas no mucinosas¹²³.

Académicamente, se considera un carcinoma mucinoso o en anillo de sello cuando más del 50% del tumor contiene mucina extracelular o más del 50% de las células presentan mucina intracitoplasmática, respectivamente (figura 13). Cuando el porcentaje es inferior se trata de un tumor con componente mucinoso o en anillo de sello.

La frecuencia de adenocarcinoma mucinoso (3-15%) es mayor que en anillo de sello (0'1-2'4%) en el computo de los cánceres colorrectales, pero ambos presentan una elevada incidencia de carcinomatosis sincrónica en el momento del tratamiento inicial del cáncer de colon (11 al 75% y 71%, respectivamente)¹¹².

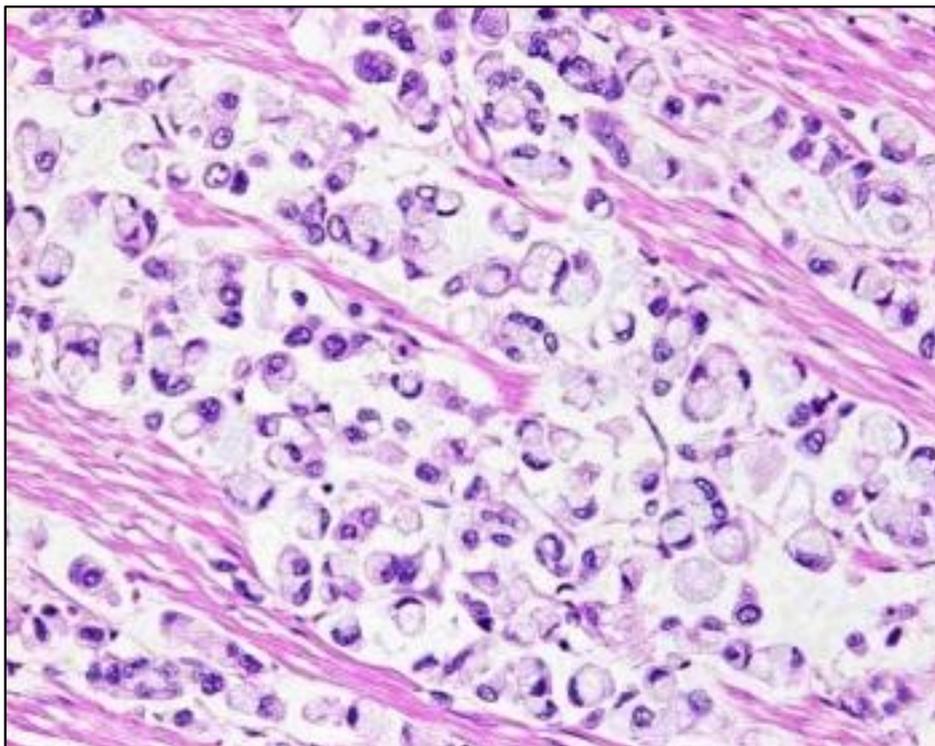


Figura 13. Presencia de abundantes células en anillo de sello infiltrando la capa muscular del colon (Tinción H-E, 400x).

Cuando se analiza retrospectivamente la incidencia de carcinomatosis como forma de recidiva en estas variantes histológicas se puede apreciar que el mayor número de carcinomatosis metacrónicas acontecía cuando el tumor primario era mucinoso (36%)¹²⁴. Sin embargo, existe división de opiniones entre autores en cuanto a su vinculación en términos de mortalidad con respecto a la estirpe en anillo de sello^{121, 125}.

En términos globales, podríamos considerar que la incidencia de recurrencia peritoneal para el conjunto de ambas variantes histológicas debería cifrarse entre el 11 y 36%.

La citología peritoneal positiva ha sido plenamente establecida como factor de riesgo de carcinomatosis metacrónica en tumores digestivos como el carcinoma gástrico. En ausencia de una técnica estandarizada, el estudio citológico convencional ofrece una variabilidad del 4 al 35% de resultados positivos debido a su alta sensibilidad y baja especificidad, poniendo en duda su utilidad clínica^{126, 127}.

En referencia a la carcinomatosis colorrectal, se ha encontrado disparidad de resultados. Un estudio francés¹²⁸ de 1364 pacientes con cáncer colorrectal o gástrico no se observó un valor predictivo entre la citología positiva y la recurrencia peritoneal. En cambio, encontraron relación entre ésta y el grado de invasión parietal, la presencia sincrónica de carcinomatosis y la afectación ganglionar.

Estos resultados discrepan con otros autores al referir que los cánceres colorrectales con un grado de infiltración parietal T₃₋₄ presentan células tumorales libres y viables en el 4% de casos y tienen una probabilidad de recurrencia peritoneal del 3 al 28%¹²⁹; concluyendo que la existencia de una citología de lavado intrabdominal positiva para células malignas debería considerarse un factor independiente de mal pronóstico¹²⁶ tanto en supervivencia libre de enfermedad como global.

En términos generales, la incidencia global de citología positiva en este cáncer se cifra en el 15'2% de los casos pero su relación directa con una recurrencia carcinomatosa sólo ha constatado en dos grupos de trabajo^{130, 131}.

La infiltración serosa o de un órgano adyacente desde el tumor primario se cifra en el 16% de los cánceres colorrectales¹³², estableciéndose una tasa de recurrencia carcinomatosa del 8-19% de los casos. La exposición de células malignas en la serosa visceral debería facilitar su implantación peritoneal mediante mecanismos de descamación o infiltración motivando porcentajes más altos de recaída.

Esta misma explicación debería imprimir un mayor riesgo de diseminación peritoneal cuando se produce la infiltración de un órgano contiguo (figura 14), aspecto que tampoco parece producirse, a la vista de varios estudios retrospectivos, aunque parece existir una tendencia no significativa a favor de la implantación cuando el tumor infiltra un órgano adyacente^{133, 134}.

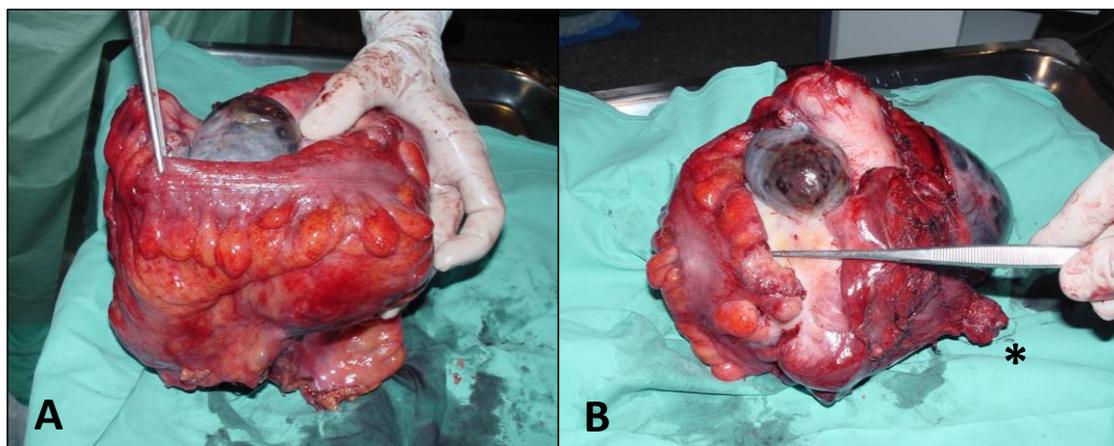


Figura 14. Visión lateral (A) y medial (B) de una colectomía radical en bloque a nivel de sigma por adenocarcinoma que infiltraba el ovario izquierdo y cuerpo uterino. *Identificación del cuello cervical en la pieza quirúrgica.

Esta incongruencia hace pensar a algunos autores que el mecanismo de colonización estaría dominado por otro tipo de circunstancias, de forma que no estaría

justificado el tratamiento profiláctico de un paciente por el simple hecho de presentar infiltración de la serosa peritoneal o de algún órgano adyacente¹³⁵.

Existen otros factores de riesgo en la literatura implicados en la recurrencia tumoral y asociados a la carcinomatosis peritoneal pero ninguno parece tener tanto peso estadístico como los anteriores en cuestión de riesgo:

La afectación de ganglios linfáticos se relaciona con un pobre pronóstico de la enfermedad. A diferencia del pasado, se piensa que la excisión total del mesocolon con ligadura vascular en su raíz proporciona una supervivencia mayor¹³⁶ al proporcionar un mayor número de ganglios para examinar ya que se ha observado una supervivencia creciente a mayor número analizado^{137, 138}. Su importancia radica en que el pronóstico de algunos estadios tumorales con aparente buena evolución, como los tumores T₃N₀, es dependiente del número de adenopatías analizadas. En cambio, no existen estudios concluyentes que asocien su positividad con la recurrencia peritoneal¹³¹.

Adicionalmente, en la 7ª edición del “The American Joint Committee on Cancer, Colon and Rectum Staging” se menciona un nuevo subgrupo ganglionar (N_{1c}) que se refiere a nódulos de células malignas satélites al tumor primario en el tejido adiposo peritumoral, sin constancia de tejido ganglionar residual. Estos hallazgos podrían representar una sustitución completa de una adenopatía por tejido tumoral (en cuyo caso sería clasificado como N), una diseminación a saltos o una invasión venosa con extensión extravascular (citándose como V₁ o V₂ según el hallazgo resultara microscópico o macroscópico). Su presencia podría representar un riesgo potencial para desarrollar una recurrencia carcinomatosa hasta el punto de ser filiados como un signo indirecto de carcinomatosis peritoneal sincrónica.

El tipo de abordaje quirúrgico no parece tener una influencia negativa a la hora de establecer el riesgo en esta forma de recidiva¹³⁹.

En teoría, el abordaje laparoscópico del cáncer podría favorecer la carcinomatosis peritoneal¹⁴⁰ por el efecto de la hiperpresión tisular del CO₂ que provocaría la disrupción de las células mesoteliales y la influencia de este gas sobre el pH mesotelial, que al hacerlo más ácido se inhibiría la propia inmunidad celular local. Sin embargo, ningún estudio clínico ha podido demostrar con rotundidad una mayor incidencia de carcinomatosis peritoneal en comparación con la misma técnica quirúrgica por vía abierta, a pesar de los casos de recidiva en los puertos de los trócares, documentados al inicio de su estandarización; ya que parece más probable que existiera afectación peritoneal concomitante al diagnóstico o defectos en la técnica quirúrgica.

De otro lado, algunos autores han encontrado cierta relación entre la recurrencia peritoneal y la localización¹⁴¹ del tumor, preferentemente en el lado derecho del colon, quizás por asociación a subtipos histológicos de peor pronóstico; y la cirugía de urgencias al documentar significación estadística⁷⁰.

En esta última asociación resulta controvertido relacionar simplemente la propia cirugía de urgencias ya que si su indicación se produce por obstrucción intestinal se debería tener en cuenta la influencia de otros tipos de recidiva en el pronóstico, y si la perforación marcó la urgencia se debería distinguir entre una perforación local del tumor o a distancia. En cualquier caso, ajeno a la indicación de la urgencia parece que el riesgo podría venir más condicionado por el estadiaje y manipulación intraoperatoria del tumor, como agentes claramente implicados en la diseminación de células malignas.

El sangrado tumoral también ha sido implicado como factor predisponente de carcinomatosis peritoneal¹⁴² pero la evidencia científica actual parece correlacionarlo fundamentalmente con un mal pronóstico derivado de recidivas endoluminales. Un caso particular de riesgo podría ser la hemorragia tumoral a la propia cavidad abdominal por la liberación de factores procarcinogénicos.

Los marcadores tumorales se han involucrado ampliamente en la evaluación de recidiva del cáncer digestivo. Aproximadamente, el 75% de todas las recurrencias cursan con un incremento del CEA resultando su monitorización aislada más efectiva que cualquier otro estudio analítico o de imagen para el diagnóstico precoz de la recidiva¹⁴³ con un margen de 4'5 a 8 meses entre su elevación y la aparición de síntomas relacionados con el cáncer¹⁴⁴. Su elevación denota mayor sensibilidad en las metástasis retroperitoneales y hepáticas que en las pulmonares, locales o peritoneales¹⁴⁵.

En cambio, el Ca 19.9 parece tener una interpretación diferente pues algunos autores¹⁴⁶ relacionan su elevación sérica postoperatoria, sola o asociada a elevación sérica de CEA, con un mayor riesgo de recidiva peritoneal al contrario de lo observado para el CEA.

La diferenciación de las células tumorales no guarda una relación específica con la diseminación peritoneal aunque existe vinculación entre los tumores de alto grado y la recurrencia en cáncer de colon¹⁴⁷. Se ha documentado una asociación significativa entre los tumores pobremente diferenciados y una citología peritoneal positiva^{148, 149} por lo que de forma indirecta cabría su correlación con dicha siembra mesotelial.

La edad tampoco parece guardar una relación evidente aunque el riesgo de carcinomatosis postoperatoria podría ser menor a partir de los 70 años⁷⁰.

Otros factores como las complicaciones postoperatorias de tipo infeccioso, especialmente la fístula anastomótica¹⁵⁰ podría relacionarse con recurrencias regionales o a distancia. Se desconoce su mecanismo pero pensamos que pudiera estar relacionado con algún estímulo, mediado por la actividad inflamatoria que se genera en torno a la infección, sobre alguna forma de enfermedad residual.

La quimioterapia adyuvante tiene por objetivo el control de la enfermedad residual microscópica postresección o la prevención de una recidiva sistémica. Su efecto sobre la probabilidad de recurrencia carcinomatosa se encuentra en debate por falta de estudios específicamente diseñados¹⁵¹, teniendo en cuenta la diversidad de esquemas terapéuticos propuestos para este cáncer. No obstante, podría existir algún tipo de inmunorresistencia al tratamiento que, según nuestra experiencia observacional, facilitaría la progresión o recurrencia carcinomatosa a pesar del teórico papel protector de los nuevos citostáticos y agentes biológicos.

3.3.- Fundamentos biológicos de la diseminación peritoneal

Los cambios fenotípicos de una célula sana hasta su transformación maligna y capacidad infiltrativa están sujetos a diferentes mecanismos biológicos cuyo discernimiento podría establecer un riesgo real e individualizado de las diferentes formas de recidiva, permitiendo la implantación de medidas de carcinoprofilaxis o la elaboración de dianas terapéuticas frente a biomarcadores reguladores del proceso de diseminación tumoral.

3.3.1.- Polaridad de la célula epitelial

La pared del intestino grueso carece de vellosidades y pliegues circulares. Se divide en:

- Mucosa, compuesta por un epitelio cilíndrico simple que a modo de invaginaciones conforma las criptas de Lieberkühn, separado de la lámina propia y muscularis mucosae por una membrana basal. Sus células se renuevan constantemente desde la base de las criptas.

- Submucosa formada por tejido conectivo muy denso, vasos sanguíneos y tejido adiposo.

- Muscular constituida por una capa circular y otra longitudinal de músculo liso.

- Serosa ó peritoneo representado esencialmente por un epitelio plano simple.

La polaridad es una propiedad fundamental de la célula epitelial por la cual establece unos dominios en la membrana citoplasmática con una composición, funciones y localización diferentes¹⁵². Esta disposición estructural de la célula facilita la

ejecución de una serie de procesos vitales con carácter transitorio o permanente como la diferenciación, la interacción célula-célula, la secreción de moléculas, la inmunidad, la morfogénesis o la migración celular.

El epitelio colónico está formado por células unidas entre sí por estos dominios constituyendo un revestimiento endoluminal con una organización especializada sobre funciones de reabsorción de agua, transporte iónico, secreción de moco para favorecer el tránsito de desechos y barrera protectora de agentes lesivos.

Estas funciones obligan a una especialización de membrana plasmática por la que podemos distinguir un subdominio ó polo apical, en contacto con la luz intestinal o el exterior celular que se basa fundamentalmente en modificaciones de la propia membrana a modo de microvellosidades que aumentan su superficie, y un subdominio basolateral por el que la célula se une a sus vecinas y a la matriz extracelular mediante uniones estrechas ó contactos ocluyentes que crean una barrera impermeable que impide el flujo de sustancias entre células, zonula adherens ó uniones adherentes que unen los citoesqueletos de actina de células adyacentes, desmosomas que unen los citoesqueletos de filamentos intermedios de células adyacentes, uniones gap a modo de poros de comunicación intercelular, hemidesmosomas y adhesiones focales (figura 15).

El concepto de polaridad celular podría participar en el proceso expansivo de una célula neoplásica a través de cambios fenotípicos y funcionales de los diferentes complejos de unión intercelular. A este respecto cabe señalar la E-cadherina como la proteína más importante de las uniones adherentes y una de las responsables de conservar el fenotipo epitelial mediante la formación de complejos de adhesión entre células a través de la interacción del dominio citoplasmático de la cadherina y el citoesqueleto de actina. Un defecto en su expresión podría motivar un debilitamiento de las uniones celulares con una liberación de la célula de su entorno epitelial, promoviendo el proceso de migración celular llamado transición de epitelio a mesénquima¹⁵³.

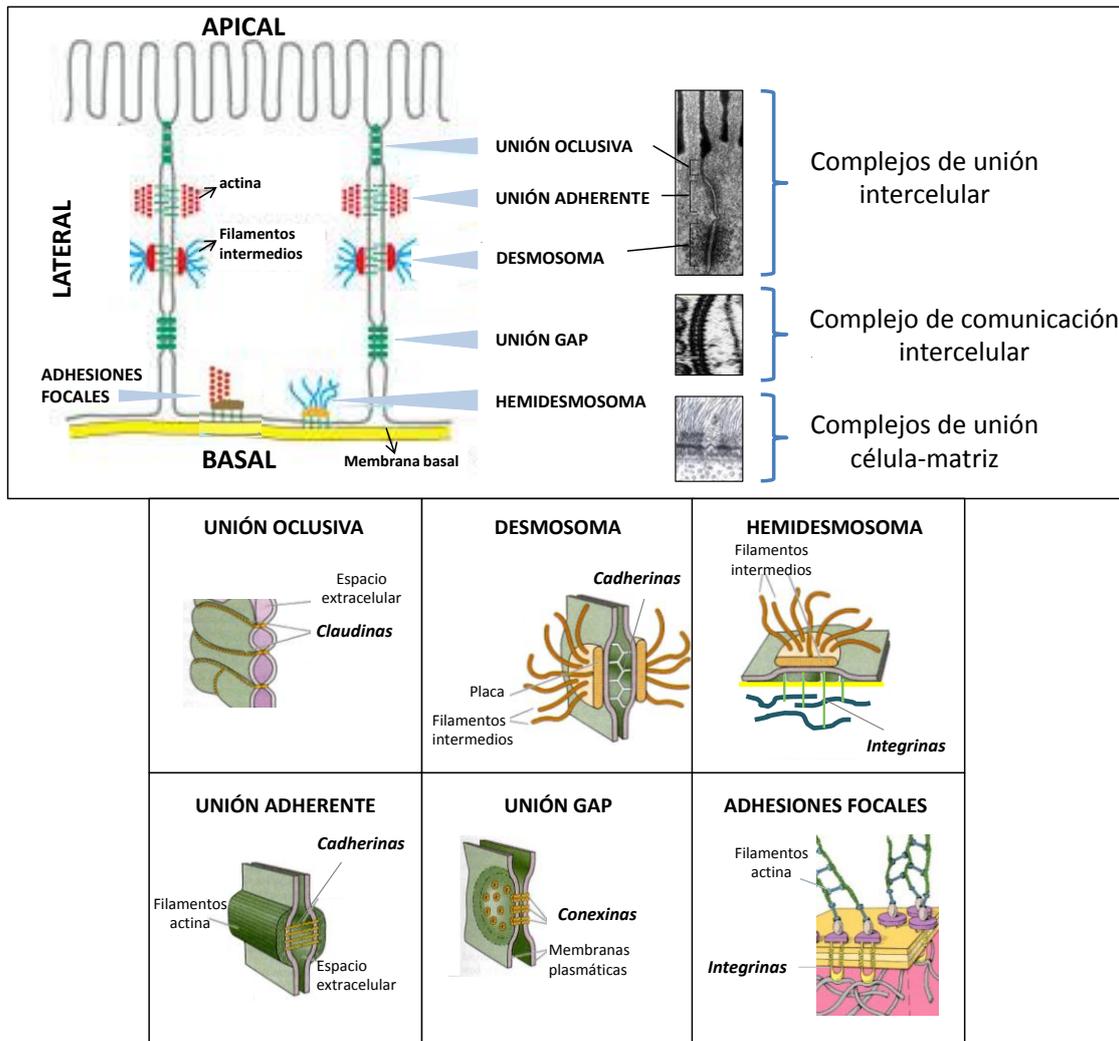


Figura 15. Caracterización de los subdominios de una célula epitelial y expresión a microscopía electrónica de algunos complejos de interrelación con sus vecinas y la matriz extracelular. En la reconstrucción simulada de los complejos se ha destacado en **cursiva** la proteína funcionalmente más implicada.

3.3.2.- Transición de epitelio a mesénquima

Las células epiteliales y mesenquimales difieren en sus características fenotípicas y funcionales. Las primeras constituyen capas de células contiguas con funciones especializadas de membrana a modo de polarización apicobasal, una orientación organizada del citoesqueleto y la presencia de una membrana basal; gozando de cierta capacidad motriz dentro del propio epitelio pero sin posibilidad de migración. El mantenimiento de la morfología epitelial es necesario para realizar sus funciones.

Las células mesenquimales carecen de dichas propiedades por lo que su adhesión a las vecinas es menos fuerte, permitiéndolas una mayor capacidad

migratoria en base a que el tejido mesenquimal juega un papel de soporte con una organización menos definida.

La activación de un proceso biológico conocido como Programa de transición de epitelio a mesénquima produce un cambio fenotípico de la célula epitelial basado en alteraciones de adhesión intercelular, de la interacción de la célula con el entorno, una reorganización del citoesqueleto y una degradación de la membrana basal y de la matriz extracelular. El proceso se completa cuando la célula adquiere la capacidad migratoria, una vez degradada la membrana basal, alcanzando el mesénquima desde el epitelio (figura 16).

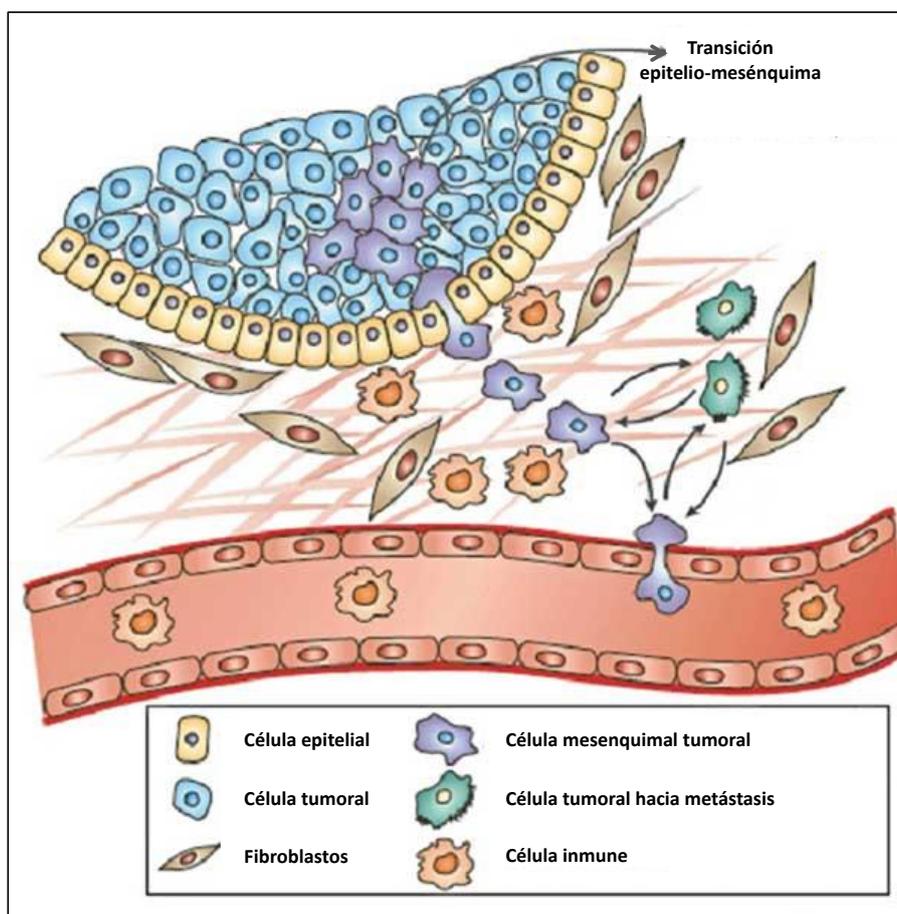


Figura 16. Simulación del proceso de transición epitelio-mesénquima. Resulta característico el cambio fenotípico y la capacidad migratoria que adquiere la célula para su ejecución.

Estos fenómenos de transición han sido descritos en procesos fisiológicos como el desarrollo embrionario y la regeneración o fibrosis tisular¹⁵⁴ con una clara participación del receptor c-met¹⁵⁵ por cuanto que el epitelio serviría de proveedor de fibroblastos y miofibroblastos productores de matriz extracelular; pero también durante

la progresión y metastatización tumoral a través de este mismo fenómeno migratorio después de una reprogramación de células stem pluripotenciales de la mucosa.

El cambio de fenotipo epitelial a fibroblasto podría explicar la existencia de una fibrosis peritumoral expresada a modo de desmoplasia, de tal suerte que cuanto más inmadura sea ésta mayor sería el estadiaje para T y N, la indiferenciación celular y el tamaño de las metástasis asociadas. Además, la inmadurez de la desmoplasia parece asociarse a un mayor riesgo de metástasis hepáticas y extrahepáticas, incluida la diseminación peritoneal⁴³.

La regulación de este fenómeno se produce mediante la coordinación de procesos moleculares que cooperan en su iniciación y finalización como factores de transcripción, expresión de proteínas de superficie y del citoesqueleto, enzimas que degradan la matriz extracelular y cambios en la expresión del ARNm. Su actividad promoverá modificaciones celulares en un doble sentido: Por un lado, la represión o pérdida de sustancias reguladoras de los complejos de adhesión celular como la E-cadherina y, por otro, modificaciones de filamentos de actina del citoesqueleto hacia citoqueratinas y actomiosina por mediación de una Rho-GTPasa; lo cual se traduce en una desconexión celular del epitelio con un cambio de fenotipo y la propiedad de migración¹⁵⁶.

Los mecanismos de reparación tisular a través de este programa matienen analogía con la invasividad tumoral por cuanto que las células epiteliales responden a una inflamación o daño transformándose en fibroblastos capaces de liberar señales inflamatorias para la regeneración o fibrosis tisular.

Cuando se produce un descontrol en la regulación de esta transición bidireccional las células adquieren un fenotipo maligno y una capacidad infiltrativa por sus propiedades migratorias, manifestada por la degradación de la membrana basal, que explicaría porqué las células del frente invasivo del tumor primario expresarían marcadores mesenquimales en lugar de epiteliales como la vimentina, la fibronectina, el Twist o el colágeno tipo I. Resulta muy llamativa la sobre-expresión de dicho colágeno tipo I^{157, 158}, especialmente en tumores de crecimiento infiltrativo.

Existen diferentes vías que pueden desencadenar su activación como la Src, Ras y diversos factores de crecimiento. La TGF- β (Transforming Growth Factor- β) a través de la expresión de factores de transcripción como Twist representa uno de los principales factores reguladores del programa de transición¹⁵⁹.

Oncológicamente, esta transformación descontrolada de célula epitelial a mesenquimatososa podría producirse en las etapas avanzadas del cáncer confiriendo a la célula un fenotipo más invasivo o metastático ya que en las etapas iniciales parecen existir unos mecanismos reguladores que abortan el proceso como los agregados

linfoides subepiteliales al regular la presencia de células malignas en este microambiente estromal.

La inhibición de esta migración celular entre el epitelio y su estroma podría frenar el efecto invasivo y metastático del cáncer de colon.

3.3.3.- Etapas moleculares asociadas al proceso de implantación peritoneal

La carcinomatosis de origen colónico, al igual que otras neoproliferaciones con diseminación peritoneal, podría estudiarse en una secuencia de pasos consecutivos influenciados por marcadores moleculares que podrían interactuar directa o indirectamente en más de un mecanismo de metastatización tumoral^{160, 161}.

Resulta muy llamativo que algunos de los biomarcadores implicados en gran parte de esta secuencia coinciden con los observados durante las etapas iniciales del cáncer, cuando las células epiteliales pierden su interacción con las vecinas y adquieren un fenotipo maligno propio que inicia el proceso de diseminación.

Esto podría hacer postular la existencia de un fenómeno reversible de pérdida de la polaridad celular, que se iniciaría con la descamación celular desde el tumor primario a la cavidad peritoneal y se recuperaría durante la adhesión de la célula tumoral al mesotelio.

Las etapas del proceso de diseminación peritoneal (figura 17) son las siguientes:

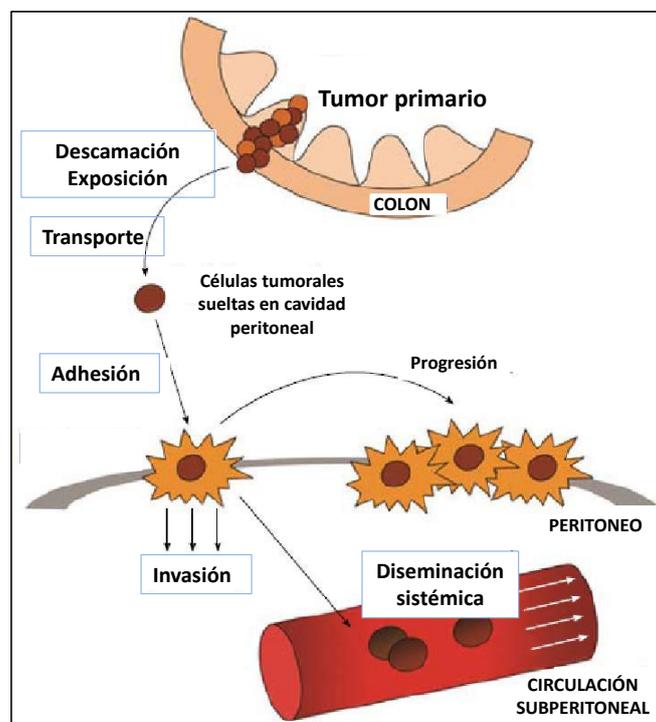


Figura 17. Etapas asociadas a la diseminación peritoneal desde el tumor primario a la circulación sistémica. Adaptado de Aoyagi T et al¹⁶¹.

Descamación ó exposición de células tumorales al peritoneo: El proceso de diseminación se inicia con la liberación de células desde el tumor primario a la cavidad peritoneal. Esta exposición de células malignas libres al peritoneo se puede producir de forma espontánea por las características intrínsecas del tumor o por una descamación iatrogénica del mismo en un contexto traumático como una resección incompleta, ruptura tumoral o apertura de la vascularización peritumoral con escape de células que alcanzaron vasos sanguíneos y linfáticos.

En esta etapa se producen fenómenos muy ligados al fenómeno de polaridad celular y a la transición de epitelio a mesénquima de tal suerte que muchos biomarcadores observados durante el proceso carcinomatoso son comunes en los tres casos: integrinas, cadherinas, selectinas, inmunoglobulinas como la molécula de adhesión intercelular (ICAM) o la molécula de adhesión celulo-vascular (VCAM), el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), TWIST como representante de la activación de la transición epitelio a mesenquima y c-Met.

Resulta patente la existencia de interacciones entre ellos que potencian su efecto natural. Un ejemplo en el cáncer colorrectal podría ser el EFGR como proteína de membrana que al asociarse a un ligando específico desencadena una cascada de reacciones que derivan en una proliferación celular pero al tiempo promovería un defecto en la cadherina E, mediado por la metaloproteasa 9 (MMP-9), por la que surge una disrupción en las uniones intercelulares con el consiguiente desprendimiento celular.

Transporte celular por la cavidad abdominal: Las células liberadas a la cavidad abdominal son transportadas por las diferentes regiones anatómicas del abdomen siguiendo la dinámica de fluidos peritoneales comentada anteriormente. La simple circulación de células en la cavidad abdominal no conlleva forzosamente una implantación de las mismas en el peritoneo ya que existen mecanismos fisiológicos que facilitarían su eliminación.

La anoikis representa uno de estos mecanismos de control al tratarse de una apoptosis ó programa de muerte celular inducida a partir de la pérdida de anclaje de las células tumorales o entre éstas y la matriz extracelular. Las integrinas¹⁶² forman parte de este proceso al participar en la adhesión celular, organización del citoesqueleto para favorecer su migración y en la transducción de señales.

En condiciones normales, esta apoptosis mantiene la homeostasis tisular al prevenir una proliferación celular descontrolada en una localización no deseada. En la diseminación peritoneal, las células descamadas podrían desarrollarse por inactivación de esta apoptosis y proliferar a modo de nidos tumorales ajenos al resto de la población adyacente.

La investigación actual sobre carcinomatosis peritoneal colorrectal en esta etapa parece resaltar a las peptidasas relacionadas con la Calicreina especialmente los tipos 5, 7 y 14 (KLKs 5, 7 y 14) y la proteína oncogénica v-Src; como moléculas implicadas en la resistencia a la anoikis .

Colonización mesotelial: En esta etapa es preciso la adhesión de la célula tumoral al mesotelio, la infiltración de su membrana basal, la invasión submesotelial a partir de la activación de enzimas proteolíticos que degradan la matriz extracelular y la activación de factores proangiogénicos, que generen un microambiente idóneo que permita su proliferación y diseminación sistémica. En este proceso se pueden diferenciar dos fases:

- a) Adhesión celular al mesotelio: Una vez evadida la anoikis, las células tumorales descamadas deben adherirse a la superficie mesotelial, mediante interacciones de tipo receptor-ligando, para colonizar el peritoneo. Este acoplamiento de las células malignas a diversos componentes de membrana celular del epitelio mesotelial permite una recuperación ficticia de la polaridad celular que contribuirá al asentamiento final de la población carcinomatosa en dicho epitelio y posterior invasión de la matriz extracelular.

Esto explicaría que esta etapa comparta algunas de las biomoléculas descritas durante el proceso de descamación como integrinas, ICAM-1 y moléculas de adhesión epitelial (Ep-CAM).

La inflamación parece jugar un papel primordial en este proceso al facilitar la expresión de moléculas de adhesión de carácter intercelular y vascular. Diferentes mediadores proinflamatorios, como las interleuquinas o el factor de crecimiento epidérmico (EGF), también parecen favorecer la adhesión peritoneal de estas células.

La especificidad de localización de los implantes peritoneales en el inicio de la diseminación, tradicionalmente relacionada con la dinámica de fluidos peritoneales, podría también guardar algún tipo de relación con estos marcadores al favorecer un microambiente proangiogénico desde una rica red vascular adyacente como sería la que rodea a los agregados inmunes⁶⁶ .

- b) Invasión submesotelial: Una vez que establecida la adhesión de la célula tumoral al mesotelio se inicia la colonización mesotelial propiamente dicha. Esta se iniciaría en áreas de discontinuidad traumática del peritoneo o zonas de debilidad por apoptosis inducida desde las propias células tumorales sobre el mesotelio¹⁶³, o bien por disrupción de las uniones intercelulares del peritoneo en respuesta a mediadores inflamatorios que facilitaron la adhesión previa.

En un segundo tiempo se produciría la invasión del subendotelio mediante la destrucción de su matriz extracelular a través de enzimas proteolíticas liberados por las propias células tumorales y del estroma. Estas enzimas son fundamentalmente metalopeptidasas de matriz (MMPs) que al desestructurar esta matriz facilitan el asentamiento de células tumorales. El descubrimiento de inhibidores a estas moléculas podría ser una de las dianas terapéuticas en el futuro.

La colonización se completaría con la proliferación de células tumorales en el propio estroma mesotelial. Este fenómeno se produce a través de factores de crecimiento de la célula tumoral o mediante su estimulación autocrina y paracrina desde células estromales adyacentes. Algunas de las moléculas implicadas son el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor inducible por hipoxia 1α (HIF- 1α) y el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-1) ó somatomedina C que se encuentran sobreexpresados en la carcinomatosis peritoneal colónica¹⁶⁴.

De forma complementaria, el futuro de este asentamiento celular está condicionado por un buen aporte de nutrientes para lo cual las células deben estar a una distancia inferior a los 150 o 180 μm de los vasos sanguíneos ya que de otra forma se produciría una hipoxia que induciría su apoptosis. Este inconveniente es subsanado por la estimulación de angiogénesis a través de la liberación de factores inducidos por dicha hipoxia como el HIF-1 que regula la síntesis del VEGF, uno de los inductores angiogénicos más importantes en tumores sólidos. Su sobreexpresión se asocia a un peor pronóstico en cáncer colorrectal pero no guarda relación con la densidad microvascular¹⁶⁵. La inhibición de su receptor parece tener un efecto negativo sobre la proliferación de células malignas y endoteliales con lo que se reduciría la carga tumoral y la formación de ascitis.

De otro lado, la hipoxia asociada a agregados inmunes de la cavidad peritoneal como los milky spots del omento también podría provocar un estímulo para la síntesis VEGF-A, facilitando la aparición de una densa red microvascular sobre dichos agregados⁶⁶ que aportaría los nutrientes necesarios para la colonización celular.

Acceso a la circulación sistémica: Una vez establecida la colonización, la proliferación de las células tumorales evoluciona hacia la invasión de la microcirculación vascular y linfática local para finalmente infiltrar la circulación sistémica. Este fenómeno precisa de una cierta carga tumoral y se produce en las áreas peritoneales con una importante red linfática subperitoneal como el diafragma o el fondo de saco de Douglas, y favorecido por la dinámica de fluidos peritoneales ya reseñada. Al contrario, el peritoneo visceral, al estar desprovisto de stomatas linfáticos y milky spots, sólo estarían implicados en la diseminación sistémica durante las fases avanzadas de la carcinomatosis.

3.4.- Prototipos de biomarcador carcinomatoso

La incorporación de parámetros inmunohistoquímicos a los métodos actuales de cuantificación de la enfermedad podría reflejar, con mayor seguridad, la verdadera dinámica de progresión del cáncer y permitiría predecir mejor la evolución de la enfermedad con el fin de elaborar estrategias de carcinoprofilaxis y tratamiento individualizadas¹⁶⁶.

No obstante, resulta muy difícil encontrar un único biomarcador asociado con todas las etapas del proceso de diseminación peritoneal. Algunos participan en varias de estas etapas e interactúan entre ellos facilitando la metastatización tumoral.

3.4.1.- c-MET

El receptor de transición epitelio-mesénquima (MET) es un receptor de superficie celular que pertenece a la familia de receptores tirosin-quinasa y se encuentra asociado al factor de crecimiento hepatocitario (HGF) como único ligando específico conocido.

Fisiológicamente, se expresa en células epiteliales de muchos órganos como el colon, hígado, páncreas o próstata; pero también se puede encontrar en el endotelio, neuronas o células hematopoyéticas. La proteína HGF tiene su origen en células de origen mesenquimal, fundamentalmente fibroblastos del estroma y células de músculo liso. Es liberada como un precursor biológicamente inerte a modo de cadena simple que se transformará en una molécula bioactiva, por el efecto de proteasas extracelulares, para actuar sobre células con receptores c-Met a través de un mecanismo paracrino.

El receptor de membrana Met (figura 18) está formado por un dominio extracelular que presenta dos unidades, enlazadas por un puente disulfuro, donde interacciona el HGF; y un dominio intracelular que es responsable de la transmisión de señal, a partir de la autofosforilación de residuos tirosina, con la intención de regular diferentes funciones celulares fisiológicas¹⁶⁷. En las etapas de la embriogénesis y desarrollo embrionario la vía c-Met regularía diversas respuestas celulares como la proliferación, supervivencia, motilidad, invasión y morfogénesis; pero en sujetos adultos estarían más restringidas involucrándose principalmente en funciones de regeneración y reparación tisular.

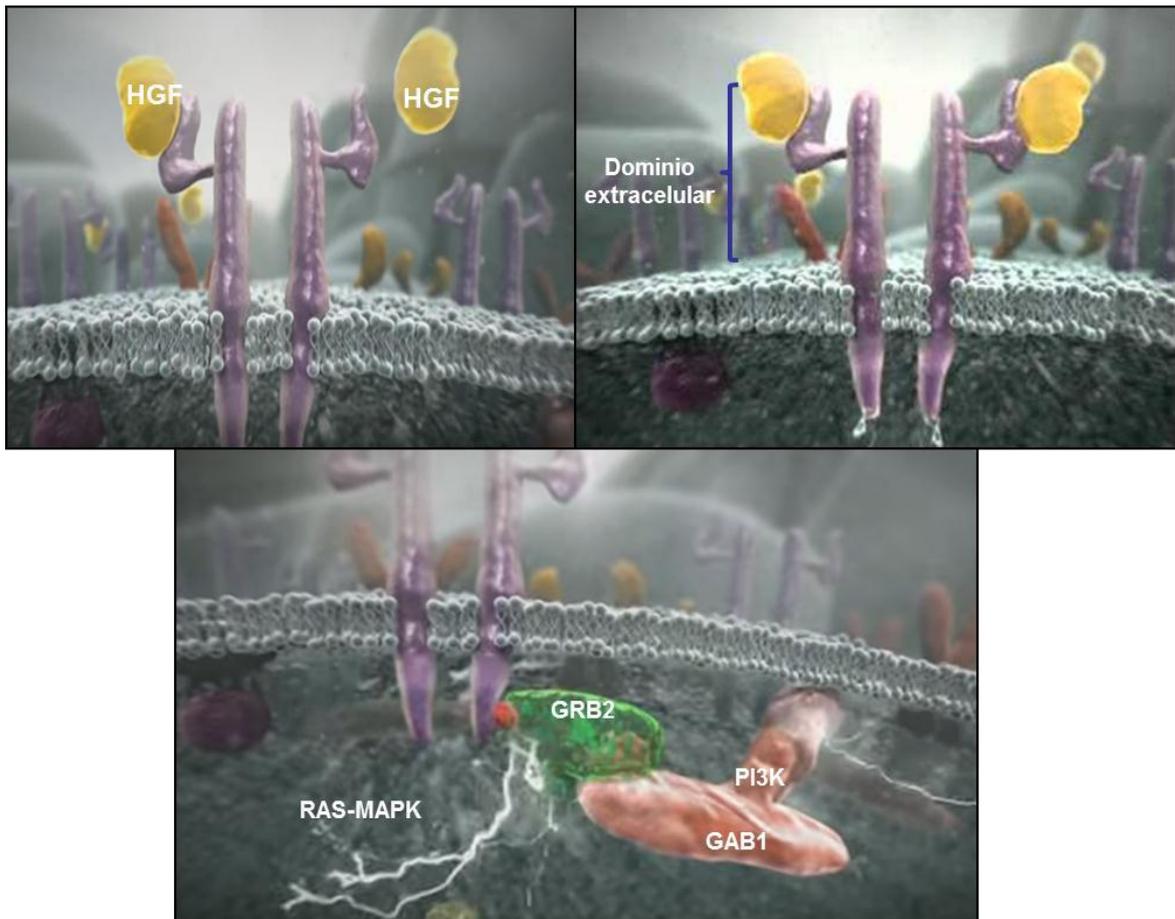


Figura 18. Secuencia espacial simulando del proceso de anclaje del ligando HGF en el receptor transmembrana c-Met y la activación de señales intracelulares.

Desde un punto de vista oncológico, la expresión de c-Met se encuentra presente en la mitad de los cánceres colorrectales desde sus fases iniciales, lo cual sugiere que su activación iniciaría un programa de crecimiento invasivo. Al igual que en otros tumores humanos, su activación descontrolada se debería fundamentalmente a un exceso en la transcripción del gen para esta proteína^{168, 169}. Algunos estímulos para esta transcripción podrían ser las citoquinas inflamatorias del estroma o la propia hipoxia causada por una falta de difusión de oxígeno hacia el centro del tumor durante su crecimiento. Una baja concentración de oxígeno intracelular serviría de estímulo a la transcripción de HIF1 α que promocionaría una mayor sobreexpresión de c-Met.

El proceso se iniciaría con cambios en el fenotipo de las células epiteliales, secundarios a modificaciones en las uniones intercelulares, lo cual les proporcionaría motilidad. Al mismo tiempo se producirían otras acciones paralelas como la proliferación, a través de un incremento de la síntesis de DNA ya que c-Met presenta más actividad en la fase S del ciclo celular¹⁷⁰; un aumento de la supervivencia celular,

al activar proteínas relacionadas con la adhesión y reorganización de la actina del citoesqueleto celular; y la angiogénesis y linfangiogénesis, al promover el crecimiento de células endoteliales que expresarían a su vez factores pro-angiogénicos con el fin de facilitar el aporte de nutrientes para la expansión tumoral.

En este contexto, su participación en la carcinomatosis peritoneal podría deberse a modificaciones del fenotipo celular que facilitaría su motilidad y participación en la transición de epitelio a mesénquima, el crecimiento invasivo por proliferación y la creación de un microambiente angiogénico que justificaría su participación en la colonización peritoneal.

No obstante, la comprensión biológica de este biomarcador resulta compleja debido a su interacción con otras vías moleculares con función tirosin-quinasa, interfiriendo en sus efectos y resistencia a ciertas dianas terapéuticas. Así, algunos miembros de la familia de receptores de las semaforinas, que incluyen plexinas y neuropilinas, podrían activar el receptor c-Met en ausencia de HGF¹⁷¹.

Igualmente, el EGFR y c-MET pertenecen a esta misma familia de receptores y se co-expresan en las líneas celulares del cáncer colorrectal¹⁷² actuando sinérgicamente en la proliferación neoplásica.

La resistencia observada en el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-EGFR como el cetuximab ha sido relacionada con mutaciones del gen K-Ras, N-Ras o B-Raf pero también podría explicarse por un proceso de activación cruzada cMET-EGFR que provocaría la resistencia de EGFR al citostático^{173, 174} de tal suerte que un bloqueo combinado de ambos receptores tendría un efecto sinergista positivo en el tratamiento con carácter dosis-dependiente.

El c-MET también parece tener una relación sinérgica con IGF1R-1 en las células del cáncer colorrectal ya que ambos son mediadores de la migración e invasión celular¹⁷⁵. Por tanto, la expresión de IGF1 podría inducir la activación MET¹⁷⁶ a través de la estimulación de múltiples receptores tirosin quinasa, contribuyendo a la progresión tumoral.

Por otro lado, el estudio de c-Met ha evidenciado su sobreexpresión en el tumor primario con respecto a una mucosa colónica sana. Al mismo tiempo parece existir una mayor expresión del biomarcador cuando el tumor primario presenta afectación ganglionar o metastatización hepática. Esto podría sugerir que se produce una amplificación del gen que se asocia a estadios avanzados de la enfermedad y a la diseminación hematógena, por lo que tendría utilidad como factor predictor de metástasis^{177, 178, 179}.

De igual forma, esta sobre-expresión c-Met se asocia a un mayor riesgo de recurrencia tumoral con respecto a los tumores con una baja expresión¹⁸⁰ confiriéndole

un papel como biomarcador pronóstico hasta el punto de existir una correlación con el estadiaje TNM y tamaño tumoral. De forma paralela, una expresión alta de c-Met en el tumor primario y niveles séricos altos de HGF después de una resección metastásica hacen preveer un mayor riesgo de recurrencia¹⁸¹.

El conjunto de estas características determinan que este biomarcador haya sido relacionado con una mayor agresividad e invasividad del cáncer de colon lo cual deriva en un riesgo potencial de metástasis¹⁸² y, en consecuencia, un peor pronóstico de la enfermedad.

3.4.2.- IGF-1

El factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-1), también llamada somatomedina C, fue descrito en la década de los setenta. Es una proteína con efecto hormonal y con una estructura similar a la insulina. Es sintetizada especialmente el hígado por influencia de la hormona de crecimiento (GH) y actúa prácticamente en todos los tejidos del organismo facilitando su desarrollo.

La vía insulina-IGF se encuentra formada por tres ligandos (insulina, IGF-1 ó somatomedina C y IGF-2 ó somatomedina A), seis receptores entre los que se encuentra IGFR-1 y hasta siete proteínas de unión conocidas (IGFBP1-7) que son sintetizadas en el hígado.

El factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-1) es secretado por el hígado en respuesta a la hormona del crecimiento o una ingesta hipercalórica. Una vez en la circulación se une a IGFBP3 y activa receptores IGFR-1 y de insulina que se expresan en el epitelio normal y tumoral del colon. A su vez la insulina regula el receptor de la hormona de crecimiento hepática.

El IGFR-1 es un receptor tirosin-quinasa que está constituido por dos cadenas α extracelulares y dos β transmembrana en espiral unidas por enlaces disulfuro. Su activación se puede producir por cualquiera de los tres ligandos de la vía aunque IGF-1 presenta la máxima afinidad (figura 19). La interacción IGF-1/IGFR-1 promueve funciones endocrinas de carácter fisiológico y resulta crucial para la ejecución de funciones comunes con la carcinogénesis como el crecimiento celular, la proliferación, diferenciación, desarrollo de los tejidos, inhibición de la apoptosis y la angiogénesis¹⁸³⁻¹⁸⁵ de tal manera que una sobrestimulación del receptor elevaría las probabilidades de transformación maligna de la células y se facilitaría su diseminación.

que desestabilizarían moléculas de adhesión intercelular y entre la célula y la matriz extracelular.

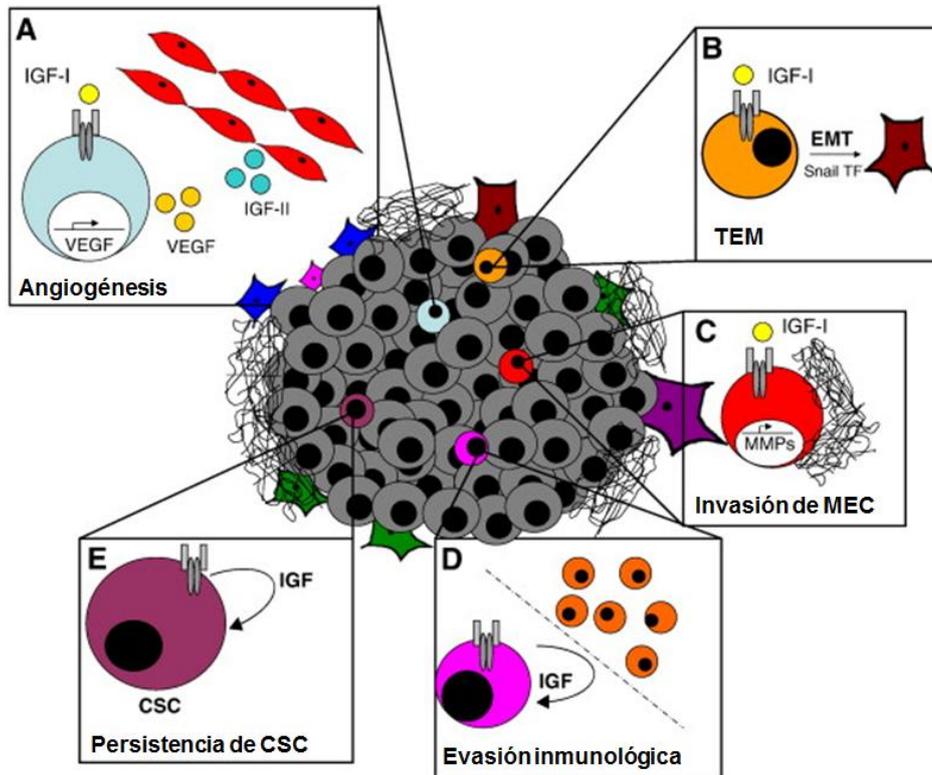


Figura 20. Implicaciones de IGF-1 en la diseminación oncológica. TEM: Transición epitelio-mesénquima, MEC: Matriz extracelular, CSC: Células stem cancerígenas. Adaptado de Seccareccia E et al.

Al mismo tiempo, participa en la desactivación de los inhibidores naturales de las metaloproteasas, contribuyendo en la diseminación al degradar la matriz extracelular.

Por otro lado, contribuye al aporte nutricional del tumor a través de varios mecanismos. Regula la expresión de diversos mediadores de la angiogénesis¹⁸⁸ como el VEGF, que promueve la proliferación endotelial y la permeabilidad capilar. En situaciones de hipoxia tisular, estimula la acción de HIF1 α e induce la expresión de IGF-2, que reclutaría células progenitoras de endotelio hacia áreas isquémicas. No obstante, IGF-1 y 2 son capaces de promover directamente la neovascularización estimulando la diferenciación endotelial de células madre.

Por último, IGFR-1 modula la respuesta inmune antitumoral facilitando el crecimiento tumoral al estimular la síntesis de citoquinas proinflamatorias e interferón que frenarían el efecto inmune de linfocitos y neutrófilos polimorfonucleares sobre el tumor¹⁸⁹. Esta propiedad confiere a la célula tumoral la capacidad de proliferar y colonizar durante su diseminación.

A propósito de sus características oncogénicas, algunos autores han observado una sobreexpresión de IGF-1 en los implantes peritoneales con respecto a otras formas metastásicas. Por el contrario, los niveles circulantes del factor unido a su proteína (IGFBP-3) se correlacionaron con una progresión más lenta de la diseminación, al comportarse como un antagonista endógeno de IGF-1¹⁶⁰, por lo que su interacción sobre el receptor como ligando libre podría tener un papel relevante en el proceso de proliferación descontrolada y colonización peritoneal.

Por tanto, se podría considerar un indicador de progresión tumoral a nivel del tumor primario y sus metástasis peritoneales por cuanto que podría promover la proliferación celular en ambos escenarios.

3.5. Nuevos aspirantes a biomarcador carcinomatoso

A la vista de las investigaciones realizadas por otros autores, para diferentes tumores malignos, y las observaciones de nuestro grupo, consideramos con cierto optimismo, la valoración novedosa de dos biomarcadores con implicaciones en la carcinogénesis del cáncer de colon pero sin documentación en la literatura de la carcinomatosis peritoneal.

3.5.1.- Plexina β_1

En la naturaleza existen 8 clases diferentes de semaforinas y 11 de plexinas, aunque en vertebrados sólo se han identificado las semaforinas de clase sema 3 a 7 y nueve plexinas subdivididas en cuatro subfamilias: plexina A₁₋₄, plexina B₁₋₃, plexina C₁ y plexina D₁.

Las semaforinas son proteínas que se encuentran solubles a modo de ligando o ancladas a la membrana celular como receptor. Contienen un gran dominio sema en su porción extracelular. Las plexinas comparten esta característica pero además contienen dominios GAP enlazados por cadenas de aminoácidos en su porción citoplasmática (figura 21)¹⁹⁰.

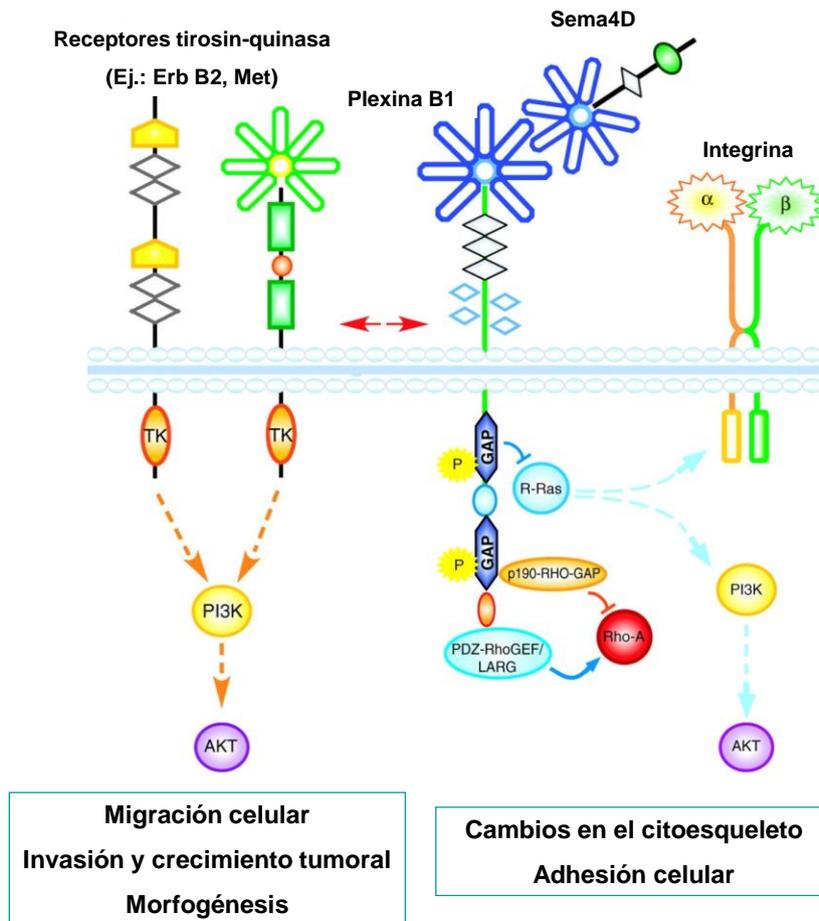


Figura 21. Estructura molecular de la plexina β_1 , su interacción con otras vías moleculares afines y el resultado oncológico final de su actuación. Adaptado de Capparuccia L et al.

Inicialmente, las semaforinas fueron relacionadas con el desarrollo del sistema nervioso central pero en la actualidad se ha comprobado que participan también en el sistema inmune, la adhesión dependiente de integrinas, la motilidad celular, la respuesta inmune, la angiogénesis, y la progresión tumoral. No obstante, algunas tienen una función antitumoral o antiangiogénica. Esta variabilidad de función depende de su función como ligando o del receptor al que se una, activándose diferentes vías de señalización con resultado dispar¹⁹¹.

Las plexinas son receptores transmembrana de alta afinidad para las semaforinas aunque algunas necesitan un co-receptor, las neuropilinas, para que la señal sobre la plexina sea completa.

La semaforina más llamativa es la sema4D ó CD100, que se encuentra muy expresada en la mayoría de los tumores sólidos más frecuentes como el colon, la mama o la próstata¹⁹². Es una glicoproteína transmembrana con diferentes implicaciones oncológicas¹⁹³:

Esta semaforina aporta una función versátil en la regulación de la respuesta inmune dependiendo de que su forma soluble actúe sobre el receptor CD72, de baja afinidad, estimulando la síntesis de anticuerpos por células B y la activación de células presentadoras de antígenos; o sobre la plexina β_1 , de alta afinidad, inhibiendo la migración de ambos tipos de células. Al contrario, cuando interacciona como receptor regula la activación de linfocitos T y la diferenciación de células B.

Por otro lado, tanto ésta como la semaforina 7A inducen la síntesis de citoquinas proinflamatorias en los monocitos participando en la respuesta inflamatoria peritumoral¹⁹⁴.

Aunque se ha pensado en una interacción directa de la sema4D con las integrinas como mecanismo estabilizador del citoesqueleto y la adhesividad celular, en la actualidad parece que esta función la realizaría a través de la asociación GAP/R-Ras de su receptor¹⁹⁵. La inactivación de esta GTPasa o su interacción con otros receptores tirosin-quinasa facilitaría de la migración celular desde el epitelio¹⁹⁶.

Su participación en la progresión tumoral exige diversas intervenciones sobre el microambiente tumoral:

La sema4D a través de su unión específica a la alta densidad de receptores plexina β_1 del endotelio vascular induce la tubulogénesis y migración de las células endoteliales produciendo un efecto angiogénico similar e independiente a otras moléculas más conocidas como VEGF o HGF. La inducción de esta angiogénesis es mediada por una metaloproteasa expresada en la superficie de la célula tumoral y en los macrófagos del estroma que fragmenta la sema4D hacia su forma soluble para que, por un efecto paracrino, se una a la plexina β_1 de las células endoteliales para iniciar la respuesta angiogénica¹⁹⁷, promoviendo la supervivencia y crecimiento tumoral (figura 22).

Se ha observado que algunos tumores neurotróficos presentan células con altos niveles de plexina β_1 al tiempo que sus estructuras nerviosas expresan sema4D. La interacción del ligando y receptor parece conducir a un aumento de la densidad nerviosa peritumoral y una atracción de la célula maligna que derivaría en su infiltración¹⁹⁸. Este aspecto es particularmente interesante en el cáncer de colon donde la infiltración perineural se comporta como un factor pronóstico independiente.

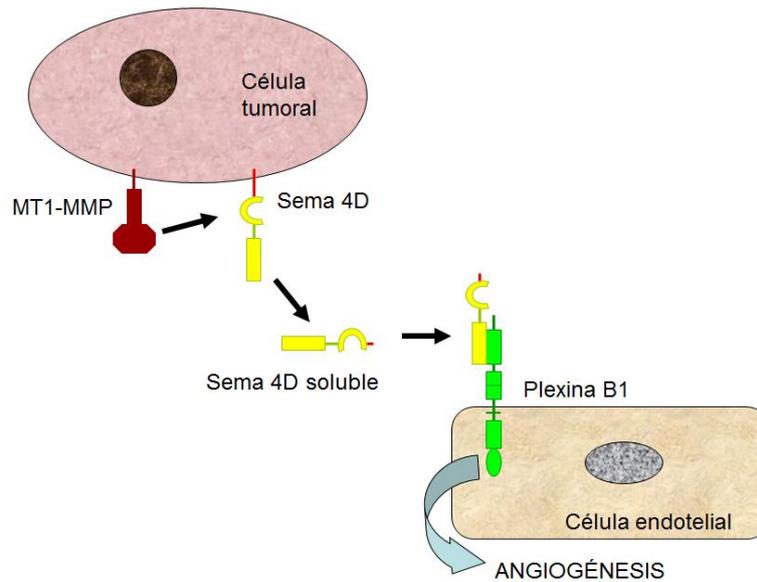


Figura 22. Mediación de plexina β_1 en la respuesta angiogénica tumoral. MT1-MMP: Metaloproteasa de matriz tipo I.

La activación de plexina β_1 de la célula epitelial también parece participar en el crecimiento invasivo del tumor para lo cual algunos autores¹⁹⁹ proponen que debería estar emparejada a c-Met como requisito para activar la cadena de señales intracelulares que generen un cambio del fenotipo epitelial previo a la invasión. Así, en el cáncer de ovario y mama una sobreexpresión de ambos biomarcadores ha sido asociada con un mayor grado tumoral y metástasis ganglionares²⁰⁰. No obstante, la implicación de este biomarcador en la progresión tumoral no es igual en todos los cánceres. Se cree que su dominio citoplasmático tiene vías de activación e inhibición tumoral de forma que la participación de una u otra desencadenaría la actuación de oncogenes o genes supresores. La existencia de mutaciones a este nivel o la interacción de la plexina β_1 con otros receptores tirosin quinasa como c-Met o Her-2 podría ser fundamental en el resultado²⁰¹⁻²⁰³. La participación secundaria de estos receptores por la activación de plexina β_1 implicaría un agonismo parcial sobre los mismos ante el mismo ligando, derivando en funciones que primariamente no corresponderían a la plexina β_1 o que compartirían con ella a través de mecanismos diferentes.

En consecuencia, la plexina β_1 podría estar implicada en diferentes fenómenos del proceso de diseminación peritoneal, posiblemente muy condicionada por los efectos de otras biomoléculas.

3.5.2.- Colágeno XI α_1

El colágeno es el principal componente de la matriz extracelular y el equilibrio entre su síntesis y degradación se lleva a cabo a través de fibroblastos, que juegan un papel crítico en la homeostasis de dicha matriz.

La matriz extracelular juega un papel activo en numerosos procesos biológicos como la morfogénesis celular, la proliferación, la migración, la diferenciación, la apoptosis y la propia carcinogénesis^{204, 205}.

Diferentes teorías apuntan a una relación entre los fibroblastos y las células malignas durante el proceso de diseminación tumoral. Su papel en la génesis del cáncer vendría mediado por la síntesis y depósito de colágeno para la remodelación de la matriz extracelular²⁰⁶ por cuanto que una disminución de fibroblastos asociados al cáncer parece reducir la capacidad invasiva de las células tumorales²⁰⁷. Este concepto apoyaría su papel en la transición de epitelio a mesénquima pues se sabe que el TGF- β , como inductor primario de dicha transición, promueve la activación de este tipo de células estromales²⁰⁸.

Sin embargo, en la progresión tumoral se produciría el fenómeno contrario por el cual una degradación intensa de colágeno permitiría una migración a distancia de las células epiteliales²⁰⁹.

Su sobreexpresión en los fibroblastos estromales de la poliposis adenomatosa familiar y la relación de ésta con alteraciones en la vía genética APC conduce a pensar que puede ser un buen biomarcador en los cánceres de colon esporádicos al asociar mutaciones para este mismo gen²⁰⁴, lo cual abarcaría la mayoría de los carcinomas de colon en nuestro medio cultural. Esta conclusión puede sugerir su asociación con tumores de colon que siguen la vía de inestabilidad cromosómica.

En situación basal, los polipéptidos de colágeno son sintetizados como procolágenos que conformarán una triple hélice de colágeno con extremos propeptínicos N y C que se escindirán para formar la molécula de colágeno madura que a su vez se agrupará con otras a modo de fibras.

El colágeno XI, formado por tres cadenas α , representa un componente escaso pero esencial en el conjunto del colágeno ya que una de sus principales funciones, junto con el colágeno IX, es regular el diámetro de sus fibrillas para estabilizar el crecimiento lateral del colágeno II durante el desarrollo del tejido cartilaginoso embrionario²¹⁰, constituido por fibrillas de las tres formas.

El Colágeno XI α_1 , aunque ha sido descrito en muchos tejidos, fundamentalmente cartílago, su función fisiológica es menos conocida en otros como el colon. Su primera descripción en oncología se hizo sobre un rhabdomyosarcoma

aunque posteriormente se ha estudiado en otros muchos tumores como el cáncer de pulmón, mama, páncreas, gástrico y colorrectal, donde está sobreexpresado con respecto al epitelio normal o lesiones inflamatorias^{204, 211, 212}. Resulta llamativa su expresión en compañía de genes relacionados con la transición de epitelio a mesénquima²¹³.

En el tejido colónico normal se ha identificado la existencia de colágeno XI en el aparato de Golgi yuxtannuclear con la peculiaridad de que la tinción del aparato de Golgi de las células tumorales era más tenue que las normales al tiempo que presentaban mayor tinción citoplasmática. Algunos autores piensan que el colágeno XI podría ser sintetizado en el aparato de Golgi y su función iría más allá de su participación en la regulación del diámetro de las fibrillas de colágeno jugando un papel en la síntesis y excreción de moco²¹⁴.

La expresión del gen para el colágeno XI α_1 se asocia a un fenotipo celular del estroma similar a los fibroblastos pero se desconoce el origen y naturaleza real de estas células. No obstante, se piensa que las células estromales asociadas al cáncer resultarían de la reacción desmoplásica que acompaña a todo cáncer infiltrativo y derivarían de diferentes tipos de progenitores mesenquimales²¹⁵. La confirmación de este concepto apoyaría la relación entre fibrosis del estroma tumoral y el riesgo de metastatización.

En esta misma línea, el inmunomarcaje para el colágeno XI α_1 ha sido propuesto como un indicador de agresividad y progresión del tumor al haberse encontrado una asociación significativa entre éste y diferentes factores de mala evolución en el cáncer de colon como la afectación ganglionar y las metástasis a distancia. Estas características han sido contrastadas en otros carcinomas infiltrantes^{212, 216}. Esta condición sugiere su mediación en la proliferación, invasión y migración de células malignas.

Su comparación con otras variables analizadas como la edad, sexo, localización del tumor primario, tamaño tumoral o el grado de diferenciación celular carecieron de relevancia.

En consecuencia, estas células “pseudofibroblásticas” serían responsables de una mayor densidad de fibras de colágeno XI α_1 que participarían en la remodelación de la matriz extracelular a nivel del tumor primario y, quizás, en el proceso de colonización peritoneal, facilitando su infiltración local en ambos supuestos. En base a este principio de invasividad, la sobreexpresión de este biomarcador podría ser un indicador de riesgo en la diseminación carcinomatosa, tanto más cuanto mayor sea el componente desmoplásico del tumor y menor su infiltrado inmune peritumoral.

3.6. Escalas de riesgo de recurrencia y aportación pronóstica

El cáncer de colon puede presentar recaída peritoneal sola o sincrónica a otras formas de recurrencia tumoral en más del 50% de los pacientes con sospecha clínica en el postoperatorio y la mitad de éstos presentan recidiva confinada al peritoneo exclusivamente⁷¹⁻⁷³. Las cifras resultan más dramáticas cuando se revisan estudios clínicos de pacientes sometidos a second-look después del primer año de una colectomía con intención curativa al encontrarse recidiva solamente peritoneal en el 56-58% de los casos^{70, 74}.

Su tratamiento actual basado en cirugía citorreductora y administración de quimioterapia intraperitoneal hipertérmica ha permitido cambios pronósticos muy favorables pudiendo alcanzar una supervivencia alrededor del 50% a los cinco años cuando la citorreducción resulta completa⁹⁸.

A lo largo de la literatura, diferentes autores han sugerido, con cierto éxito, diversos factores de riesgo asociados a recidiva tumoral en cáncer colorrectal^{217, 218} e incluso han elaborado escalas de riesgo clínico para predecir el riesgo de recurrencia sobre algunos órganos diana de este cáncer^{219, 220}. A este respecto, un tamaño del tumor primario superior a 5 centímetros, la existencia de adenopatías positivas, un CEA>200 ng/mL o un intervalo libre de enfermedad inferior a 12 meses guardan una fuerte asociación con la recaída hepática.

En cuanto a la carcinomatosis colorrectal, se han desarrollado escalas que interrelacionan factores clínicos e histopatológicos del cáncer colorrectal con la extensión preoperatoria de una carcinomatosis peritoneal ya establecida a fin de poder predecir las posibilidades de resección completa²²¹. De forma paralela, se han desarrollado también diferentes escalas pronósticas basadas en el grado de extensión intraoperatoria²²² destacando fundamentalmente el índice de cáncer peritoneal propuesto por Sugarbaker, ya referido.

A lo largo de los últimos años, se ha analizado una posible asociación entre diversos factores individuales y el riesgo de recurrencia peritoneal pero no se encontrado ningún patrón concluyente y algunos factores mantienen una clara controversia según el autor consultado. Estas discrepancias explican que se carezca de un modelo predictivo universal que evalúe el riesgo de carcinomatosis peritoneal después de una resección quirúrgica con intención curativa, especialmente en ausencia de signos objetivos de diseminación peritoneal, a excepción del propuesto por Segelman J et al²²³, que establece la probabilidad de riesgo de recidiva carcinomatosa durante los tres años siguientes a la resección quirúrgica, basándose en un análisis retrospectivo de algunos factores de riesgo como la edad, el sexo, la

localización del tumor primario, el grado de diferenciación, el estadiaje tumoral, el número de ganglios estudiados, el grado de resecabilidad alcanzado, el carácter electivo o urgente de la intervención quirúrgica, la existencia o no de perforación intestinal y la influencia de haber recibido radioterapia preoperatoria o quimioterapia adyuvante. Las limitaciones de este estudio impiden su estandarización pero contribuyen al interés por elaborar una escala con valor predictivo individualizado independientemente del área geográfica del paciente.

En ausencia de estos modelos, algunos grupos quirúrgicos con experiencia ya han elaborado programas de carcinoprofilaxis en pacientes seleccionados, basándose en el concepto de que el pronóstico en estos pacientes se encuentra directamente relacionado con la diseminación peritoneal y la capacidad de conseguir una citorreducción completa, obteniendo una supervivencia global del 91% y libre de enfermedad del 48% a los dos años con una supervivencia media superior a los 30 meses^{86, 111, 224}, gracias a una agresividad quirúrgica mínima que ha permitido una morbilidad anecdótica y una mortalidad postoperatoria nula.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El peritoneo supone la segunda localización metastásica más frecuente en el cáncer de colon, pudiendo afectarse hasta en la mitad de los pacientes tratados con intención curativa. La dificultad diagnóstica de la recaída, especialmente en sus fases iniciales, y la discrepancia en los diferentes factores de riesgo presentados en la literatura ha propiciado la elaboración de protocolos empíricos de second-look.

Por otro lado, el descubrimiento progresivo de marcadores moleculares está permitiendo un acercamiento a la biología tumoral y a las diferentes vías de diseminación del cáncer.

Una valoración de todos estos factores en un único estudio puede aportarnos una visión más exacta de la trascendencia individual de cada uno de ellos, pero también nos conduce a plantear la siguiente hipótesis: La interrelación de estos factores en una población definida podría derivar en un modelo predictivo de riesgo de recurrencia peritoneal en cáncer de colon, integrado por biomarcadores clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos, que facilite una orientación más selectiva de candidatos a carcinoprofilaxis.

Con la finalidad de contrastar esta hipótesis nos planteamos los siguientes objetivos:

1. Reclutar y describir las características de los pacientes intervenidos por cáncer de colon con intención curativa en el hospital Sierrallana de Torrelavega entre Enero de 1.995 y Diciembre de 2.007.
2. Validar en nuestra población de estudio los factores de riesgo actuales para carcinomatosis peritoneal.
3. Evaluar otros posibles factores de riesgo de recurrencia para cáncer de colon en el desarrollo de carcinomatosis peritoneal postoperatoria.
4. Determinar la validez de los biomarcadores inmunohistoquímicos seleccionados (c-Met, IGF-1, Plexina β_1 y Colágeno XI α_1) como predictores de riesgo de carcinomatosis peritoneal postoperatoria.
5. Elaborar un modelo matemático empírico, integrado por biomarcadores clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos, que pueda predecir el riesgo de recaída peritoneal en cáncer de colon intervenido con intención curativa.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Selección de la población a estudio

Este proyecto de investigación se ha llevado a cabo con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria en fecha de 1 de agosto de 2.014, presentando el código interno 2014.145 y reflejado en el Acta 24/2014 (Anexo I).

Se han revisado retrospectivamente 598 historias clínicas de pacientes registrados con diagnóstico de cáncer de colon por el Servicio de Codificación y Documentación Clínica del Hospital Sierrallana de Torrelavega en Enero de 1.995 y Diciembre de 2.007 con el objeto de seleccionar aquellos casos intervenidos quirúrgicamente con intención curativa por el Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo.

Fueron descartados del estudio aquellos pacientes que presentaban algún error de codificación, no llegaron a operarse, fueron sometidos a alguna intervención paliativa, se diagnosticaron de un segundo tumor primario en los cinco años siguientes al diagnóstico de cáncer de colon, presentaban un estadio IV por metástasis a distancia no resecables en el momento de la intervención quirúrgica o sufrieron mortalidad postoperatoria, entendiéndose ésta como fallecimiento en los siguientes 30 días a la resección de colon, independientemente de la causa. También se excluyeron aquellos pacientes con diagnóstico de tumor rectosigmoideo si no se pudo esclarecer que se trataba de una localización sigmoidea, entendiéndose como tal a aquellos tumores primarios que asientan por encima de la reflexión peritoneal.

Esta selección de historias clínicas motivó la recogida de 431 pacientes susceptibles de estudio que fueron sometidos a los siguientes criterios generales de inclusión:

- Resección quirúrgica por cáncer de colon en el hospital Sierrallana entre enero de 1995 y diciembre de 2007 con intención curativa.
- Existencia de un consentimiento informado explicando los detalles de la intervención quirúrgica y riesgos asociados, firmado por el paciente y cirujano responsable.
- Informe histopatológico definitivo detallando el estadiaje tumoral.
- Un seguimiento postoperatorio mínimo de 5 años mediante la evolución documentada en la historia clínica o llamada telefónica.

La población a estudio resultante fue de 405 pacientes que se analizó sistemáticamente para después estratificarla en dos grupos según padecieran o no carcinomatosis peritoneal como forma de recidiva de éste cáncer en los cinco años siguientes a la intervención quirúrgica.

A su vez, se conformó un subgrupo muestral formado por 87 de estos pacientes a razón de presentar carcinomatosis peritoneal postoperatoria o factores de riesgo específico de carcinomatosis peritoneal, que fueron sometidos a un estudio inmunohistoquímico con los biomarcadores c-Met, IGF-1, plexina β_1 y colágeno XI α_1 .

2.- Recogida de información

Toda la información de los pacientes ha sido obtenida a partir de la revisión sistemática de sus historias clínicas en formato papel e informatizada, y se ha completado mediante llamada telefónica para conocer datos relevantes ausentes en dicha documentación y el estado actual del paciente.

Realizamos anotación de todos los datos de interés en fichas individualizadas para cada paciente, siguiendo un cuestionario especialmente diseñado para este estudio (Anexo II).

La información recogida en cada ficha se dividió en diversos apartados: Filiación, antecedentes familiares y personales, semiología clínica, analítica y marcadores tumorales al diagnóstico, intervención quirúrgica, complicaciones postoperatorias, tratamiento adyuvante, histopatología y seguimiento oncológico.

El estadiaje tumoral se re-evaluó mediante revisión de todos los informes histopatológicos para conseguir uniformidad según los criterios de la 7ª edición del Manual de Estadiaje del Cáncer AJCC para el cáncer colorrectal (Anexo III)⁷.

No se ha considerado ninguna variable concerniente a tratamientos citostáticos adyuvantes debido a la falta de homogeneidad en su elección para el periodo de tiempo considerado y la posibilidad de sesgos atribuidos a su administración en otro centro hospitalario.

3.- Descripción de las variables analizadas

Se consideró la división de la información obtenida en cada paciente en diferentes apartados con el objeto de facilitar su tratamiento estadístico posterior.

3.1.- Variables relacionadas con la filiación y antecedentes

Los datos del cuestionario concernientes a este aspecto incluyen:

- Nombre y apellidos completos
- Número de historia clínica
- Número del informe histopatológico al diagnóstico del tumor primario
- Domicilio y población de residencia habitual
- Teléfono de contacto
- Sexo
- Edad
- Antecedentes familiares directos de cáncer de colon
- Hábito tabáquico
- Hábito enólico
- Hipertensión arterial
- Dislipemia
- Diabetes mellitus

3.2.- Variables relacionadas con el diagnóstico

Los detalles de la semiología, analítica y marcadores tumores en el momento del diagnóstico fueron:

- Tiempo de evolución en meses
- Dolor
- Distensión abdominal
- Naúseas y/o vómitos
- Alteración del tránsito intestinal
- Rectorragia o hematoquecia
- Mucosidad en las heces

Anorexia
Pérdida de peso
Astenia
Tumor palpable
Hemoglobina (Hb), cuyos niveles de referencia fueron de 11'5 a 15'5 gr/dL
Hematocrito (Hto), cuantificado en porcentaje con valores normales entre 34'5 y 46'5%
Neutrófilos séricos (Ns), con valores normales entre 42 y 75% a partir de la fórmula leucocitaria
Linfocitos séricos (Ls), obtenidos de la fórmula leucocitaria y con valores normales entre 20 y 51%
Índice neutrófilo/linfocito (Índice N/L) definido como el cociente del recuento porcentual de neutrófilos y linfocitos, y considerado de mal pronóstico cuando su resultado fue igual o mayor de 5.
Velocidad de sedimentación globular (VSG), con valores normales entre 2 y 36 mm/hora
Colesterol, cuyos límites normales se situaron entre 120 y 200 mg/dL
Proteínas totales (Pt), con niveles de referencia entre 6'4 y 8'3 gr/dL
Albumina (Alb), con niveles de referencia entre 3'5 y 5 gr/dL
Lactato deshidrogenasa (LDH), con límites normales entre 125 y 243 UI/L
Antígeno carcinoembrionario (CEA), con valores de referencia entre 0'1 y 5 ng/mL
Antígeno carbohidrato (Ca 19.9), con valores de referencia entre 0 y 37 UI/L

3.3.- Variables relacionadas con la intervención quirúrgica y el postoperatorio

Se recogieron los siguientes datos en relación con el proceso operatorio:

Fecha de la intervención quirúrgica
Carácter de cirugía: Urgente o programada
Tiempo quirúrgico en minutos
Abordaje de la cavidad abdominal: Laparotomía o laparoscopia
Indicación de la urgencia: Obstrucción, perforación o hemorragia
Técnica quirúrgica donde se especifica el tipo de resección de colon empleada
Resección de órganos o vísceras adyacentes relacionadas con el tumor
Complicaciones postoperatorias, tanto de índole médico como quirúrgico:
Complicaciones médicas:

Neumonía
Atelectasia
Derrame pleural
Infección urinaria
ACVA
TEP
TVP
Infarto agudo de miocardio
Insuficiencia cardiaca
Insuficiencia respiratoria
Bacteriemia por catéter central
CID
Shock séptico
Otras

Complicaciones quirúrgicas:

Ileo paralítico prolongado
Fístula anastomótica
Fístula urinaria
Fístula pancreática
Hemorragia
Absceso intrabdominal
Isquemia intestinal
Infección de herida
Evisceración
Obstrucción intestinal
Otras

Reintervención quirúrgica

Transfusión perioperatoria y número de concentrados de hematíes transfundidos

Tratamiento adyuvante

3.4.- Variables relacionadas con la histopatología

Los informes histopatológicos aportaron la siguiente información:

Localización del tumor primario en el marco cólico, reseñando el carácter proximal o distal del mismo tomando como referencia el ángulo esplénico del colon

Tamaño tumoral, expresado en centímetros
Implantes peritoneales
Nódulo mesentérico adiposo
Metástasis ovárica
Perforación del tumor primario
Fistulización tumoral
Grado de diferenciación
Afectación ganglionar
Extravasación de la cápsula ganglionar
Estadaje tumoral, actualizado a la 7ª edición de la clasificación TNM de la AJCC
Infiltración perineural
Invasión o permeación vascular
Subtipo histológico mucinoso o en anillo de sello
Infiltrado inflamatorio peritumoral, que fue clasificado en escaso o abundante
Citología peritoneal

3.5.- Variables relacionadas con el seguimiento oncológico

Una revisión sistemática postquirúrgica mínima de cinco años permitió recopilar los siguientes aspectos:

Tiempo de seguimiento en meses
Fecha de la recidiva
CEA al diagnóstico de la recidiva, con los mismos valores preoperatorios de referencia
Ca 19.9 al diagnóstico de la recidiva, con los mismos valores preoperatorios de referencia
Recidiva, si se produjo, y el tipo de recurrencia
Tratamiento de la recidiva
Fecha de muerte
Estado actual

3.6.- Variables relacionadas con el estudio inmunohistoquímico

La información recogida en el análisis inmunohistoquímico para cada uno de los biomarcadores seleccionados (c-met, IGF-1, plexina β 1 y colágeno XI α 1) fue:

Área o porcentaje de células marcadas
Intensidad de la inmunotinción
Histoscore ó histoproducto

4.-Selección de los factores de riesgo

Se han tipificado dos formas de riesgo oncológico en el cáncer de colon para establecer su influencia en la posible recidiva carcinomatosa durante el seguimiento de los pacientes:

Factores de riesgo inespecífico, que hace referencia a aquellas variables recogidas en las fichas de los pacientes, con posible influencia en recurrencia oncológica, independientemente de su asociación al cáncer de colon:

Sexo, atendiendo a un mayor riesgo en el varón

Edad, considerando que la población menor de 70 años presenta más riesgo de recurrencia carcinomatosa

Hábito tabáquico

Hábito enólico

Hipertensión arterial

Diabetes mellitus

Ausencia de dislipemia o tratamiento con estatinas

Antecedentes familiares de cáncer de colon

Hemoglobina ≤ 10 gr/dL

Transfusión perioperatoria

Albúmina sérica ≤ 2.5 gr/dL

Linfocitos séricos $\leq 20\%$

Índice neutrófilo/linfocito ≥ 5

Tumor palpable

Tamaño tumoral ≥ 5 centímetros

Infiltrado inflamatorio peritumoral

Infiltración perineural

Invasión o permeación vascular

Intervención quirúrgica por laparoscopia

Fístula anastomótica

Absceso intrabdominal postoperatorio

Tratamiento adyuvante

Factores de riesgo específico de carcinomatosis peritoneal: Se han estratificado estos factores siguiendo las directrices para riesgo potencial de carcinomatosis del grupo de Dominique Elias del Instituto Gustave Roussy de París^{74, 151} con el objetivo posterior de facilitar la selección de candidatos a técnicas inmunohistoquímicas con mayor probabilidad de desarrollar una diseminación peritoneal.

a) Factores de riesgo alto, aquellos cuyo nivel de evidencia hace preveer la recurrencia en $\geq 50\%$ de los casos:

Carcinomatosis peritoneal sincrónica

Nódulo mesentérico adiposo (N_{1c})

Metástasis ovárica sincrónica

Perforación del tumor primario, ya sea en el preoperatorio, por efecto de una instrumentación endoscópica (por ejemplo durante una biopsia o colocación de un “stent”) o durante su manipulación intraoperatoria.

b) Factores de riesgo moderado, cuando el nivel de evidencia estima una probabilidad de recurrencia peritoneal inferior al 50%:

Invasión de la serosa del colon y/o un órgano adyacente (T₄).

Fistulización inducida por el propio tumor primario.

Subtipo histológico mucinoso o en anillo de sello.

Citología peritoneal positiva.

c) Factores de bajo riesgo, en donde se incluyen aquellas variables que se han implicado en la literatura científica con cierto peso en el riesgo de recaída peritoneal pero los estudios de revisión actuales no constatan una correlación estadística evidente:

Infiltración ganglionar, independientemente del número de adenopatías aisladas.

Intervención quirúrgica de urgencias.

Obstrucción intestinal

Elevación patológica individual y conjunta de los marcadores tumorales séricos CEA y Ca 19.9 pre- y postoperatorios (CEA >5 ng/ mL y Ca 19.9 >45 U/mL).

Tumor pobremente diferenciado (G₃).

Localización tumoral proximal al ángulo esplénico.

Hemorragia tumoral a la cavidad abdominal.

5.- Categorización de los pacientes para estudio inmunohistoquímico

Los criterios de inclusión y exclusión establecidos generaron una muestra poblacional de 405 pacientes que fueron tratados de forma conjunta para establecer sus diferencias según presentaran o no carcinomatosis peritoneal en el transcurso de su evolución oncológica.

La limitación económica para llevar a cabo el estudio inmunohistoquímico a toda la población, con un coste promedio de 22€ por procedimiento, motivó que seleccionáramos una muestra representativa formada por pacientes que presentaron una recurrencia carcinomatosa postoperatoria o tenían probabilidad de dicha recurrencia de acuerdo con los tres estratos de riesgo específico carcinomatoso que hemos seleccionado.

De forma arbitraria, hemos puntuado estos estratos de riesgo según un peso teórico que permite establecer homogeneidad entre ellos:

Cada factor de alto riesgo tiene un valor de 4 puntos.

Cada factor de riesgo moderado se valora con 2 puntos.

Cada factor de bajo riesgo tiene un valor de 1 punto.

Se ha considerado que un paciente podría ser incluido en esta subpoblación cuando cumplía alguna de las siguientes circunstancias:

Existencia de al menos un factor de riesgo alto.

Existencia de dos factores de riesgo moderado.

Existencia de un factor de riesgo moderado en presencia de al menos dos de bajo riesgo.

De esta forma, todos los pacientes pertenecientes a esta subpoblación deberán ser calificados con una puntuación mínima de 4 puntos, que constituye nuestro criterio para establecer una probabilidad real de carcinomatosis peritoneal postquirúrgica.

La aplicación de estos criterios al conjunto de la población permitió obtener una subpoblación de 87 pacientes sobre los que se realizaron las diferentes técnicas inmunohistoquímicas.

6.- Técnicas inmunohistoquímicas

Se solicitó al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Sierrallana de Torrelavega una muestra representativa de los bloques de parafina, utilizados durante el diagnóstico de la resección curativa, que incluyera tejido sano y tumoral de los

pacientes incluidos para la realización de las diferentes técnicas inmunohistoquímicas seleccionadas.

El análisis histopatológico convencional de las muestras se realizó mediante tinción de hematoxilina-eosina (H-E) sobre cortes de 3 µm colocados en portaobjetos pretratados con albúmina.

El informe histopatológico emitido para cada paciente tuvo implicaciones en su seguimiento postoperatorio según necesitaran o no tratamiento adyuvante y ha servido para facilitar la recogida de algunas variables histológicas fundamentales para el análisis del presente estudio, como se puede visualizar en la ficha de recogida de datos.

6.1.- Descripción técnica

Los bloques de parafina seleccionados fueron sometidos a cortes de 3 µm y se colocaron sobre portaobjetos pretratados con Superfrost® (Thermo, Waltham-Massachusetts, USA). El desenmascaramiento antigénico se realizó a la temperatura indicada en la tabla 1, durante 20 minutos empleando Target Retrieval Solution, Low pH (K8005, Dako, Glostrup, Dinamarca) y Target Retrieval Solution, High pH (K8004, Dako). Las condiciones y características de los anticuerpos utilizados también se detallan en la tabla 1.

El revelado de la inmunohistoquímica se realizó con el kit EnVision DuoFLEX Doublestain System (SK110, K6807DAKO) siguiendo el protocolo descrito por el fabricante.

Posteriormente, los tejidos se deshidrataron con alcohol etílico de gradación creciente (96% y absoluto), se lavaron en xilol y se montaron sobre DPX (Dibutilftalato en xileno, BPH, Poole, England).

Tabla 1. Características de los antígenos utilizados en la inmunohistoquímica.

Nombre antígeno	Casa comercial	Pretratamiento	Tipo anticuerpo	Dilución de uso	Tiempo de Incubación
C-MET	Abcam (ab39075)	95°/alto pH	Conejo policlonal	1:100	ON/4°C
IGF1	Abcam (ab9572)	95°/alto pH	Conejo policlonal	1:250	ON/4°C
Plexina B1	Abcam (ab136880)	95°/bajo pH	Conejo policlonal	1:600	ON/4°C
COL11A1	Oncomatrix (clon 1E8.33)	98°/bajo pH	Ratón monoclonal	1:100	32 minutos/TA

ON: Incubación durante toda la noche, TA: Temperatura ambiente.

6.2.- Cuantificación de la inmunotinción

La cuantificación de c-Met, IGF-1, plexina β_1 y colágeno $XI\alpha_1$ como biomarcadores de estudio en las distintas muestras seleccionadas se realizó mediante una semicuantificación del área teñida con respecto al área total en estudio.

Se realizó una puesta a punto con verificación histológica de los diferentes biomarcadores mediante tejidos biológicos contrastados previamente en la literatura. Para el marcaje con c-Met se utilizó como control positivo al parénquima pulmonar. En el caso de IGF-1 se ha realizado un control externo a través de tejido tiroideo y un control interno basado en la intensa inmunotinción experimentada por las células neuroendocrinas del tejido colónico a estudio. El control inmunohistoquímico para la plexina β_1 se llevó a cabo mediante parénquima hepático y para el colágeno $XI\alpha_1$ se tomó al tejido mamario con carcinoma infiltrante como referencia.

La valoración de la intensidad del marcaje y los porcentajes de área fueron realizados por tres observadores independientes en una selección de las muestras representativas para c-Met, IGF-1 y plexina β_1 . Estas observaciones tuvieron un alto índice de concordancia (>80%).

En el caso del colágeno $XI\alpha_1$ la simple presencia de inmunomarcaje fue relacionada directamente con expresión positiva y, en consecuencia, considerado como criterio de invasividad tumoral; ya que es un marcador que sólo se expresaría en los fibroblastos dispersos en el estroma tumoral y su sensibilidad/especificidad es suficientemente alta como para discriminar una lesión infiltrante. Por tanto, este biomarcador fue cuantificado de forma dicotómica como positivo o negativo, considerando la muestra como positiva con la tinción de al menos un fibroblasto.

7.- Análisis bioestadístico

La información obtenida de las fichas de campo concernientes a los pacientes estudiados fue informatizada en una base de datos creada a partir del programa estadístico IBM® SPSS® Statistics Versión 20.

Todos los test estadísticos realizados a las distintas variables se han llevado a cabo utilizando las distintas herramientas de la suite SPSS® 20 referida.

En el caso de las variables categóricas los valores han sido expresados como número (%) mientras que la media \pm desviación estándar, mediana, moda y rango fueron utilizadas para las variables cuantitativas.

La correlación entre las diferentes variables y el riesgo de recaída peritoneal postoperatoria se estableció por el nivel de significación que fue diferente según el

modelo de análisis que se realizara: En el análisis univariante se consideró significación estadística cuando $p \leq 0'05$, mientras que para el análisis multivariante incluimos aquellas variables con una $p \leq 0'25$ con el fin de descartar la pérdida de variables que pudieran tener cierta relevancia, y teniendo en cuenta que siempre se han aplicado los test de forma bidireccional.

En el estudio multivariante se efectuó un modelo “condicional por pasos hacia atrás” y modelo “enter” hasta la identificación de la mejor opción posible desde un punto de vista coherente con la práctica clínica y el análisis estadístico. En este caso, los intervalos de confianza han sido calculados considerando una $p \leq 0'05$ como nivel de significación.

La elaboración de una fórmula predictora de riesgo para carcinomatosis peritoneal postoperatoria (logit CPp) se basó en la interpretación de la sensibilidad y especificidad de dicha fórmula, para variables clínico-patológicas e inmunohistoquímicas, de acuerdo con modificaciones en el valor de corte seleccionado por el sistema para cada modelo, cuyo valor de referencia inicial es 0'5, escogiendo aquel modelo que adquiriera mayor área bajo la curva (AUC).

La aplicación de las características de cada paciente en esta fórmula matemática generará un valor numérico que podremos transformar en probabilidad mediante una ecuación universal al uso: $e^{\text{logitCPp}} / 1+e^{\text{logitCPp}}$. De esta forma, obtendremos la probabilidad, expresada en porcentaje, que presenta un paciente intervenido con intención curativa de presentar recaída carcinomatosa durante su seguimiento postoperatorio.

RESULTADOS

La muestra de este estudio se encuentra formada por 405 pacientes intervenidos por cáncer de colon con intención curativa en el Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo del Hospital Sierrallana de Torrelavega entre enero de 1.995 y diciembre de 2.007.

Estos pacientes fueron distribuidos en un grupo de 357 casos que no presentaron carcinomatosis peritoneal postoperatoria (SCP), y un segundo grupo de 48 enfermos que desarrollaron carcinomatosis peritoneal (CP) en la evolución de la enfermedad.

De forma paralela, el conjunto de pacientes fue evaluado siguiendo los criterios de riesgo de recidiva carcinomatosa postoperatoria más habituales en la literatura seleccionando un subgrupo de 87 enfermos a los que se les aplicó técnicas inmunohistoquímicas para los biomarcadores seleccionados.

1.- Análisis descriptivo de la población estudiada

1.1.- Descripción de los pacientes

Se reclutaron 405 pacientes, siguiendo los criterios de inclusión seleccionados, pertenecientes fundamentalmente al Área Sanitaria III y IV de la Comunidad de Cantabria con la siguiente distribución geográfica: Besaya (60'5%), Saja-Nansa

(14'6%), Campoo (11'4%), Costa Occidental (7'9%), Liébana (3'5%) y otras Áreas Sanitarias o provincias diferentes (2'1%).

En la tabla 2 y 3 se puede observar el desglose de las variables cualitativas y cuantitativas más importantes en referencia a la población estudiada con cáncer de colon.

Tabla 2. Características generales de la población estudiada con cáncer de colon. Variables cualitativas.

	Variable	N (%)	Descripción	n	%
Epidemiología	Sexo	405 (100)	Hombre	230	56'8
			Mujer	175	43'2
Semiología	Dolor	405 (100)	No	207	51'1
			Sí	198	48'9
	Distensión abdominal	405 (100)	No	348	85'9
			Sí	57	14'1
	Naúseas / vómitos	405 (100)	No	332	82
			Sí	73	18
	Alteración del tránsito	405 (100)	No	208	51'4
			Sí	197	48'6
	Rectorragia / hematoquecia	405 (100)	No	261	64'4
			Sí	144	35'6
Mucosidad	405 (100)	No	371	91'6	
		Sí	34	8'4	
Anorexia	405 (100)	No	337	83'2	
		Sí	68	16'8	
Astenia	405 (100)	No	306	75'6	
		Sí	99	24'4	
Pérdida de peso	405 (100)	No	267	65'9	
		Sí	138	34'1	
Intervención quirúrgica	Resección de víscera complementaria	405 (100)	No	317	78'3
			Sí	88	21'7
Postoperatorio	Complicaciones postquirúrgicas	405 (100)	No	155	38'3
			Sí	250	61'7
	Complicaciones médicas	405(100)	No	272	67'2
			Sí	133	32'8
Complicaciones quirúrgicas	405 (100)	No	198	48'9	
		Sí	207	51'1	
Reintervención quirúrgica	405 (100)	No	364	89'9	
		Sí	41	10'1	

Tabla 3. Características generales de la población estudiada por cáncer de colon. Variables cuantitativas.

	Variable	n	%	Media ± DS
Epidemiología	Edad	405	100	69'8 ± 10'2
Semiología	Tiempo de evolución (meses)	373	92'1	3'2 ± 4'8
	Pérdida de peso	138	34'1	7'3 ± 3'5
Analítica preoperatoria	Hemoglobina (gr/dL)	391	96'5	12'1 ± 2'5
	Hematocrito (%)	388	95'8	36'7 ± 7'1
	Neutrófilos (%)	386	95'3	64'9±12'3
	Linfocitos (%)	383	94'6	22'9 ± 9'5
	Índice neutrófilo/linfócito	383	94'6	4±3'9
	VSG (mm/hora)	263	64'9	34'6 ± 26'8
	Colesterol (mg/dL)	343	84'7	181 ± 41'2
	Proteínas totales (gr/dL)	334	82'5	6'3 ± 0'7
	Albumina (gr/dL)	336	82'9	3'5 ± 0'6
	LDH (U/L)	301	74'3	360'3 ± 143'4
Intervención quirúrgica	Tiempo quirúrgico (min)	347	85'7	146'4 ± 50'1
Anatomía Patológica	Tamaño tumoral (cm)	344	84'9	5'5 ± 2'4
Transfusión perioperatoria	Nº CH transfundidos	405	100	0'98 ± 1'4

Nuestra población presentó una distribución por género favorable al varón (56'8%) y una edad media de 69'8±10'2 años para un intervalo intercuartílico de 39 a 94 años.

El diagnóstico de cáncer se produjo sobre algún dato semiológico en prácticamente todos los casos (98'8%), encontrándose asintomáticos sólo 5 (1'2%). El tiempo de evolución clínica hasta el diagnóstico del cáncer fue de 3'2±4'8 meses.

La semiología más frecuente relacionada con la patología colónica fue el dolor abdominal (48'9%) y la alteración del tránsito intestinal (48'6%). En orden decreciente de frecuencia fueron registrados la rectorragia o hematoquecia (35'6%), las náuseas y/o vómitos (18%), la distensión abdominal (14'1%) y la mucosidad fecal (8'4%). La pérdida de peso (34'1%) representó el síntoma constitucional más habitual con una pérdida ponderal media de 7'3±3'5 kilogramos.

En el estudio analítico preoperatorio, los valores medios de la hemoglobina, hematocrito, neutrófilos séricos, linfocitos séricos, VSG y colesterolemia se encontraron en el rango de la normalidad a excepción de la LDH (360'3±143'4 UI/L).

Las proteínas totales ($6'3\pm 0'7$ gr/ dL) y la albuminemia ($3'5\pm 0'6$ gr/dL) se situaron en el límite de la normalidad. El índice neutrófilo/linfocito se encontró por debajo del valor considerado de riesgo para mal pronóstico de la enfermedad ($4\pm 3'9$).

Las diferentes técnicas quirúrgicas empleadas para el conjunto de la población, con una duración media de $146'4\pm 50'1$ minutos, se pueden observar en la figura 23. Los procedimientos operatorios fueron realizados mayoritariamente sobre segmentos distales del colon. Las resecciones de colon practicadas con más frecuencia fueron la hemicolectomía derecha (25'7%), la sigmoidectomía (19'3%), la resección anterior alta (16'8%) y la hemicolectomía derecha ampliada (11'6%).

De forma complementaria a la colectomía, se precisó resección de alguna estructura o víscera adyacente en 88 (21'7%) pacientes.

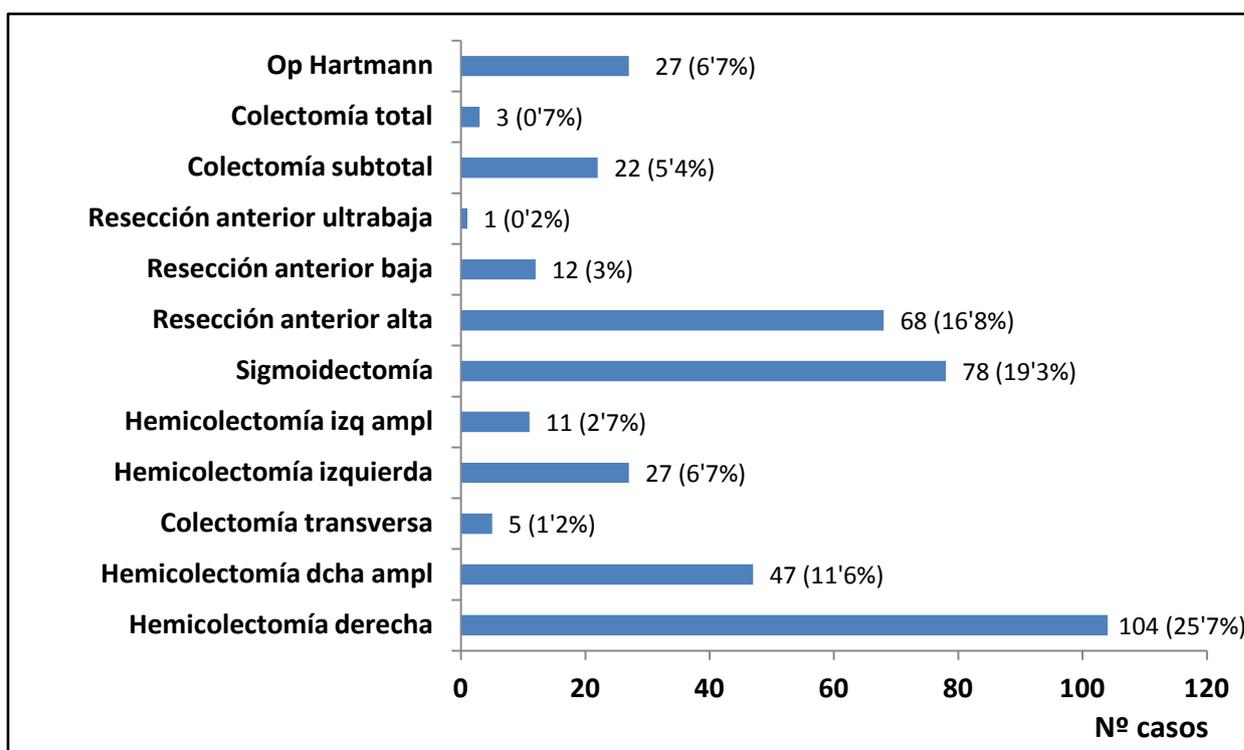


Figura 23. Técnicas quirúrgicas realizadas sobre la población estudiada.

Se presentaron complicaciones postquirúrgicas en 250 (61'7%) pacientes. En más de la mitad de los casos (51'1%) surgió algún tipo de complicación quirúrgica. Una relación de las complicaciones presentadas en el conjunto de la población a estudio se expresa en la tabla 4.

A nivel global, las complicaciones más frecuentes fueron de índole infeccioso destacando la infección de herida quirúrgica (27'9%), la bacteriemia por catéter central (10'6%), la infección urinaria (7'4%) y el absceso intrabdominal (6'7%).

En la agrupación de complicaciones médicas por aparatos o sistemas, el mayor número de casos estuvo relacionado con la esfera neumológica. Las complicaciones quirúrgicas intrabdominales más frecuentes fueron la fístula anastomótica (10'1%) y el absceso intrabdominal (6'7%).

Se precisó reintervención quirúrgica en 41 (10'1%) casos de la serie poblacional.

Hubo necesidad de transfusión perioperatoria en 161 (39'8%) pacientes con una media de $0'9 \pm 1'4$ concentrados de hematíes transfundidos.

Tabla 4. Complicaciones postquirúrgicas discriminando los procesos médicos y quirúrgicos presentados.

MÉDICAS	n	%	QUIRÚRGICAS	n	%
Total	133	32'8	Total	207	51'1
Bacteriemia por cateter	43	10'6	Infección de herida	113	27'9
Infección urinaria	30	7'4	Ileo paralítico	66	16'3
Insuficiencia respiratoria	24	5'9	Eventración	49	12'1
Atelectasia	28	6'9	Fístula anastomótica	41	10'1
Derrame pleural	16	4	Absceso intrabdominal	27	6'7
Fibrilación auricular	14	3'4	Evisceración	17	4'2
Shock séptico	10	2'5	Seroma de herida	18	4'4
Insuficiencia renal	10	2'5	Hemorragia	9	2'2
Insuficiencia cardiaca	9	2'2	Hematoma de herida	5	1'2
Neumonía	8	2	Fístula pancreática	3	0'7
Flebitis periférica	8	2	Isquemia intestinal	2	0'5
Retención urinaria	6	1'5	Obstrucción intestinal	1	0'2
Crisis hipertensiva	4	1	Necrosis de colostomía	1	0'2
TEP	4	1	Fístula pleuroabdominal	1	0'2
TVP	4	1	Hematoma intrabdominal	1	0'2
Broncoespasmo	3	0'7	HDB	1	0'2
HDA por úlcera de stress	3	0'7	Distensión de plexo braquial	1	0'2
ACVA	2	0'5			
Empiema	2	0'5			
Infarto de miocardio	1	0'2			
CID	1	0'2			
Endocarditis aórtica	1	0'2			
Taquicardia supraventricular	1	0'2			
Descompensación hidrópica	1	0'2			

TEP: Tromboembolismo pulmonar, TVP: Trombosis venosa profunda, HDA: Hemorragia digestiva alta, ACVA: Accidente cerebrovascular agudo, CID: Coagulación intravascular diseminada, HDB: Hemorragia digestiva baja.

1.2.- Localización, tamaño y estadiaje tumoral

En el conjunto de la muestra poblacional, la localización distal del tumor primario en el marco cólico fue mayoritaria, con afectación de 247 (61%) pacientes, y

el segmento intestinal más frecuentemente afectado fue el sigma con 201 casos (49'6%). La distribución por segmentos en el resto de pacientes se refleja en la figura 24.

El tamaño tumoral se registró en 344 (84'9%) informes histopatológicos presnetando una media de $5'5 \pm 2'4$ centímetros.

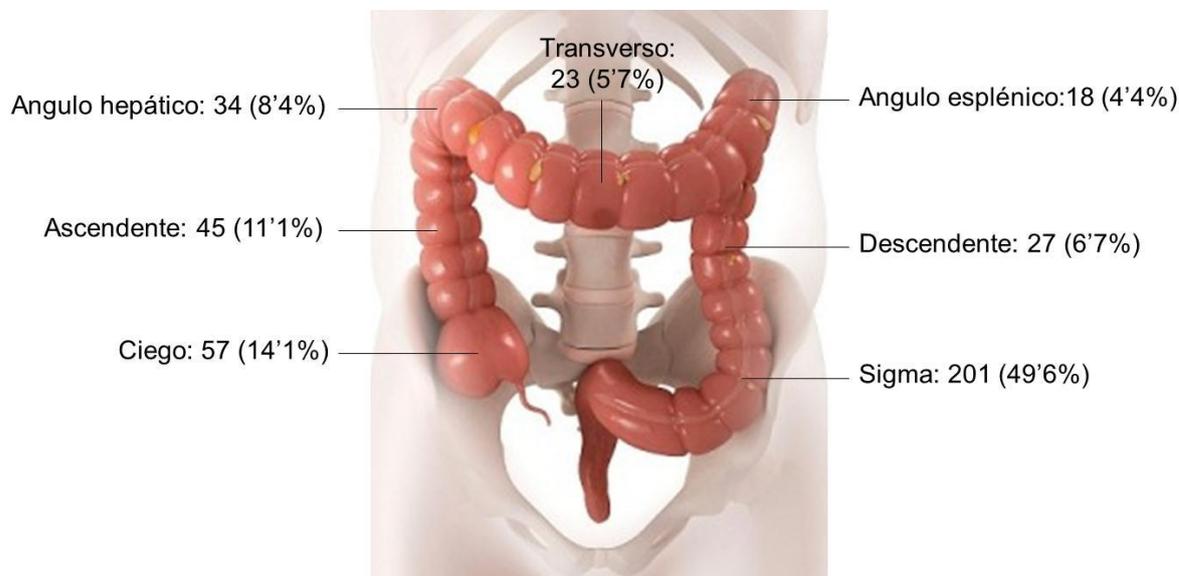


Figura 24. Distribución de los pacientes con cáncer según el segmento de colon afectado.

Su estadiaje de acuerdo con la clasificación TNM de la 7ª edición del Manual de estadiaje del Cáncer AJCC del año 2010 se expresa en la tabla 5, especificándose la relación de pacientes por estadio en la población general y su distribución según se tratara del grupo SCP o CP.

Tabla 5. Estadíaje TNM de la serie según la 7ª edición del AJCC (2.010), con especificación del mismo según presentaran o no recaída peritoneal.

	GENERAL		GRUPOS			
			SCP		CP	
pTpNpM	n	%	n	%	n	%
<i>pTispN0pM0</i>	1	0'2	1	0'3	0	0
<i>pT1pN0pM0</i>	14	3'5	14	3'9	0	0
<i>pT1pN1pM0</i>	1	0'2	1	0'3	0	0
<i>pT2pN0pM0</i>	29	7'2	29	8'1	0	0
<i>pT2pN1pM0</i>	5	1'2	5	1'4	0	0
<i>pT3pN0pM0</i>	151	37'3	145	40'6	6	12'5
<i>pT3pN1pM0</i>	61	15'1	57	16	4	8'3
<i>pT3pN1pM1b</i>	4	1	3	0'8	1	2'1
<i>pT3pN2pM0</i>	17	4'2	16	4'5	1	2'1
<i>pT3pN2pM1a</i>	1	0'2	1	0'3	0	0
<i>pT3pN2pM1b</i>	3	0'7	1	0'3	2	4'2
<i>pT4apN0pM0</i>	30	7'4	26	7'3	4	8'3
<i>pT4apN0pM1b</i>	2	0'5	1	0'3	1	2'1
<i>pT4apN1pM0</i>	18	4'4	15	4'2	3	6'3
<i>pT4apN1pM1b</i>	5	1'2	1	0'3	4	8'3
<i>pT4apN2pM0</i>	12	3	6	1'7	6	12'5
<i>pT4apN2pM1a</i>	1	0'2	0	0	1	2'1
<i>pT4apN2pM1b</i>	7	1'7	2	0'6	5	10'4
<i>pT4bpN0pM0</i>	21	5'2	17	4'8	4	8'3
<i>pT4bpN1pM0</i>	14	3'5	12	3'4	2	4'2
<i>pT4bpN1pM1a</i>	1	0'2	0	0	1	2'1
<i>pT4bpN1pM1b</i>	2	0'5	1	0'3	1	2'1
<i>pT4bpN2pM0</i>	4	1	3	0'8	1	2'1
<i>pT4bpN2pM1b</i>	1	0'2	0	0	1	2'1

Su agrupación por estadio siguiendo esta misma edición, supone el siguiente reparto: 2 (0'5%) pacientes del estadio 0, 42 (10'4%) del estadio I, 151 (37'3%) del estadio IIA, 30 (7'4%) del estadio IIB, 21(5'2%) del estadio IIC, 6 (1'5%) del estadio IIIA, 88 (21'7%) del estadio IIIB, 38 (9'4%) del estadio IIIC, 3 (0'7%) del estadio IVA y 24 (5'9%) del estadio IVB. La distribución de estos enfermos en los grupos SCP y CP puede observarse en la figura 25, donde consta el número de pacientes de cada grupo al pie del diagrama de columnas y su porcentaje entre paréntesis junto a cada columna.

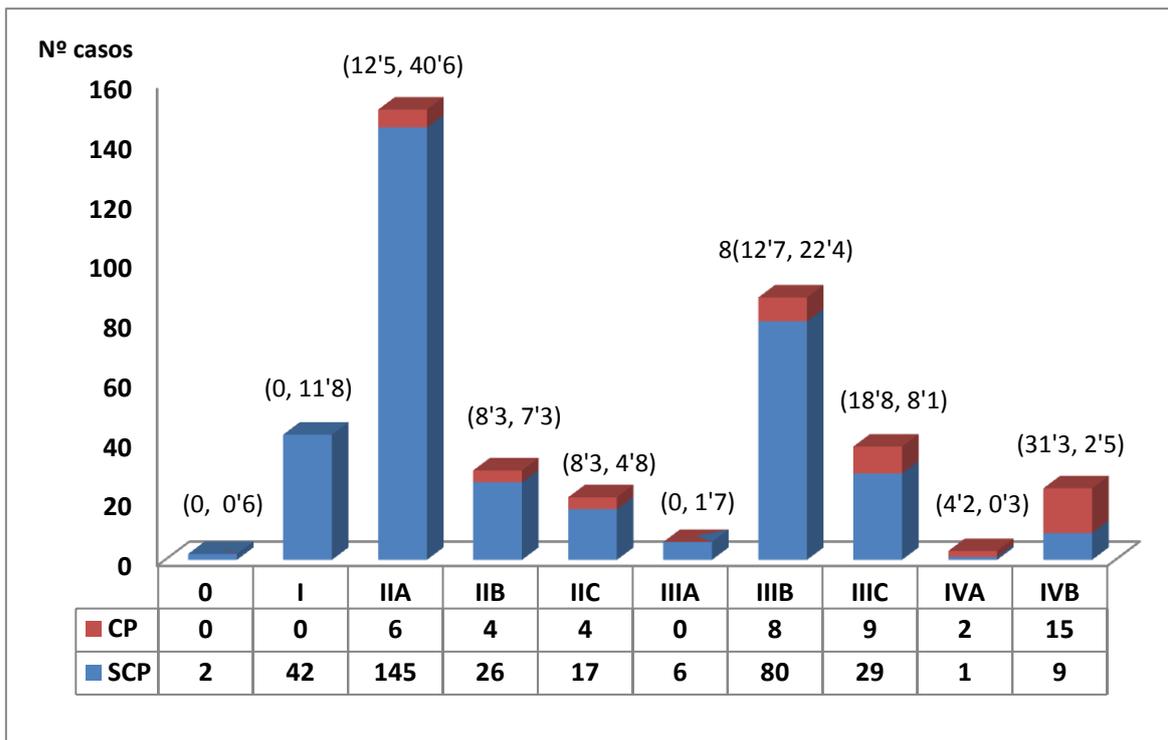


Figura 25. División por estadio de la serie al diagnóstico siguiendo la 7ª edición del AJCC (2.010). En su parte inferior se reseña el número de casos en función del grupo con o sin recurrencia peritoneal (CP/SCP). Entre paréntesis en la imagen se expresa el porcentaje de casos por estadiaje.

1.3.- Formas de recurrencia y tratamiento

Todos los pacientes de la serie presentaron un seguimiento mínimo de 60 meses. En 156 (38'5%) pacientes apareció algún tipo de recurrencia tumoral durante este periodo. Se produjeron 7 (1'7%) pérdidas en algún momento del seguimiento oncológico. Las formas de recidiva se reflejan en la figura 26. La recurrencia carcinomatosa se produjo en 48 (11'8%) de los casos de forma aislada o concomitante con otras formas de recaída.

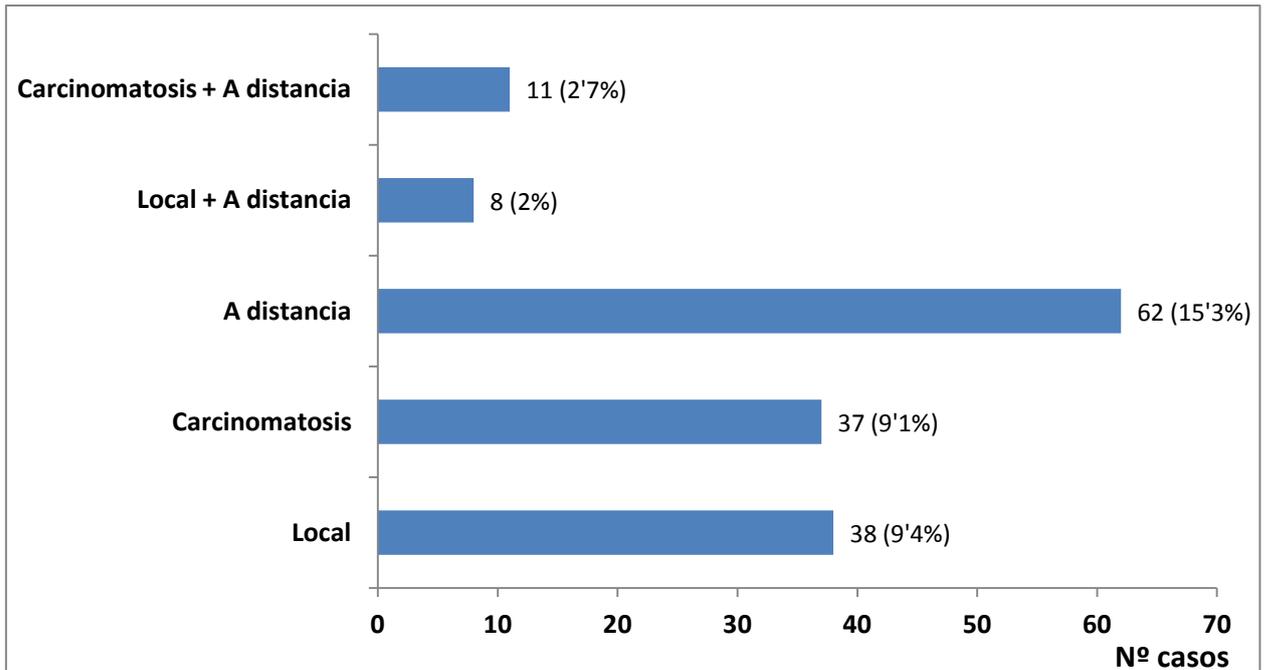


Figura 26. Registro de los tipos de recurrencia tumoral.

De forma conjunta, se produjeron 75 (18'5%) casos de recurrencias limitadas a la cavidad abdominal en forma de recaída local y/o carcinomatosa.

En el grupo SCP se diagnosticaron 108 (30'2%) pacientes con recidiva durante el seguimiento presentándose 38 (10'6%) recurrencias locales, 62 (17'4%) a distancia, 8 (2'2%) locales y a distancia, y 7 (2%) enfermos perdidos durante el seguimiento.

En el grupo CP las recidivas estuvieron condicionadas por el criterio de diseminación peritoneal presentándose 37 (77'1%) pacientes con recidiva carcinomatosa exclusivamente y 11 (22'9%) que presentaron además alguna forma de recurrencia a distancia (figura 27).

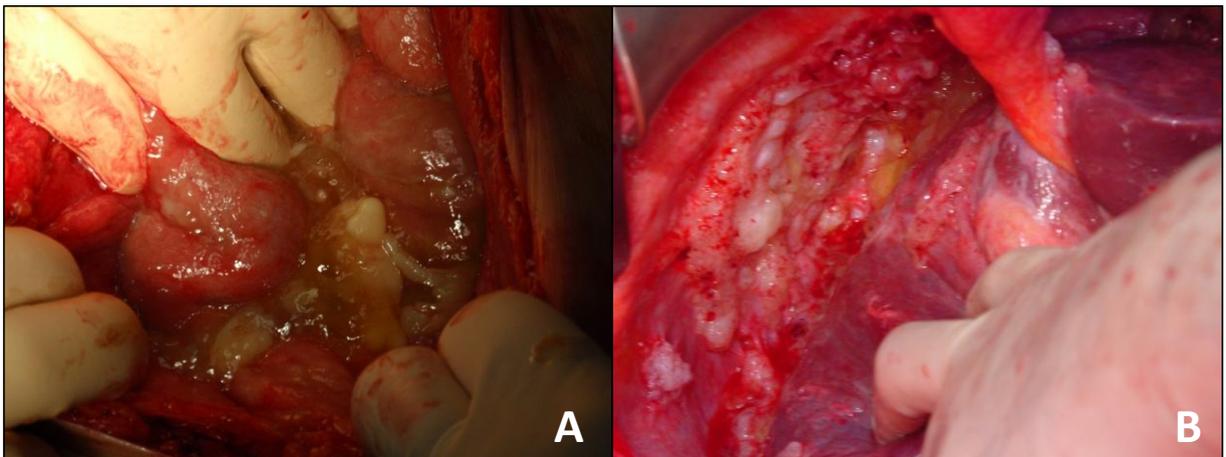


Figura 27. Detalle quirúrgico de dos pacientes que presentaron recaída peritoneal, objetivándose una ascitis mucinosa entre asas de intestino delgado (A) y una afectación extensa por implantes múltiples en el peritoneo diafragmático derecho (B).

Las opciones terapéuticas planteadas con la reaparición de la enfermedad se reflejan en la tabla 6, exponiendo el tratamiento en la población general y en los dos grupos.

Tabla 6. Tratamiento efectuado en los pacientes con recidiva oncológica.

	GENERAL		GRUPOS:			
	n	%	SCP		CP	
n			%	n	%	n
Tratamiento sintomático	52	12'8	34	9'5	18	37'5
Cirugía curativa	11	2'7	11	3'1	0	0
Cirugía paliativa	22	5'4	12	3'4	10	20'8
Cirugía curativa + QT	22	5'4	16	4'5	6	12'5
Cirugía paliativa + QT	10	2'5	5	1'4	5	10'4
QT paliativa	35	8'6	26	7'3	9	18'8
RT paliativa	3	0'7	3	0'8	0	0
RQT paliativa	1	0'2	1	0'3	0	0

QT: Quimioterapia, RT: Radioterapia, RQT: Radioquimioterapia.

1.4.- Estado actual y supervivencia

El cierre del seguimiento oncológico a fecha de 31 de diciembre de 2.014 ha permitido conocer la evolución de todos los pacientes estudiados a excepción de 11 (2'7%), cuya información no ha podido ser evaluada hasta el final del periodo de seguimiento a través de la historia clínica ni localizados telefónicamente.

No obstante, todos los pacientes han tenido un periodo de seguimiento mínimo de 5 años. La supervivencia para este periodo de tiempo, según presentaran recurrencia carcinomatosa o no, se desglosada en la figura 28. La mortalidad atribuida al cáncer supuso que el 65% de los enfermos que desarrollaron recaída peritoneal fallecieron en los dos años siguientes a la intervención quirúrgica mientras que, para ese mismo periodo de tiempo, sólo se produjo un 35% de defunciones entre los pacientes que no presentaron recidiva carcinomatosa ($p=0'001$).

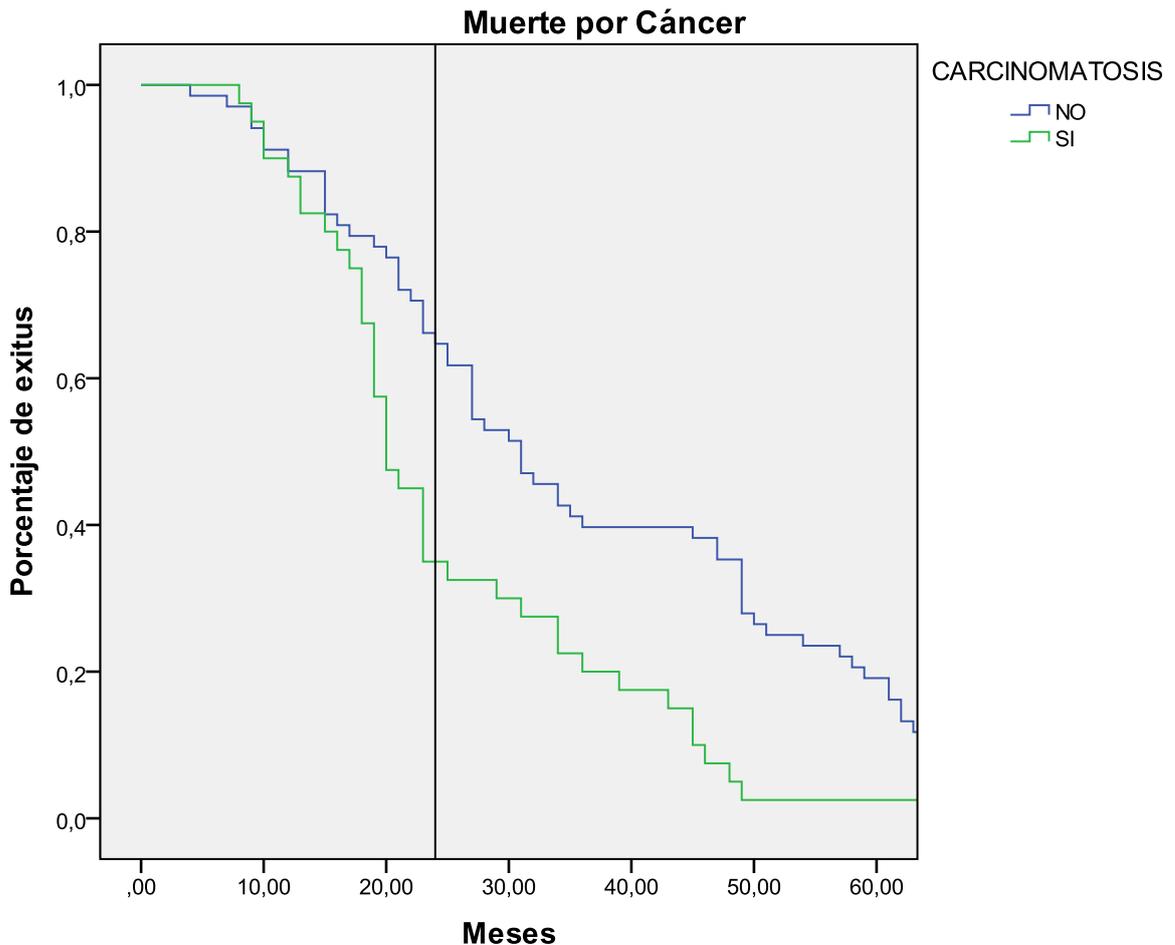


Figura 28. Supervivencia a los 5 años de la población estudiada de acuerdo con la recaída peritoneal.

Su estado actual se resume a 153 pacientes vivos (37'8%) de los cuales 150 (37%) no presentan ningún signo de enfermedad, 114 (28'1%) muertos por progresión del cáncer de colon, 20 (4'9%) fallecimientos con la enfermedad oncológica activa pero por una causa ajena a la misma, 107 (26'4%) muertos por causa ajena al cáncer sin enfermedad activa y 11 (2'7%) enfermos perdidos durante el seguimiento de los cuales sólo se sabe que en el momento de la pérdida 7 (1'7%) estaban libres de enfermedad y 4 (1%) presentaban recurrencia.

En el grupo CP, aunque la totalidad de los 48 pacientes sufrieron recurrencia tumoral sólo sabemos que 41 (85'4%) de ellos fallecieron por el cáncer, 5 (10'4%) por causa ajena al cáncer y 2 (4'2%) se perdieron durante el seguimiento. La mortalidad atribuida a la progresión peritoneal del cáncer en los pacientes con seguimiento hasta su defunción nos ha permitido conocer que 27 casos fallecieron en los dos primeros años y los restantes no superaron el cuarto año desde la intervención quirúrgica.

2.- Estudio de factores de riesgo inespecífico en recaída carcinomatosa

Las variables de riesgo inespecífico para carcinomatosis peritoneal fueron extraídas de la información obtenida a partir del cuestionario creado para este estudio y agrupadas siguiendo el mismo esquema para una mejor interpretación de los resultados. En la tabla 7 se pueden observar todas las variables cuya frecuencia y porcentaje se especifica para el conjunto de la población de estudio y su división en grupo SCP o CP, según hubieran presentado o no recurrencia carcinomatosa. La correlación estadística (p) de las variables y su implicación en el riesgo (OR) de presentar dicha recaída se recogen en columnas contiguas.

La relación del varón con un pronóstico más desfavorable en las diferentes formas de recurrencia del cáncer de colon presupone también su posible influencia negativa para la recaída carcinomatosa. La mayoría del conjunto poblacional fue varón (56'8%). Este predominio masculino se mantuvo en el grupo SCP (57'7%) pero su correlación con el grupo CP no logró ninguna relevancia estadística ($p=0'313$) como factor de riesgo de recidiva carcinomatosa.

En términos generales, la edad media global por grupos fue prácticamente la misma (grupo SCP: $69'8\pm 10'1$ / grupo CP: $69'8\pm 11'1$ años, respectivamente) que la edad media global poblacional. La asociación entre una edad inferior a los 70 años y un mayor riesgo de recaída peritoneal tampoco demostró significación estadística ($p=0'597$) aunque el grupo CP mostrara un porcentaje mayor de casos. No obstante, el corte de edad para el diagnóstico del cáncer sí reflejó un riesgo (OR=1'77) de diseminación peritoneal posterior.

Los antecedentes personales más habituales de nuestros pacientes, considerados como factor de riesgo inespecífico, fueron:

El tabaquismo fue recogido en 146 (36%) pacientes, resultando 133 (37'3%) casos del grupo SCP y 13 (27'1%) del grupo CP, sin apreciar tampoco diferencias significativas ($p=0'171$).

El hábito enólico fue declarado por 105 (25'9%) distribuidos entre 97 (27'2%) del grupo SCP y 8 (16'7%) del grupo CP, no encontrando correlación estadísticamente significativa ($p=0'124$).

La hipertensión arterial, presente en 163 (40'2%) casos, de los cuales 148 (41'5%) se encontraron en el grupo SCP y 15 (31'2%) en el grupo CP. El análisis estadístico no encontró significación ($p=0'178$).

Tabla 7. Modelo univariante para los factores de riesgo inespecífico.

	Variable	General	Grupo SCP (n=357)	Grupo CP (n=48)	p	OR
		n / N (%)	n (%)	n (%)		
Epidemiología	Sexo: Hombre	230 / 405 (56'8)	206 (57'7)	24 (50)	0'313	0'733
	Edad ≤ 70 años	188 / 405 (46'4)	164 (45'9)	24 (50)	0'597	1'77
	Tabaquismo	146 / 405 (36)	133 (37'3)	13 (27'1)	0'171	1'599
	Alcoholismo	105 / 405 (25'9)	97 (27'2)	8 (16'7)	0'124	1'865
	HTA	163 / 405 (40'2)	148 (41'5)	15 (31'2)	0'178	0'642
	Diabetes mellitus	65 / 405 (16)	57 (16)	8 (16'7)	0'901	1'053
	No dislipemia o estatinas	329 / 405 (81'2)	286 (80'1)	43 (89'6)	0'122	0'468
	Antecedentes familiares	25 / 405 (6'2)	24 (6'7)	1(2'1)	0'237	0'295
Análítica	Hemoglobina ≤ 10 gr/dL	82 / 391 (21)	76 (22)	6 (13)	0'166	1'884
	Transfusión perioperatoria	161 / 405 (39'8)	137 (38'4)	24 (50)	0'125	1'606
	Albúmina ≤ 2'5 gr/dL	27 / 336 (8)	25 (8'4)	2 (5'1)	0'482	1'7
	Linfocitos ≤ 20%	144 / 382 (37'7)	116 (34'5)	28 (60'9)	0'001	2'950
	Índice neutrófilo/linfocito ≥ 5	84 / 383 (21'9)	65 (19'3)	19 (41'3)	0'001	2'945
Examen físico	Tumor palpable	51 / 405 (12'6)	47 (13'2)	4 (8'3)	0'348	1'668
Anatomía Patológica	Tamaño tumoral ≥ 5 cm	197 / 344 (57'3)	163 (45'7)	34 (70'8)	0'043	1'982
	Alto infiltrado inflamatorio peritumoral	87 / 122 (71'3)	75 (68'8)	12 (92'3)	0'11	5'44
	Infiltración perineural	63 / 379 (16'6)	41 (12'4)	22 (45'8)	0'000	5'985
	Invasión/permeación vascular	87 / 379 (22'9)	60 (18'1)	27 (56'2)	0'000	5'807
Abordaje abdominal	Laparoscopia	51 / 405 (12'6)	46 (12'9)	5 (10'4)	0'629	0'786
Complicaciones postquirúrgicas	Fístula anastomótica	41 / 405 (10'1)	35 (9'8)	6 (12'5)	0'562	1'314
	Absceso intrabdominal	27 / 405 (6'7)	24 (6'7)	3 (6'3)	0'902	0'925
Adyuvancia	Quimioterapia postoperatoria	140 / 402 (34'8)	112 (31'6)	28 (58'3)	0'000	3'025

La diabetes mellitus se había diagnosticado en 65 (16%) pacientes, presentándose mayoritariamente en el grupo SCP con 57 (16%) casos. En el grupo CP se registraron sólo 8 (16'7%). No se pudo demostrar significación estadística ($p=0'901$) al compararlos.

La ausencia de dislipemia o un tratamiento activo con estatinas fue presentada por 329 (81'2%) enfermos de la población general, repartidos entre 286 (80'1%) del grupo SCP y 43 (89'6%) del grupo CP. No se apreció ninguna diferencia significativa ($p=0'122$) entre ambos.

El tabaco y el alcohol fueron las dos únicas comorbilidades que mostraron asociación con el riesgo de recurrencia ($OR=1'599$ y $1'865$, respectivamente).

En nuestra población a estudio sólo 25 (6'2%) pacientes declararon la existencia de antecedentes familiares para cáncer de colon, considerando que la pregunta fue obligada en todas las anamnesis. La mayoría de los casos estuvieron encuadrados en el grupo SCP portando 24 (6'7%) de los mismos. La representación del grupo CP resultó anecdótica (2'1%). Su valoración no motivó significación estadística ($p=0'237$) ni aportó riesgo ($OR=0'295$) para padecer carcinomatosis en el postoperatorio.

El análisis de los parámetros analíticos relacionados con el riesgo de recidiva peritoneal ofrecieron los siguientes resultados:

La agrupación de pacientes por hemoglobina igual o inferior a 10 gr/dL supuso que 82 (21%) de la población general presentaran esta característica de los cuales 76 (22%) pertenecían al grupo SCP y 6 (13%) al grupo CP. Su análisis tampoco encontró significación ($p=0'166$).

Hubo necesidad de transfusión perioperatoria en un total de 161 (39'8%) pacientes. En el grupo SCP se transfundieron 137 (38'4%) enfermos y en el grupo CP la transfusión se realizó en 24 (50%) casos. La relación entre los dos grupos no estableció diferencias significativas con respecto a la transfusión ($p=0'125$) pero sí riesgo de recidiva carcinomatosa ($OR: 1'606$). Se observó un aumento del riesgo para dicha recaída entre el primero y cuarto concentrado de hematíes trasfundidos, pero ausencia de riesgo a partir de éste sin ninguna explicación estadística.

Por otro lado, tampoco encontramos significación estadística cuando discriminamos la transfusión según se efectuara con carácter preoperatorio ($p=0'527$), intraoperatorio ($p=0'366$) o postoperatorio ($p=0'106$).

Una hipoalbuminemia inferior a 2'5 gr/dL fue expresada en 27 (8%) pacientes, de los cuales sólo 2 (5'1%) formaron parte del grupo CP sin alcanzar significación estadística ($p=0'482$) para el riesgo de diseminación peritoneal postoperatoria.

Se encontró un recuento de linfocitos séricos inferior al 20% en 116 (34'5%) pacientes del grupo SCP mientras que en el grupo CP se observaron 28 (60'9%) enfermos. En este caso se alcanzó significación estadística ($p=0'001$).

Se observó un índice N/L superior a cinco en 84 (21'9%) enfermos, de los cuales 65 (19'3%) pertenecían al grupo SCP y 19 (41'3%) al grupo CP. La diferencia entre ambos grupos también estableció diferencias significativas ($p=0'001$) a favor del segundo.

Todas las variables analíticas seleccionadas y la necesidad de transfusión perioperatoria expresaron riesgo para recaída carcinomatosa (Hb ≤ 10 gr/dL: 1'884, transfusión: 1'606, Ls $\leq 20\%$: 2'950, Índice N/L: 2'945 y Alb $\leq 2'5$ gr/dL: 1'7), independientemente de su significación estadística.

En el examen físico se registró la palpación del tumor en 51 (12'6%) pacientes, pertenecientes 47 (13'2%) casos al grupo SCP y 4 (8'3%) al grupo CP sin apreciar tampoco ninguna correlación estadística ($p=0'348$) aunque sí asociación con el riesgo de padecer recidiva peritoneal (OR=1'668).

En el informe histopatológico se describieron los siguientes signos indirectos asociados al pronóstico de la enfermedad:

Se registraron 197 (57'3%) pacientes con un tamaño tumoral superior a los cinco centímetros fundamentalmente a favor del grupo SCP, que aportó 163 (45'7%) casos. En el grupo CP hubo 34 (70'8%) pacientes que superaron este tamaño. Estas diferencias presentaron valor estadísticamente significativo ($p=0'043$) a favor del grupo de diseminación peritoneal y establecieron un riesgo 1'982 veces mayor de padecer recidiva peritoneal para este tamaño.

La presencia de infiltrado inflamatorio peritumoral fue registrado sólo en 122 (30'1%) de los pacientes, resultado un infiltrado abundante en 87 (21'5%) y escaso en 35 (28'7%). En el grupo SCP, esta información fue aportada en 109 (30'5%) casos presnetando abundante infiltración en 75 (68'8%). En el grupo CP, la variable de infiltrado inflamatorio constó en 13 (27'1%) informes filiándose de abundante en 12 (92'3%) de ellos. La relación entre grupos a razón del abundante infiltrado inflamatorio peritumoral y recidiva carcinomatosa no mantuvo la significación ($p=0'11$) a pesar de indicar un riesgo elevado (OR=5'44) de poder presentarla.

La diseminación del cáncer en forma de infiltración perineural fue documentada en 379 (93'6%) de los pacientes y objetivada en 63 (16'6%) estudios microscópicos, distribuidos entre 41 (12'4%) del grupo SCP y 22 (45'8%) del grupo CP. La correlación de este factor y posibilidad de carcinomatosis posterior durante el seguimiento oncológico encontró diferencias significativas ($p=0'000$) asociando su presencia a un riesgo elevado de padecerla (OR=5'985).

El estudio patológico sobre la invasión/permeación vascular del tumor también fue expresada en la mayoría (93'6%) de los informes histopatológicos, resultando positiva en 87 (22'9%) pacientes, 60 (18'1%) pertenecientes al grupo SCP y 27 (56'2%) al grupo CP. En este caso también encontramos una fuerte significación estadística ($p=0'000$) y un elevado riesgo de carcinomatosis posterior ($OR=5'807$).

El abordaje de la cavidad abdominal se efectuó mediante laparotomía en 354 (87'4%) pacientes y laparoscopia en 51 (12'6%). En los dos grupos se matuvo un claro predominio de la laparotomía. El abordaje laparoscópico se realizó en 46 (12'9%) pacientes del grupo SCP y 5 (10'4%) del grupo CP. En su análisis estadístico no existió significación ($p=0'629$) ni asociación con el riesgo de carcinomatosis peritoneal postoperatoria ($OR=0'786$).

Las complicaciones postoperatorias mayores de carácter infeccioso de posible trascendencia oncológica fueron:

La fístula anastomótica estuvo presente en 41 (10'1%) pacientes de la serie, de los cuales 35 (9'8%) pertenecían al grupo SCP y 6 (12'5%) al grupo CP. La asociación entre dehiscencia anastomótica y recurrencia carcinomatosa tampoco resultó significativa ($p=0'562$) aunque se apreció un cierto riesgo ($OR=1'314$) cuando surgía esta complicación.

Se diagnosticaron 27 (6'7%) abscesos intrabdominales repartidos entre 24 (6'7%) en el grupo SCP y 3 (6'3%) en el grupo CP. Su correlación estadística no apreció significación ($p=0'902$) en el riesgo de carcinomatosis postoperatoria.

Se realizó tratamiento adyuvante en 140 (34'8%) enfermos de los cuales 112 (31'6%) pertenecían al grupo SCP y 28 (58'3%) al grupo CP. La diferencia entre los dos grupos alcanzó relevancia significativa ($p=0'000$) y un riesgo incrementado para recaída peritoneal de 3'025 veces por el hecho de haber recibido algún citostático como adyuvancia.

3.- Estudio de factores de riesgo específicos en recaída carcinomatosa

La estratificación de los factores de riesgo con más relevancia en la literatura ha sido contrastada en nuestra población a estudio para establecer su concordancia según la probabilidad de carcinomatosis peritoneal postoperatoria.

La relación de estos factores se expresa en la tabla 8 siguiendo la estructura del apartado anterior.

Tabla 8. Modelo univariante para factores de riesgo específico en recaída carcinomatosa.

	<i>Variable</i>	<i>General n / N (%)</i>	<i>Grupo SCP (n=357) n (%)</i>	<i>Grupo CP (n=48) n (%)</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>
Factores de alto riesgo	Carcinomatosis peritoneal sincrónica	24 / 405 (5'9)	9 (2'5)	15 (31'3)	0'000	17'222
	Nódulo mesentérico (N1c)	33 / 405 (8'2)	17 (4'8)	16 (33'3)	0'000	10
	Metástasis ovárica sincrónica	2 / 405 (0'5)	0 (0)	2 (4'2)	0'999	*EI
	Perforación tumoral	27 / 405 (6'7)	18 (5)	9 (18'8)	0'001	4'256
Factores de moderado riesgo	Invasión de serosa/órgano adyacente (T4)	118 / 405 (29'1)	84 (23'5)	34 (70'8)	0'000	7'893
	Fistulización inducida por el tumor	3 / 405 (0'7)	2 (0'6)	1 (1'21)	0'289	3'702
	Subtipo mucinoso/anillo de sello	88 / 392 (22'5)	69 (20'1)	19 (39'6)	0'003	2'592
	Citología peritoneal positiva	4 / 22 (18'2)	2 (13'3)	2 (28'6)	0'392	2'6
Factores de bajo riesgo	Infiltración ganglionar	149 / 399 (36'8)	117 (33'3)	32 (66'7)	0'000	3'931
	Intervención quirúrgica urgente	74 / 405 (18'3)	56 (15'7)	18 (37'5)	0'000	3'289
	Obstrucción intestinal	57 / 405 (14'1)	45 (12'6)	12 (25)	0'331	1'739
	CEA \geq 5 ng/mL preoperatorio	126 / 318 (39'6)	106 (37'1)	20 (62'5)	0'007	2'830
	Ca 19.9 \geq 45 U/mL preoperatorio	12 / 86 (14)	11 (14'3)	1 (11'1)	0'795	0'75
	CEA \geq 5 + Ca 19.9 \leq 45 en recidiva	15 / 47 (31'9)	10 (32'3)	5 (31'3)	0'944	0'955
	CEA \geq 5 en recidiva	107 / 131 (81'7)	74 (78'7)	33 (89'2)	0'171	2'23
	Ca 19.9 \geq 45 en recidiva	16 / 47 (34)	10 (32'3)	6 (37'5)	0'720	1'26
	Tumor pobremente diferenciado (G3)	75 / 391 (19'2)	54 (15'7)	21 (43'8)	0'000	4'153
	Localización tumoral proximal	158 / 405 (39)	138 (38'7)	20 (41'7)	0'709	1'124
	Hemorragia tumoral	2 / 405 (0'5)	2 (0'6)	0 (0)	1	0'000

La selección de factores de alto riesgo de recurrencia carcinomatosa presentaron los siguientes resultados:

La presencia de carcinomatosis peritoneal sincrónica al diagnóstico de la enfermedad fue observada en 24 (5'9%) pacientes de nuestra población general. En el grupo SCP se diagnosticó en 9 (2'5%) pacientes y en el grupo CP en 15 (31'3%), existiendo diferencias significativas ($p=0'000$) a favor del segundo. Encontramos una fuerte asociación de esta variable ($OR= 17'222$) con el riesgo de carcinomatosis postoperatoria.

La existencia de nódulos mesentéricos con células malignas en el tejido adiposo pericólico (N_{1c}), como signo indirecto de carcinomatosis peritoneal, se constató 33 (8'2%) enfermos observándose macroscópicamente en 16 (4%) casos y microscópicamente en 17 (4'2%). Su presencia en el grupo SCP se documentó en 17 (4'7%) pacientes de los cuales 8 (2'2%) fueron macroscópicos y 9 (2'5%) microscópicos. Por el contrario, en el grupo CP hubo 16 (33'4%) enfermos con estos nódulos distribuidos en 8 (16'7%) macroscópicos y 8 (16'7%) microscópicos. La relación entre grupos también resultó significativa ($p=0'000$) y una fuerte asociación ($OR=10$) al riesgo de presentar una recurrencia peritoneal.

La metástasis ovárica sincrónica al diagnóstico inicial aconteció sólo en 2 (0'5%) pacientes, ambos pertenecientes al grupo CP (4'2%) lo cual condujo a una estimación imprecisa desde el punto de vista estadístico (*EI).

La perforación del tumor primario se produjo globalmente en 27 (6'7%) pacientes (figura 29), presentándose 18 (5%) en el grupo SCP y 9 (18'8%) en el grupo CP, que representaron el 33'3% de los tumores perforados. Su relación estadística demostró diferencias significativas ($p=0'001$) entre ambos y un riesgo relativo alto ($OR= 4'256$) de padecer diseminación peritoneal durante el seguimiento cuando se producía esta circunstancia.

El análisis de los factores considerados de riesgo moderado derivó en los siguientes resultados:

La invasión de la serosa visceral del colon y/o órgano adyacente (T_4) fue informada en 118 (29'1%) de los informes histopatológicos, habiéndose producido en 84 (23'5%) pacientes del grupo SCP y 34 (70'8%) del grupo CP, que representaron al 28'8% de los tumores que alcanzaron la serosa visceral. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0'000$) con un riesgo 7'893 veces mayor de padecer carcinomatosis peritoneal en presencia de este grado de infiltración parietal.

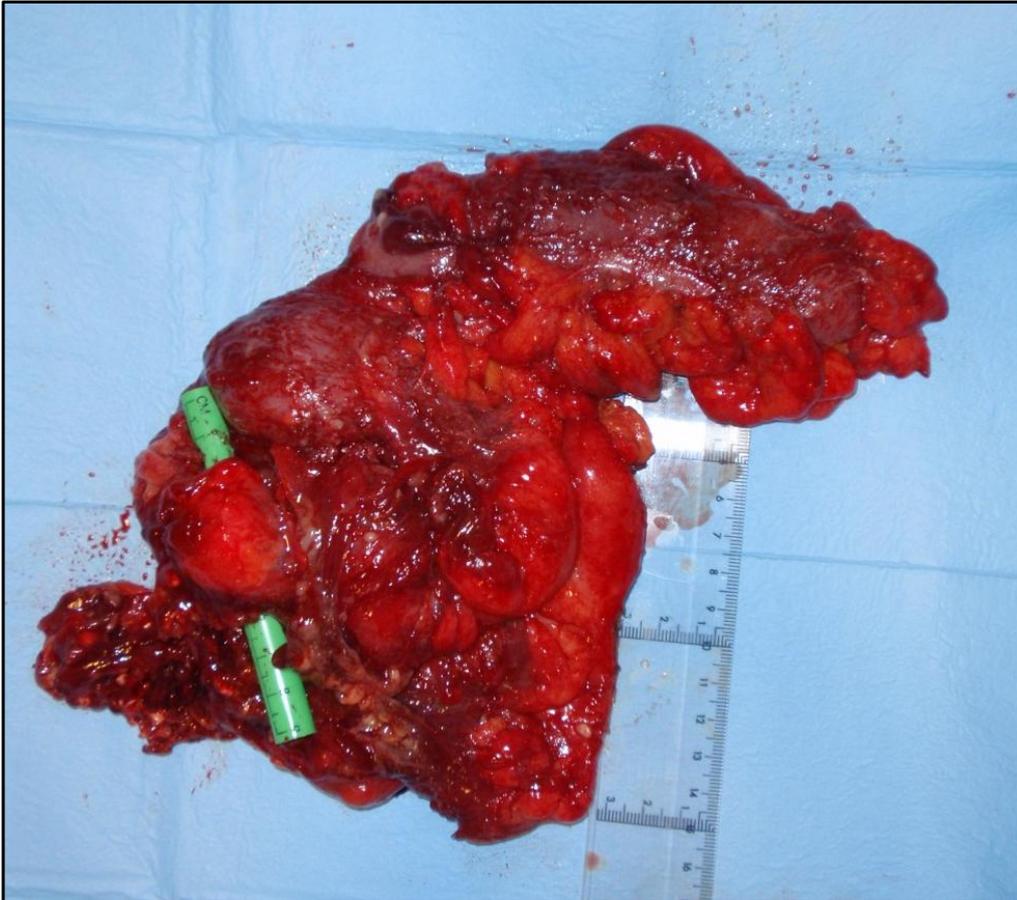


Figura 29. Segmento colónico, correspondiente a una hemicolectomía derecha, que presentó perforación del tumor a nivel de ciego.

La fistulización inducida por el propio tumor primario sobre las estructuras de vecindad sólo se produjo en 3 (0'7%) pacientes, de las cuales 2 (0'6%) se produjeron en el grupo SCP. No se logró significación estadística ($p=0'289$) a pesar de encontrar un llamativo riesgo asociado ($OR=3'702$).

El subtipo histológico mucinoso y en anillo de sello fueron valorados conjuntamente para lograr una mayor potencia estadística observando 88 (21'7%) casos, aunque en 13 informes patológicos estas variables no fueron registradas. En el grupo SCP se diagnosticaron 69 (20'1%) casos y 19 (39'6%) en el grupo CP. Ambos subtipos histológicos presentaron un índice de recidiva peritoneal del 21'6%. La asociación de ambos subtipos estableció significación estadística ($p=0'003$) y una fuerte asociación ($OR=2'592$) con el riesgo de presentar recaída peritoneal.

La citología peritoneal positiva fue escasamente expresiva al presentarla sólo 4 (1%) pacientes sobre el conjunto poblacional, ya que se determinó solamente en 22 (5'4%) de los enfermos. Dicha citología resultó positiva en 2 pacientes de cada grupo (13'3% y 71'4%, respectivamente); sin lograr significación estadística ($p=0'398$) a

pesar de apreciarse un mayor riesgo (OR=2'6) de carcinomatosis postoperatoria para el grupo CP.

Los factores filiados de bajo riesgo para recurrencia carcinomatosa expresaron las siguientes características:

La infiltración ganglionar se produjo en 149 (36'8%) pacientes de los cuales en 65 (16%) la infiltración rebasaba la cápsula. En 6 (1'5%) casos el dato de afectación adenopática estaba ausente en el informe histopatológico. En el grupo SCP, 117 (33'3%) presentaron esta infiltración y la cápsula fue rebasada por el tumor en 44 (12'8%). En el grupo CP la afectación adenopática se observó en 32 (66'7%) pacientes rebasando la cápsula del ganglio 21 (43'7%) de los mismos. El análisis estadístico demostró asociación significativa tanto de la infiltración ganglionar ($p=0'000$) como del hecho de que esta rebasara la cápsula ($p=0'000$) con respecto al riesgo de recidiva carcinomatosa posterior, estableciéndose un riesgo de 3'931 veces mayor para esta recidiva por el simple hecho de presentar afectación ganglionar.

La indicación de intervención quirúrgica urgente se realizó en 74 (18'3%) enfermos. Los restantes 331 (81'7%) de la serie poblacional fueron intervenidos con carácter programado. En el grupo SCP la resección fue programada en 301 (84'3%) y urgente en 56 (15'7%) y en el grupo CP fue programada en 30 (62'5%) y 18 (37'5%) urgentes, encontrando significación estadística ($p=0'000$) para carcinomatosis postoperatoria en los casos operados de forma urgente, asociando la urgencia a un riesgo alto (OR=3'289) de padecer este tipo de recurrencia.

La necesidad de cirugía urgente por obstrucción intestinal se produjo en 57 (14'1%) casos, perteniendo 45 (12'6%) al grupo SCP y 12 (25%) al grupo CP. El análisis de ambos grupos no encontró significación estadística ($p=0'331$) si consideramos la obstrucción como un factor de riesgo asociado a la recidiva carcinomatosa pero se apreció un cierto riesgo de padecerla (OR=1'739) cuando el diagnóstico se llevaba a cabo en obstrucción.

El número y selección de marcadores tumorales en el preoperatorio del cáncer de colon fue influenciado por el modo en que se alcanzó el diagnóstico, pues muchos casos intervenidos de forma urgente carecían de petición, y la protocolización basada en la evidencia científica. En el periodo de realización de este estudio, el médico clínico o cirujano sólo solicitaban el CEA de forma sistemática. El resto de marcadores dependía de su criterio. Encontramos registro del CEA en 318 (78'5%) pacientes, 286 (80'1%) pertenecientes al grupo SCP y 32 (66'7%) al grupo CP, de los cuales 126 (39'6%) presentaron una elevación patológica (>5 ng/mL) del mismo. Esta elevación fue observada en 106 (37'1%) casos del grupo SCP y 20 (62'5%) del grupo CP,

apreciando diferencias significativas ($p=0'007$) entre ambos. La elevación patológica de este marcador expuso un riesgo 2'83 veces de presentar recidiva peritoneal.

Los registros totales de Ca 19.9 fueron sólo 86 (21'2%) resultando elevados en 12 (14%) pacientes, de los cuales 11 (14'3%) se encontraron en el grupo SCP. Su correlación entre grupos no fue significativa ($p=0'795$) ni aportó riesgo a la recurrencia peritoneal (OR=0'75).

La elevación patológica conjunta de los marcadores tumorales CEA y Ca19.9 en el momento de la recidiva fue registrada sólo en 15 (31'9%) pacientes, considerando que sólo 47 casos de la serie poblacional poseían ambas determinaciones; de los cuales 10 (32'3%) pertenecían al grupo SCP y 5 (31'3%) al grupo CP. No se pudo establecer correlación estadística entre ambos grupos ($p=0'944$) ni un riesgo asociado evidente (OR=0'955). En 358 (88'4%) casos de la población a estudio la aportación simultánea de ambos marcadores no fue posible por omisión de uno u otro.

El análisis individualizado de ambos marcadores mostró un CEA patológico en 107 (81'7%) pacientes repartidos entre 74 (78'7%) en el grupo SCP y 33 (89'2%) en el grupo CP, no encontrando diferencias significativas ($p=0'163$) entre ambos pero sí un riesgo de 2'23 veces mayor para carcinomatosis postoperatoria cuando se encontraba elevado.

La presencia de Ca 19.9 patológico en la recidiva se produjo en 16 (34%) pacientes, 10 (32'3%) pertenecientes al grupo SCP y 6 (37'5%) al grupo CP. En este supuesto tampoco se encontró una correlación estadística ($p=0'720$) entre grupos. Su asociación al riesgo de recidiva peritoneal fue 1'26 veces con un valor patológico del mismo.

El grado de diferenciación tumoral (G) expresado en nuestra población general se encontró dividido entre 38 (9'7%) pacientes con tumor bien diferenciado (G_1), 278 (71'1%) moderadamente diferenciado (G_2) y 75 (19'2%) pobremente diferenciado (G_3), en ausencia de casos con indiferenciación glandular (G_4). En 14 (3'4%) enfermos está información no pudo obtenerse del informe histopatológico. Los pacientes con pobre diferenciación tumoral, como factor de riesgo carcinomatoso, se encontraron repartidos entre 54 (15'7%) casos en el grupo SCP y 21 (43'8%) en el grupo CP, apreciando una clara significación estadística ($p=0'000$) a favor del grupo CP con un riesgo adscrito elevado (OR=4'153).

Si consideramos la localización proximal al ángulo esplénico del colon como un factor más asociado al riesgo de este tipo de recurrencia, nuestra población general presentó 158 (39%) tumores proximales de los cuales 138 (38'7%) estaban encuadrados en el grupo SCP y 20 (41'7%) en el grupo CP. La asociación de esta

localización con la diseminación peritoneal postquirúrgica no presentó diferencias significativas ($p=0'709$) aunque sí un leve riesgo ($OR=1'124$).

La hemorragia tumoral fue documentada exclusivamente en 2 (0'5%) pacientes de toda la población estudiada, ambos pertenecientes al grupo SCP (0'6%), sin lograr ningún tipo de significación estadística ni riesgo asociado a dicha recidiva.

4.- Estudio inmunohistoquímico

La categorización de pacientes por factores de riesgo específico para recurrencia carcinomatosa o bien la recidiva peritoneal con o sin otras formas de metástasis a distancia permitió la realización de las técnicas inmunohistoquímicas seleccionadas a 87 pacientes, que representan el 21'5% de nuestra población de estudio.

4.1. c-Met

El marcaje para c-Met pudo ser valorado en la totalidad de los pacientes seleccionados. De forma global, fue el biomarcador con mayor número de casos que presentaron tinción negativa (71'3%).

Su discriminación según el paciente hubiera presentado recurrencia carcinomatosa o no (tabla 9) mostró una inmunotinción positiva favorable al grupo con recaída peritoneal con 16 (33'3%) casos mientras que en ausencia de esta forma de recidiva sólo en 9 (23'1%) casos resultó positiva. La diferencia entre ambos grupos mostró una tendencia a la asociación entre expresión postiva de c-Met y recidiva peritoneal aunque no se alcanzó significación estadística ($p=0'074$).

Una de las características microscópicas más sobresalientes de c-Met fue la intensa y difusa tinción citoplasmática en las muestras positivas (figura 30).

Tabla 9. Características de la inmunotinción para c-Met y análisis univariante para riesgo de recurrencia peritoneal.

		c-MET		
		General (n=87)	Grupo SCP (n=39)	Grupo CP (n=48)
		n (%)	n (%)	n (%)
Tasa de células positivas (%)	0	62 (71'3)	30 (76'9)	32 (66'6)
	1 a 9	9 (10'3)	6 (15'4)	3 (6'2)
	10 a 19	2 (2'4)	0	2 (4'2)
	20 a 29	3 (3'4)	2 (5'1)	1 (2'1)
	30 a 39	3 (3'4)	0	3 (6'2)
	40 a 49	2 (2'4)	0	2 (4'2)
	50 a 59	1 (1'1)	0	1 (2'1)
	60 a 69	1 (1'1)	0	1 (2'1)
	70 a 79	2 (2'4)	0	2 (4'2)
	80 a 89	1 (1'1)	1 (2'6)	0
	90 a 100	1 (1'1)	0	1 (2'1)
	No valorable	0		
				p 0'074
Intensidad de inmunotinción	Negativa	62 (71'3)		
	Leve (1+)	14 (16'1)		
	Moderada (2+)	10 (11'5)		
	Alta (3+)	1 (1'1)		
	No valorable	0		

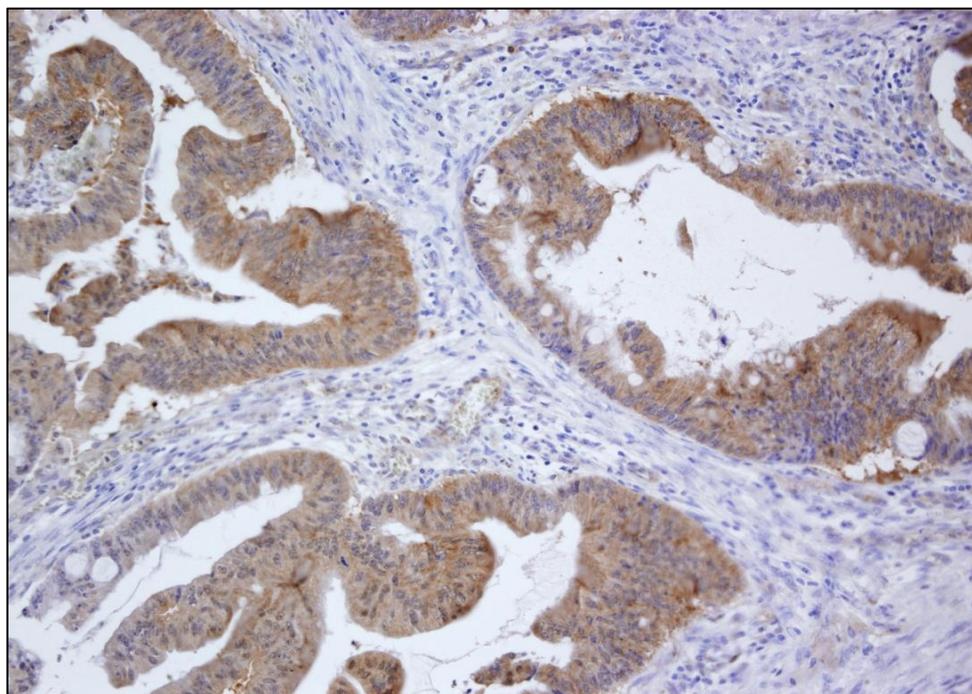


Figura 30. Inmunotinción para c-Met en un fragmento tumoral de origen colónico.

4.2. IGF-1

Una inmunotinción defectuosa de este biomarcador en 3 (3'4%) pacientes redujo su evaluación a 84 enfermos de los cuales 47 (55'9%) presentaron una tinción positiva. En su valoración de acuerdo con la recurrencia carcinomatosa se observó una clara tendencia a favor del grupo con recaída peritoneal, en el cual una tasa de células positivas superior al 80% fue observada en 10 (20'8%) de las muestras (tabla 10).

El análisis estadístico de este biomarcador indicó una diferencia estadísticamente significativa a favor del grupo con recaída peritoneal ($p=0'022$) aunque sin relevancia en cuanto al riesgo de desarrollarla (OR: 1'017).

En cuanto a la intensidad, la mayoría de los pacientes presentaron una tinción negativa (42'5%) y, entre los restantes, la expresión fue leve o moderada en el 51'7%. La intensidad alta resultó anecdótica (2'3%).

Tabla 10. Características de la inmunotinción para IGF-1 y análisis univariante para riesgo de recurrencia peritoneal.

		IGF-1		
		General (n=87)	Grupo SCP (n=36)	Grupo CP (n=48)
		n (%)	n (%)	n (%)
Tasa de células positivas (%)	0	37 (42'5)	20 (55'6)	17 (35'4)
	1 a 9	2 (2'4)	2 (5'6)	0
	10 a 19	8 (9'1)	2 (5'6)	6 (12'5)
	20 a 29	1 (1'1)	0	1 (2'1)
	30 a 39	6 (7)	5 (13'9)	1 (2'1)
	40 a 49	1 (1'1)	0	1 (2'1)
	50 a 59	4 (4'6)	1 (2'7)	3 (6'3)
	60 a 69	6 (7)	1 (2'7)	5 (10'4)
	70 a 79	7 (8)	3 (8'3)	4 (8'3)
	80 a 89	12 (13'8)	2 (5'6)	10 (20'8)
	90 a 100	0	0	0
	No valorable	3 (3'4)		
			p 0'022	OR 1'017
Intensidad de inmunotinción	Negativa	37 (42'5)		
	Leve (1+)	25 (28'7)		
	Moderada (2+)	20 (23)		
	Alta (3+)	2 (2'3)		
	No valorable	3 (3'4)		

La inmunotinción de IGF-1 presentó un marcaje muy intenso en algunas células neuroendocrinas, linfocitos de la periferia a los centros germinales y las membranas de algunos plexos nerviosos. Estas características se observaron tanto en las muestras de adenocarcinoma de colon como en el tejido tiroideo utilizado como control de la técnica inmunohistoquímica (figura 31).

En algunos pacientes con mayor marcaje de área (>60%) e intensidad (2 o 3+) para IGF-1 se apreció una marcada tinción linfática a modo de linfangitis carcinomatosa o metástasis en tránsito.

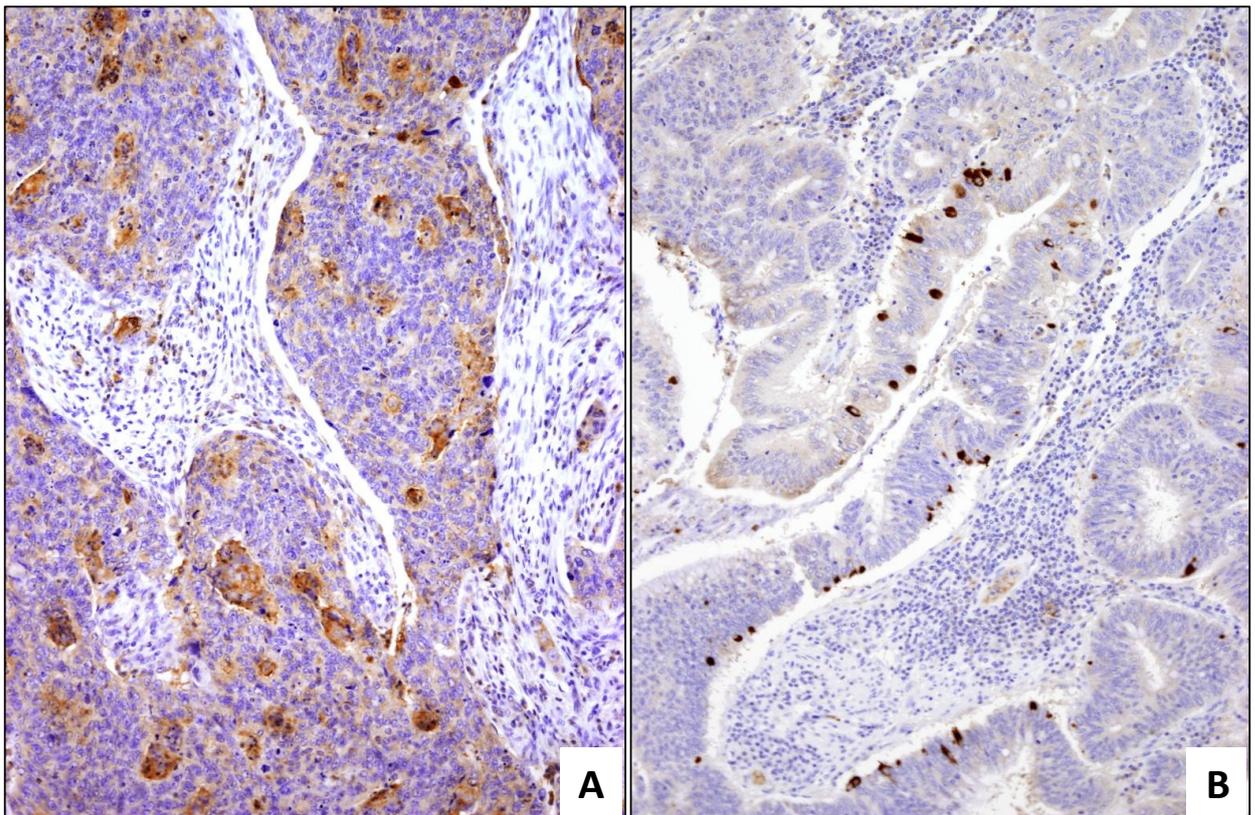


Figura 31. Inmunotinción para IGF-1. A) Tinción positiva en células tumorales colónicas. B) Inmunomarcaje para células neuroendocrinas en la mucosa normal del colon.

4.3. *Plexina β_1*

Este biomarcador presentó una inmunotinción defectuosa en el mismo número de casos que el IGF-1 reduciendo también su evaluación a los 84 casos restantes seleccionados.

El marcaje de esta inmunotinción fue positiva en 69 (79'4%) casos resultando ser el inmunomarcador con más registros de tinción positiva (tabla 11). Por otro lado, es digno de reseñar que el número de muestras con una tasa de positividad superior al 80% fue superior a las presentadas por los dos anteriores.

Al igual que el IGF-1, la plexina β_1 expresó una asociación significativa ($p=0'021$) al agrupar los pacientes por recurrencia carcinomatosa. No obstante, su odd ratio no fue muy elevado (OR: 1'017).

La intensidad de la plexina β_1 fue preferentemente moderada (41'4%) pero fue el biomarcador en el que más pacientes expresaron una intensidad alta (9'2%).

Tabla 11. Características de la inmunotinción para plexina β_1 y análisis univariante para riesgo de recurrencia peritoneal.

		Plexina β_1		
		General (n=87)	Grupo SCP (n=36)	Grupo CP (n=48)
		n (%)	n (%)	n (%)
Tasa de células positivas (%)	0	15 (17'2)	8 (22'2)	7 (14'6)
	1 a 9	2 (2'4)	2 (5'6)	0
	10 a 19	14 (16'1)	5 (13'9)	9 (18'8)
	20 a 29	5 (5'7)	4 (11'1)	1 (2'1)
	30 a 39	5 (5'7)	3 (8'3)	2 (4'2)
	40 a 49	7 (8)	4 (11'1)	3 (6'2)
	50 a 59	4 (4'6)	1 (2'7)	3 (6'2)
	60 a 69	10 (11'5)	5 (13'9)	5 (10'4)
	70 a 79	5 (11'5)	0	5 (10'4)
	80 a 89	6 (7)	2 (5'6)	4 (8'3)
	90 a 100	11 (12'6)	2 (5'6)	9 (18'8)
	No valorable	3 (3'4)		
			p 0'021	OR 1'017
Intensidad de inmunotinción	Negativa	15 (17'2)		
	Leve (1+)	25 (28'7)		
	Moderada (2+)	36 (41'4)		
	Alta (3+)	8 (9'2)		
	No valorable	3 (3'4)		

El marcaje de plexina β_1 resultó muy llamativo en los tumores mucinosos o con patrón en anillo de sello (figura 32). En este biomarcador también destacó la inmunotinción nuclear de ciertas células y que algunos tumores presentaban más inmunotinción en las zonas donde cambiaba su fenotipo hacia la desdiferenciación, de tal suerte que en las áreas más indiferenciadas era difícil distinguir entre células indiferenciadas y estromales. En algunos casos, se aprecia la presencia de células sueltas intensamente teñidas para plexina β_1 en el estroma y en el frente de invasión tumoral.

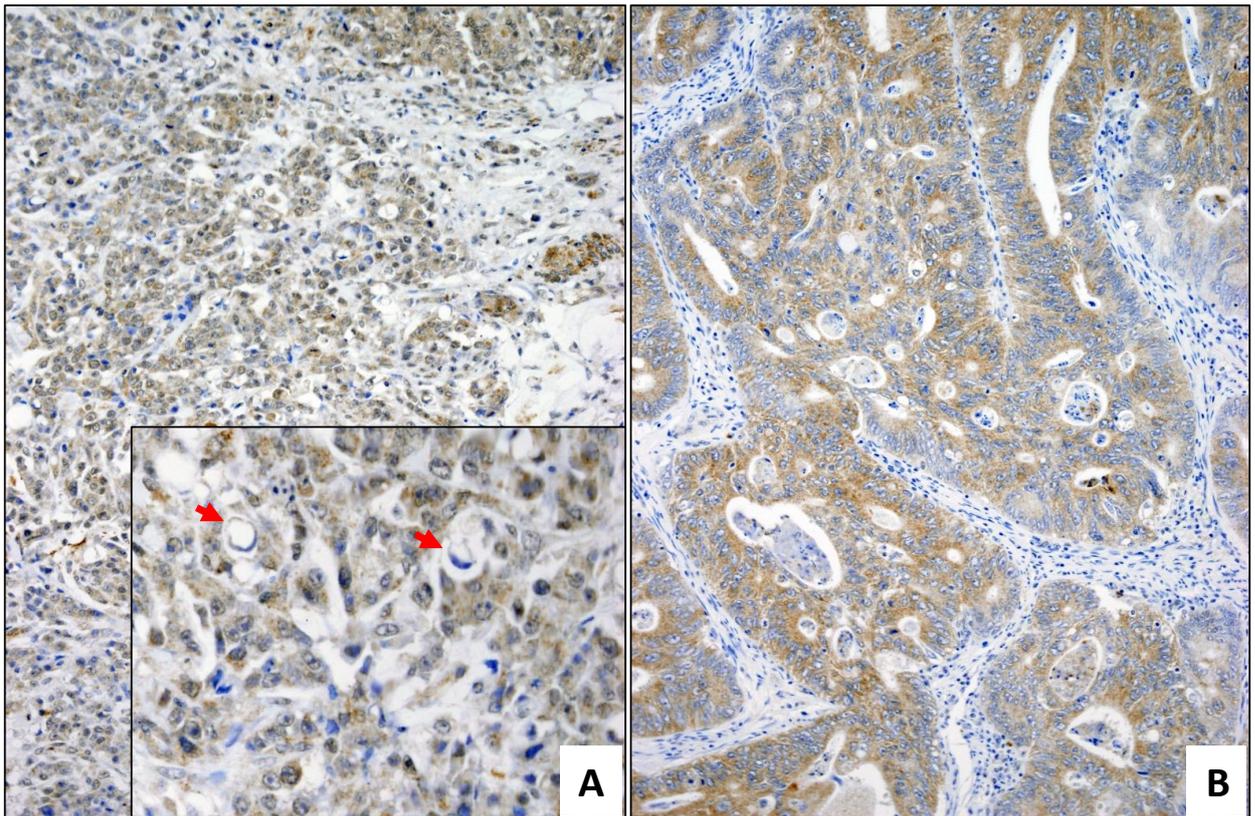


Figura 32. Inmunotinción para Plexina β_1 . A) Tinción positiva en células tumorales colónicas. Obsérvese la inmunopositividad de las células con morfología en anillo de sello (flecha). B) Inmunomarcaje intensamente positivo en otra muestra de adenocarcinoma colónico de fenotipo convencional.

4.4. Colágeno XI α_1

La inmunotinción para colágeno XI α_1 , cuantificada como positiva o negativa por las características de la expresión de dicho colágeno, fracasó inicialmente por cuanto que las muestras disponibles para el estudio se encontraban en parafina y aunque se intentó poner a punto la técnica inmunohistoquímica para este soporte, ésta fue inefectiva. Su evaluación con tumores obtenidos a partir de las biopsias endoscópicas realizadas, de acuerdo con nuestra experiencia en el estudio de otros tumores malignos, resultó positiva en todas las muestras analizadas (figura 33).

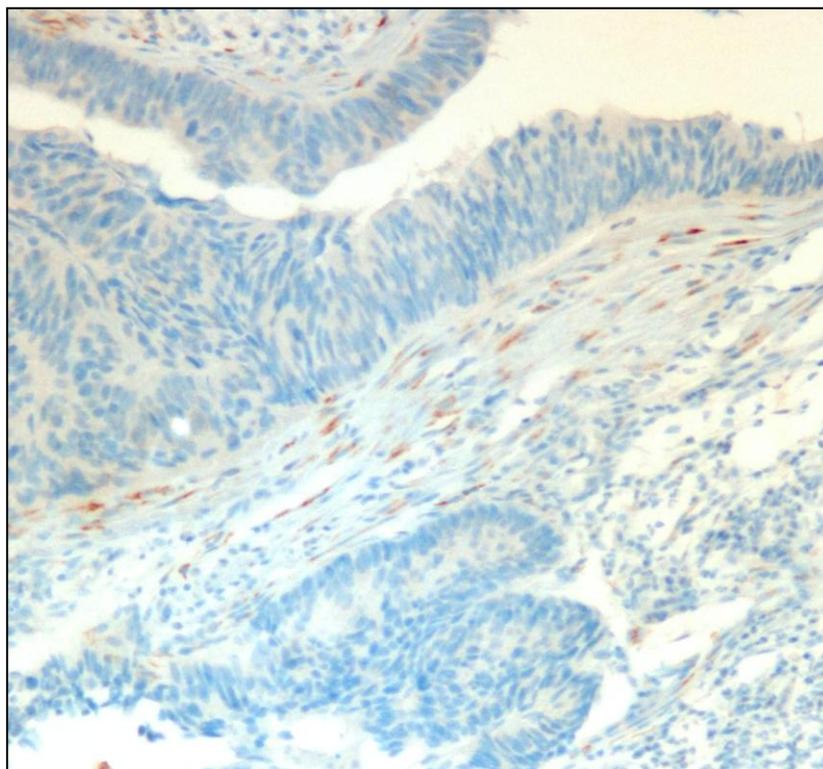


Figura 33. Inmunotinción para Colageno XI α_1 . Se observa el marcaje de los fibroblastos asociados a tumor en el estroma circundante.

Por último, la valoración conjunta de los marcadores inmunohistoquímicos por el porcentaje de células afectadas y la intensidad de la tinción no supuso ninguna aportación para el histoscore resultante debido a la imprecisión del riesgo cuando la intensidad se dividía en leve, moderada o alta. Por este motivo, se ha preferido asociar sólo el primer indicador con el riesgo de recurrencia carcinomatosa en el análisis estadístico efectuado.

5.- Modelo predictivo de riesgo carcinomatoso

El análisis univariante de los posibles factores de riesgo para recurrencia carcinomatosa en cáncer de colon intervenido con intención curativa fue discriminado según la significación estadística para cada factor, seleccionando aquellos con $p \leq 0,25$, o por la relevancia clínica que suponíamos para determinadas variables.

5.1.- Escala de riesgo clínico e histopatológico

Se planificó un análisis multivariante de los factores de riesgo con significación estadística para una $p \leq 0,25$ en el análisis univariante. A pesar de su significación

estadística, se excluyeron todas las variables cuyo registro estaba presente en menos del 75% de la población estudiada, salvo que fuera considerada clínicamente relevante, por la influencia negativa que podría aportar un número limitado de pacientes sobre este análisis, y por los siguientes razonamientos:

La influencia del tabaquismo y el alcoholismo podría estar sujeta a una fuerte susceptibilidad individual para cada paciente.

La transfusión perioperatoria tampoco fue valorada por la incertidumbre que generó sobre el riesgo de recidiva a partir del cuarto concentrado de hematíes.

El número de pacientes que declararon antecedentes familiares de cáncer de colon podría ser inexacto por desconocimiento del paciente o falta de diagnóstico de la enfermedad en el familiar.

La escasa información aportada sobre la abundancia de infiltrado inflamatorio peritumoral en muchos de los informes histopatológicos hace que desconozcamos su influencia real en estos casos.

Un CEA ≥ 5 ng/mL en la recidiva también fue descartado en este análisis al haber sido solicitado en un número relativamente pequeño de pacientes.

La selección final de las variables permitió obtener 18 posibles factores de riesgo en recaída peritoneal: hipertensión arterial, ausencia de dislipemia, hemoglobina ≤ 10 gr/dL, linfocitosis $\leq 20\%$, índice neutrófilo/linfocito ≥ 5 , CEA preoperatorio ≥ 5 ng/mL, intervención quirúrgica urgente, adyuvancia, carcinomatosis peritoneal sincrónica, perforación tumoral, presencia de nódulo mesentérico (N1c), tamaño tumoral ≥ 5 centímetros, infiltración del peritoneo visceral o de órganos adyacentes (T_4), pobre diferenciación tumoral (G_3), infiltración perineural, invasión/permeación vascular, presencia de adenopatías positivas (N^+) y subtipo histológico mucinoso o en anillo de sello.

Estos factores fueron analizados mediante un modelo “condicional por pasos hacia atrás” a modo de screening de las variables más importantes con el objeto de ofrecernos una pista sobre las variables de mayor interés que podrían tener relevancia en el análisis multivariante; y un modelo “enter” ó “directo” en el que se valoraron las variables seleccionadas de interés y aquellas otras que podrían ser relevantes pero no ejercían presión estadística.

El valor de corte seleccionado por el sistema fue de 0'5 estableciendo una sensibilidad y especificidad máxima del 46'7 y 89'7% respectivamente, lo cual presupone que nos hace perder muchos pacientes que realmente tendrían recidiva peritoneal.

Por este motivo, establecimos arbitrariamente un valor de corte de 0'15 en los dos modelos con lo que la sensibilidad aumentaba al 70'8% y la especificidad

disminuía al 81'1% en el modelo “condicional por pasos hacia atrás” mientras que en el modelo “enter” se conseguía una sensibilidad del 77'1% y una especificidad del 82'6%. Esto significa que todo resultado por encima del 15% en la fórmula matemática tendrá la sensibilidad y especificidad referida, lo cual nos parece más aceptable a la hora de captar pacientes de riesgo cuya identificación se podría beneficiar de algún tipo de actitud profiláctica o terapéutica.

A la vista de estos resultados, nos decantamos por el modelo “enter” ó “directo” para realizar el análisis multivariante (tabla 12) de los factores de riesgo seleccionados ya que parece predecir mejor el riesgo de recurrencia carcinomatosa.

Tabla 12. Análisis multivariante de los factores de riesgo clínicos e histopatológicos.

Variable	Coficiente β	p	OR	IC 95%
Hb \leq 10 gr/dL	1'545	0'025	4'688	1'209 - 18'176
CEA preoperatorio \geq 5 ng/mL	0'856	0'083	2'354	0'895 - 6'196
Carcinomatosis peritoneal sincrónica	1'858	0'008	6'411	1'619 - 25'381
Nódulo mesentérico (V_{1-2})	1'291	0'039	3'638	1'067 - 12'405
Tamaño tumoral \geq 5 cm	1'028	0'076	2'796	0'896 - 8'723
Infiltración serosa y/o órgano (T_4)	1'103	0'034	3'013	1'085 - 8'370
Infiltración perineural	1'701	0'001	5'480	1'982 - 15'153
Constante	5'958	0'000	0'003	

Todas las variables consideradas como factor predictor de riesgo alcanzaron significación estadística y un fuerte riesgo relativo. En base a este modelo, establecemos la siguiente fórmula de predicción de riesgo de carcinomatosis peritoneal postoperatoria según los resultados anteriormente descritos.

Fórmula clínico-histológica:

$$\text{Logit CPp (Cl-H)} = -5'958 + (1'545 \times \text{Hb} \leq 10 \text{ gr/dL}) + (0'856 \times \text{CEA preop} \geq 5 \text{ ng/dL}) + (1'858 \times \text{CPs}) + (1'291 \times V_{1-2}) + (1'028 \times \text{Tt} \geq 5 \text{ cm}) + (1'103 \times T_4) + (1'701 \times \text{Inf perineur})$$

Todas las variables de la fórmula son categóricas y se expresan como sigue:

Presencia del factor de riesgo considerado = 1

Ausencia del factor de riesgo considerado = 0

La aplicación de esta fórmula para cada paciente tiene como resultado un valor numérico que podemos transformar en probabilidad ó riesgo de recaída carcinomatosa mediante la siguiente ecuación: $e^{\text{logitCPp}} / 1 + e^{\text{logitCPp}}$.

El resultado de esta ecuación también es de carácter numérico, de forma que su multiplicación por 100 permite conocer el porcentaje ó probabilidad de riesgo que tiene dicho paciente de presentar una recurrencia carcinomatosa después de una resección curativa del cáncer de colon.

5.2.- Aplicación inmunohistoquímica al modelo predictivo

Se realizó un intento de unificar los hallazgos inmunohistoquímicos en la fórmula matemática previa pero el escaso número de pacientes a los que se realizó esta técnica histológica provocó una pérdida considerable de la potencia estadística de la fórmula final. Al mismo tiempo, esta escasa muestra poblacional podría estar sesgando el riesgo real de otros factores que quedaban excluidos al no alcanzar significación estadística.

Por tanto, hemos preferido elaborar una fórmula matemática paralela en base al modelo “enter” (tabla 13) en donde el biomarcador IGF-1 careció de significación estadística para formar parte de la fórmula. El colágeno XI α_1 fue descartado de este cálculo al considerarse un biomarcador de malignidad pero no predictor de recurrencia.

Tabla 13. Análisis multivariante de los factores de riesgo inmunohistoquímico

Variable	Coefficiente β	p	OR	IC 95%
Porcentaje de c-Met	0'027	0'098	1'028	0'995 - 1'061
Porcentaje de plexina β_1	0'016	0'030	1'016	1'001 - 1'030
Constante	0'503	0'166	0'605	

El porcentaje de células teñidas expresado por el patólogo para c-Met y plexina β_1 alcanzaron significación estadística pero una pobre influencia en el riesgo relativo. En este supuesto, la fórmula de predicción de riesgo para recaída carcinomatosa postoperatoria según estos biomarcadores se expresa a continuación.

Fórmula inmunohistoquímica:

$$\text{Logit Cpp (IHQ)} = - 0'503 + (0'027 \times \% \text{ de c-Met}) + (0'016 \times \% \text{ de plexina } \beta_1)$$

Las dos variables de esta fórmula matemática son numéricas de tal suerte que el porcentaje de cada biomarcador será el informado por el patólogo para cada caso.

Al igual que en la fórmula anterior, su resultado es un valor numérico que deberá transformarse en probabilidad ó riesgo de recaída carcinomatosa mediante la misma ecuación. La multiplicación de esta probabilidad por 100 permitirá conocer porcentaje de riesgo para recurrencia peritoneal de un paciente concreto con respecto al estudio inmunohistoquímico de estos dos biomarcadores.

DISCUSIÓN

1.- Coherencia de nuestra población

El cáncer colorrectal es una enfermedad con alta prevalencia a nivel mundial con tasas muy elevadas en la cultura occidental lo cual revela la importancia de los factores ambientales en su etiología. En nuestra comunidad existe un gran paralelismo con la mayoría de los países industrializados al encontrarse entre los tres primeros tumores malignos en términos de incidencia y mortalidad.

En nuestro estudio, cualquier valoración epidemiológica de la enfermedad se encuentra sesgada por los criterios de inclusión y exclusión pero resulta evidente que la distribución de los pacientes por área geográfica mantiene concordancia con su censo poblacional.

La valoración mundial del cáncer colorrectal estima una incidencia anual ligeramente favorable al varón, que en los últimos años tiende a igualarse con la mujer, con un número creciente de casos a partir de la cuarta década y una máxima expresión de la enfermedad entre la sexta y la séptima década². Estos datos concuerdan con nuestra serie poblacional que mostró un ligero predominio masculino (56'8%) para una edad media de presentación de $69'8 \pm 10'1$ años.

A nivel semiológico, nuestros pacientes mantuvieron similitud con la presentación clínica aportada por otros autores, para los cuales el síntoma más frecuente también fue el dolor abdominal²²⁵ seguido de los cambios del hábito intestinal. En nuestra serie, el dolor y los cambios del tránsito intestinal mantuvieron porcentajes de frecuencia muy similares, 48'9 y 48'6% respectivamente. El resto de síntomas y signos presentó porcentajes variables destacando la rectorragia/hematoquecia (35'6%), tradicionalmente el primer síntoma de la enfermedad, y la pérdida de peso (34'1%). Pensamos que todos ellos en conjunto forman parte del cuadro sindrómico al diagnóstico sin ningún valor en la predicción de recurrencia, aunque su presencia debería asociarse a un peor pronóstico.

La distribución del cáncer de colon pudiera estar cambiando en los últimos años con un aumento de la incidencia de la localización proximal y un comportamiento más agresivo en forma de recurrencia locorregional²²⁶. Sin embargo, en nuestra serie, la ubicación distal al ángulo esplénico estuvo presente en más de la mitad de los casos con valores de frecuencia similares a los expresados por otros grupos de investigación que siguieron nuestra misma distribución anatómica y periodo de estudio²²⁷.

De acuerdo con la clasificación utilizada para el estadiaje tumoral la mayoría de los pacientes con recaída peritoneal (70'8%) presentaron un estadio IIIB o superior. Sin embargo, en 14 (29'2%) casos dicha recaída se produjo con estadijes aparentemente de buen pronóstico (IIA-IIIC). Pensamos que la evolución desfavorable que sufrieron estos pacientes debe estar orquestada por otros factores, quizás desconocidos, que intentaremos esclarecer en el transcurso de este estudio de investigación.

La tasa de recurrencia carcinomatosa en nuestra población fue del 11'8% (48/405) en los cinco años siguientes a la resección realizada con intención curativa. Estas cifras mantienen cierta concordancia con la literatura que estima una recurrencia peritoneal inicial del 10-20% con un riesgo acumulado del 6% en los cinco años siguientes a la cirugía curativa practicada^{228, 229}, aunque algunos autores han sugerido porcentajes que alcanzan la mitad de los casos.

Probablemente, nuestra tasa sea algo mayor ya que algunos enfermos que presentaron metástasis a distancia fueron tratados de forma paliativa sin profundizar en ningún estudio que descartara la recurrencia peritoneal. A pesar de esta limitación, pensamos que el porcentaje presentado de recurrencia peritoneal está bastante aproximado a la realidad puesto que diferenciamos la recurrencia local propiamente dicha como una entidad diferente de la carcinomatosis y en los pacientes con recaída carcinomatosa se especificó los que exclusivamente tuvieron diseminación peritoneal.

En este sentido, se diagnosticaron 37 (9'1%) enfermos con recaída peritoneal aislada, manteniendo concordancia con el 5-15% expresada por otros autores.

Todos los pacientes que presentaron recaída peritoneal fallecieron sin superar los 4 años de seguimiento oncológico y el 65% de estos enfermos fallecieron en los dos años siguientes a la intervención quirúrgica. Esto supone una tasa de supervivencia del 35% a los dos años, aspecto contrasta con los resultados expresados en la literatura con supervivencias medias del 13% para el mismo periodo de tiempo. Sería interesante una valoración de los posibles factores que han marcado esta diferencia.

Por otro lado, la tasa de supervivencia en relación con la mortalidad atribuida al cáncer mostró una diferencia estadística ($p=0'001$) dependiendo de que el paciente presentara recurrencia peritoneal o no, lo cual confirma la agresividad de esta forma de recidiva tumoral.

En la actualidad, la posibilidad de un tratamiento combinado de cirugía citorreductora y quimioterapia intraperitoneal hipertérmica ha cambiado completamente las expectativas de estos enfermos consiguiendo una supervivencia global del 42% a los 5 años⁸⁶.

Quizás, la determinación de un modelo predictivo de factores de riesgo para la enfermedad nos permita anticiparnos a la recidiva y mejorar la supervivencia de estos pacientes.

2.- Implicación carcinomatosa de los factores inespecíficos de riesgo carcinomatoso

Se ha descrito una gran variedad de factores asociados con la recidiva global del cáncer de colon. Algunos autores^{151, 223} han intentado, con mayor o menor acierto, encontrar aquellos que tienen especial relevancia en la recurrencia carcinomatosa de este cáncer, pero son pocos los estudios específicos al efecto y grandes las discrepancias en muchos de los factores involucrados.

En muchas formas tumorales, el sexo ha sido involucrado como factor de riesgo. En el cáncer de colon, la observancia de una incidencia mayor en el varón ha sugerido que la mujer podría experimentar un efecto hormonal protector mediado por estrógenos y sus receptores²³⁰, al haberse observado una tasa del cáncer menor en premenopáusicas o sometidas a terapia hormonal sustitutiva con una reducción significativa del riesgo del 21 al 56%. En condiciones normales, los estrógenos tendrían un efecto antiproliferativo y apoptótico sobre las líneas celulares del cáncer de colon²³¹. Su mecanismo carcinogénico se debería en parte a una pérdida de

receptores estrogénicos β en los colonocitos que aumenta con la desdiferenciación tumoral²³² y se compensaría por el efecto de una mayor concentración de ligando libre, ya sea de origen endógeno ó exógeno.

En nuestra serie resulta muy difícil determinar la influencia hormonal ya que el efecto protector mantiene una latencia media de 10 años después de finalizado pero existen otras variables individuales que no hemos considerado como la menarquia y los embarazos. El uso de anticonceptivos con menarquia tardía disminuyen el riesgo pero el primer embarazo a edad avanzada lo incrementa^{233, 234}. La influencia de estos aspectos en la recurrencia carcinomatosa permanecerán en la incógnita hasta la elaboración de estudios específicos.

El estudio actual pretendió reducir estos factores de confusión sugiriendo que el hombre presentaría mayor riesgo en la recurrencia. Sin embargo, la frecuencia de recidiva peritoneal en estos pacientes no consiguió ninguna relevancia estadística ($p=0'313$) por lo que pensamos que el hombre no debería comportar riesgo a la recaída y sugerimos que superada el period de latencia del efecto hormonal, la mujer debería presentar un riesgo similar al hombre.

De otro lado, la probabilidad de cáncer de colon se dispara a partir de la séptima década de la vida, presentando una incidencia creciente con la edad en ambos sexos, aunque con una tasa algo inferior en la mujer² en todos los grupos de edad. Este aspecto podría sugerir una pérdida del efecto hormonal en la menopausia con tendencia a igualar el riesgo creciente de cáncer en el varón con los años. La influencia de este efecto hormonal resultaría anecdótico sobre nuestra población al presentar una edad media de $69'8 \pm 10'2$ años para una mediana y moda que superan los 70 años.

Parece existir un comportamiento biológico más agresivo del cáncer de colon a medida que avanza la edad, generando un mayor índice de recidivas y mortalidad. En un estudio de 509.934 pacientes con cáncer colorectal obtenidos a partir de las bases de datos de tres países se realizó una evaluación del pronóstico de la enfermedad con el concepto de paciente joven (≤ 50 años)²³⁵. Se observó que este grupo de enfermos presentó un estadiaje tumoral más avanzado y mayor número de factores de riesgo de recidiva. Sin embargo, presentaron una mejor supervivencia global y libre de enfermedad que el grupo con una edad superior.

Algunos autores piensan que la recaída peritoneal seguiría un curso diferente al resto de recurrencias estableciendo un mayor riesgo de aparición en pacientes por debajo de los 70 años. Un amplio estudio retrospectivo sueco de pacientes con cáncer colorrectal en estadio I-III evaluó la influencia de la edad en la recurrencia carcinomatosa estableciendo los 70 años como punto de corte²²³. Observaron una

relación estadística ($p=0'005$) entre la edad y la recaída peritoneal en el análisis multivariante aunque la edad por sí misma no incrementó el riesgo de la recurrencia (harzard ratio: 0'99).

Una mayor presencia de factores de riesgo y agresividad en los pacientes de menor edad nos condujo a pensar que podría existir un mayor riesgo en los pacientes con una edad inferior a los 70 años. En este caso, la proporción de pacientes que presentó recaída para esta edad no fue significativa ($p=0'597$) en nuestra serie pero sí demostramos un riesgo 1'77 veces mayor en este grupo de edad. A pesar de esta diferencia con el estudio sueco, no parece que este grupo de edad sea determinante de la recurrencia peritoneal. No obstante, nuestro criterio de edad de riesgo por debajo de los 70 años coincide con la edad media presentada por la mayoría de los estudios que evalúan pacientes con recaída carcinomatosa colorrectal^{74, 103, 111}.

El hábito tabáquico y enólico ha sido relacionado con diversos cánceres de la esfera digestiva. Parece existir una relación entre el tabaco y un mayor riesgo de tumores asociados a inestabilidad de microsatélites. En el caso del cáncer de colon, esta vía mutacional presenta mejor pronóstico que la vía cromosómica pero está implicada en un porcentaje bajo de los tumores esporádicos, que afectan a la mayoría de los pacientes; lo cual explicaría su escasa trascendencia en el conjunto del cáncer de colon. Por otro lado, la vía metabólica asociada al tabaquismo condiciona modificaciones en la ruta fisiológica del metabolismo estrogénico perdiendo su efecto protector, lo cual sugiere que la influencia estrogénica antitumoral es poco relevante en los tumores con inestabilidad de microsatélites²³⁶, y en consecuencia, sobre el enfermo fumador.

Nuestra serie está formada mayoritariamente por cánceres esporádicos y sólo en 25 (6'2%) casos se registraron antecedentes familiares de la enfermedad por lo que la influencia de este factor resultaría, a priori, muy limitada en nuestros pacientes. Su análisis encontró un riesgo de recaída peritoneal 1'599 veces menor en el paciente fumador a pesar de la falta de significación estadística ($p=0'171$).

A la espera de referencias bibliográficas que analizen su efecto en la carcinomatosis, pensamos que ofrece una escasa relevancia desde un punto de vista general. Quizás un estudio selectivo de pacientes con inestabilidad de microsatélites aportaría alguna información adicional.

Algunos estudios afirman que el consumo de alcohol está relacionado con el cáncer colorrectal²³⁷, aunque la heterogeneidad individual para diferentes ingestas y áreas geográficas impide establecer su riesgo específico. Algunos investigadores^{238, 239} han encontrado cierta asociación entre dicho consumo y un riesgo incrementado de

localización distal del cáncer pero sin poder establecer ninguna implicación pronóstica.

En el estudio actual, el análisis de esta variable ofreció resultados muy similares al alcohol en cuanto a probabilidad y riesgo.

La propia variabilidad individual al efecto de estos hábitos tóxicos, su registro sin tener en cuenta la cantidad consumida y el posible sesgo por ocultación durante la anamnesis, impiden establecer su relación real con la carcinomatosis postoperatoria.

Existe una evidente asociación entre el síndrome metabólico y algunos de los cánceres más frecuentes en países occidentales, existiendo variaciones atribuidas a factores individuales como el sexo o área geográfica. En el caso del cáncer colorrectal, este síndrome presenta una asociación más fuerte en la mujeres^{240, 241}. La obesidad, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus tipo II han sido relacionadas con el riesgo de cáncer de colon²⁴² mientras que la dislipemia y su tratamiento con estatinas podrían ser protectores del mismo.

En la obesidad existe un equilibrio entre sustancias antioncogénicas como la adiponectina y citoquinas inflamatorias liberadas por adipocitos y células del sistema inmune^{243, 244}, cuya alteración favorece un ambiente protumoral y contribuye a la resistencia a la insulina. Adicionalmente, la diabetes se puede asociar al cáncer por un enlentecimiento del tránsito que facilitaría una mayor exposición de sustancias carcinogénicas a la mucosa o bien un incremento de los niveles de insulina circulantes que produciría una disminución de los niveles de proteínas de unión a IGF, incrementando su biodisponibilidad²⁴⁵. Si consideramos el efecto de IGF-1 en la progresión de este cáncer podría decirse que la obesidad y la diabetes mellitus deberían estar relacionados para este cáncer, aunque de forma independiente²⁴⁶. En nuestro análisis no fue incluida la variable obesidad porque no se dispuso de una valoración objetiva del índice de masa corporal a través del peso y la estatura.

En nuestro análisis, la influencia de estos factores en el riesgo de carcinomatosis peritoneal metacrónica no encontró significación estadística en ninguno de los tres supuestos analizados lo cual hace suponer que podrían influir en el desarrollo de la enfermedad pero tener escasa o nula trascendencia en su evolución metastásica hacia el peritoneo. De hecho, diferentes autores piensan que el efecto combinado de los tres factores no parece influir en la supervivencia, a excepción de la diabetes cuando se analiza individualmente^{16, 247}.

La mayoría de los casos de cáncer colónico registrados en la civilización occidental son esporádicos con una fuerte influencia ambiental. El componente genético-hereditario en este cáncer afecta sólo a un cuarto de los pacientes

estableciéndose una correlación evidente entre el tipo de parentesco y la edad de su diagnóstico¹⁷.

No existe ningún tipo de estudio en la comunidad científica que haya establecido una asociación hereditaria de la carcinomatosis peritoneal al diagnóstico ni como recurrencia.

En nuestros pacientes, los antecedentes familiares oncológicos fueron recogidos a partir de la historia clínica y la anamnesis realizada durante el diagnóstico del cáncer lo cual puede estar sujeto a sesgos por desconocer las enfermedades de otros miembros de la familia, la ausencia de diagnóstico, su ocultación o incluso desconocimiento de sus verdaderos padres. Estos hechos podrían justificar que sólo hayamos encontrado antecedentes de cáncer de colon en 25 (6'2%) pacientes de la serie cuando teóricamente hubiera correspondido alrededor de 100 casos. En cualquier caso, sólo un enfermo con estos antecedentes presentó recurrencia carcinomatosa por lo que es difícil correlacionar la asociación familiar a este tipo de recidiva.

La anemia del paciente con cáncer se puede clasificar entre moderada (Hb: 10 – 13 gr/dL) y grave (Hb <10 gr/dL). La probabilidad de transfusión se incrementa cuanto mayor es el grado de anemia existiendo un efecto inmunosupresor asociado a la misma por el cual se facilitarían la recurrencia del cáncer^{23, 24, 248, 249}. Por consiguiente, la probabilidad de recurrencia también debería incrementarse cuanto mayor sea el número de concentrados de hematíes administrados. Si consideramos que fue excepcional una transfusión con cifras de Hb >10 gr/dL, en nuestros pacientes la correlación observada entre la anemia grave ($p=0'160$) y la transfusión perioperatoria ($p=0'125$) con respecto al riesgo de recidiva peritoneal no sería exacta pues el verdadero condicionante de riesgo sería la necesidad de transfusión y la anemia una indicación de la misma. Por otro lado, observamos un incremento progresivo de este riesgo hasta el cuarto concentrado transfundido, a partir del cual esta valoración podría estar sesgada por el escaso número de pacientes que precisaron una transfusión mayor.

En el momento del diagnóstico, el paciente con cáncer de colon puede presentar una desnutrición calórico-proteica por efecto de mediadores inflamatorios del propio tumor o alteraciones del tránsito. La albúmina ha sido referido como un parámetro nutricional predictivo de recurrencia y morbimortalidad por cáncer²⁵⁰. Sin embargo, una respuesta inflamatoria sistémica tiende a producir una hipoalbuminemia que no refleja el verdadero estado nutricional del paciente. En el contexto oncológico, la albúminemia debería ser considerada un marcador de inflamación más que de desnutrición^{251, 252}.

Consideramos una hipoalbuminemia ≤ 2.5 gr/dL como valor crítico para la evaluación de la inflamación sistémica. Registramos 27 (8%) casos con esta característica, de los cuales sólo 2 desarrollaron la enfermedad peritoneal sin ninguna significación estadística a pesar de asociar un riesgo 1.7 veces mayor. Se necesitará un estudio más específico para determinar su valor en la respuesta inflamatoria sistémica de la carcinomatosis peritoneal.

Todas las células y tejidos se encuentran constantemente monitorizadas por el sistema inmune con el objeto de reconocer y eliminar cualquier formación neoplásica. El cáncer de colon, como cualquier forma neoproliferativa, produce una alteración de la homeostasis local que deriva en una activación de la inflamación y de la respuesta inmunitaria^{253, 254}. El infiltrado inflamatorio peritumoral parece promover la proliferación celular y cambios del estroma que inducirán la angiogénesis, invasión y metástasis por activación de diferentes vías moleculares. En contrapartida, el sistema inmunológico sería responsable de mitigar la progresión tumoral fundamentalmente a través de linfocitos B, T citotóxicos (CD_8^+), helper (CD_4^+) y natural killer. Estas funciones han sido sugeridas por algunos investigadores al observar un mejor pronóstico cuando el área tumoral presentaba una gran infiltración de esta población linfocitaria. Al contrario, la producción de mediadores inmunosupresores por células tumorales generaba una respuesta inflamatoria sistémica responsable de evadir el efecto local del sistema inmune^{39, 255} y facilitar la proliferación tumoral. De forma paralela, la fibrosis del estroma tumoral, por una respuesta inflamatoria mantenida, facilitaría la progresión tumoral.

La influencia de la respuesta inmunológica y el efecto de la inflamación peritumoral no han sido estudiadas en la carcinomatosis peritoneal. Hemos intentado realizar un acercamiento a la reacción inflamatoria generada por el tumor a través de una cuantificación subjetiva del patólogo a nivel del tumor primario y a través de la actividad leucocitaria sérica inducida desde el área neoplásica.

En nuestra serie, el infiltrado inflamatorio peritumoral fue registrado en el 30.1% de los informes histopatológicos y fue clasificado entre abundante y escaso. Si consideramos peor pronóstico cuanto más abundante es el infiltrado visualizado, salvando la distancia del bajo número de pacientes con este dato, podríamos decir que existe una clara tendencia ($OR=5.44$) a presentar recurrencia carcinomatosa en este supuesto aunque no hayamos logrado una significación estadística ($p=0.11$).

La actividad leucocitaria sérica fue evaluada mediante el índice neutrófilo/linfocito y la tasa de linfocitos séricos, con el fin de poder disponer de un mayor número de pacientes.

Este índice N/L sería un marcador de inflamación sistémica inducida por el tumor²¹. Se desconoce el mecanismo patogénico pero podría pensarse que si los neutrófilos son una fuente primaria del factor de crecimiento endotelial (VEGF), y éste participa en procesos como la angiogénesis, una neutrofilia relativa contribuiría a un mayor riesgo de progresión tumoral. Igualmente, una elevación de los mediadores inflamatorios sistémicos se asocia a linfopenia y alteración de los linfocitos T contra el tumor. Por tanto, un recuento linfocitario alto podría ser indicativo de una buena respuesta inmunológica frente al tumor contribuyendo a un índice bajo.

Nuestro análisis reveló un mayor porcentaje de casos con un índice alto y tasa linfocitaria baja ($p=0'001$) en el grupo de recidiva carcinomatosa alcanzando significación estadística y un riesgo de 2'94 y 2'95 veces más alto, respectivamente.

Estos datos nos sugieren una mayor respuesta inflamatoria sistémica al tumor en los pacientes que presentaron una diseminación peritoneal posterior que podría influir como coadyuvante de la progresión oncológica.

En la literatura científica, esta reacción inflamatoria para el cáncer de colon ha sido medida utilizando diversos cocientes basados en la fórmula leucocitaria²⁵⁶. En tres artículos^{21, 257, 258} con un total de 790 pacientes, algunos operados con carácter de urgencia, que relacionaron el cáncer de colon con un índice neutrófilo/linfocito ≥ 5 concluyeron que este indicador es un factor predictivo de mal pronóstico tanto de supervivencia como de recidiva. Ninguno especificó la recaída peritoneal.

Consideramos que el índice N/L podría utilizarse como un indicador práctico de riesgo de recurrencia carcinomatosa sin necesidad de un gasto económico mayor ya que se puede calcular a partir de un análisis preoperatorio de rutina, aportando una sensibilidad y especificidad aceptable²⁵⁷. No obstante, la interpretación de su resultado estaría sujeta a la valoración de otros inductores de inflamación sistémica como la infección, enfermedades crónicas o cirugía de urgencias.

De otro lado, no pudimos valorar la influencia de la desmoplasia estromal en este concepto por dificultades para contrastar los hallazgos radiológicos disponibles y la falta de información histopatológica.

No hemos encontrado ningún artículo en la literatura científica que relacione el tamaño tumoral, ni mucho menos su palpación, con el riesgo de una recurrencia peritoneal posterior. De forma arbitraria, hemos supuesto que un tumor de un tamaño superior a los 5 centímetros tiene más probabilidades de ser palpado y de alcanzar la serosa visceral.

En teoría, un tumor palpable en el examen físico debería correlacionarse con su tamaño histopatológico haciendo suponer un estadio tumoral más avanzado cuanto mayor sea éste. En nuestra serie no se apreció esta asociación resultando irrelevante

la palpación del tumor. Por el contrario, el tamaño tumoral histológico, cuando superaba los 5 centímetros, sí guardaba significación con la recidiva carcinomatosa ($p: 0'043$) estableciendo un riesgo alto (OR: 1'982). Esta discrepancia podría ser coherente ya que la simple existencia de un gran componente desmoplásico o inflamatorio peritumoral con implicación de órganos o estructuras vecinas, no necesariamente infiltradas, podría influir en la palpación externa pero no en el tamaño histológico real.

Se sabe que la infiltración perineural y la invasión vascular guardan relación con la recidiva oncológica, preferentemente a distancia, pero también podría tener una participación en el proceso carcinomatoso a partir de la colonización mesotelial desde estas vías de diseminación^{131, 259}.

A pesar de la diversidad de estudios que relacionan estos factores con la recidiva en términos generales o con el riesgo de presentar una carcinomatosis asociada, pocos autores establecen un riesgo con respecto a la recurrencia peritoneal metacrónica. Jayne D et al²⁵⁹ estudiaron 3019 pacientes con cáncer colorrectal de los cuales 214 presentaron una carcinomatosis al diagnóstico y 135 recidivaron a nivel peritoneal. La invasión vascular y perineural fueron dos de las características histológicas que analizó, comparando su influencia estadística en los pacientes sin enfermedad peritoneal o que presentaron carcinomatosis sincrónica, metacrónica. Ambas variables fueron estadísticamente significativas estableciéndose un riesgo de carcinomatosis metacrónica 1'57 veces mayor en presencia de infiltración perineural y de 2'07 si existía invasión vascular.

En nuestro estudio, se registraron 63 (16'6%) pacientes con infiltración perineural y 87 (21'5%) con invasión vascular, de los cuales 22 (45'8%) y 27 (56'2%), respectivamente desarrollaron una carcinomatosis metacrónica. En ambos casos se alcanzó significación estadística con un riesgo de casi 6 veces para esta recaída cuando se diagnosticaba cualquiera de estas dos características histológicas.

Esta condición puede justificar que su comportamiento en el riesgo de recaída peritoneal es muy similar a pesar de que en el estudio multivariante sólo se mantuviera la significación estadística para la infiltración perineural ($p=0'001$, OR: 5'48).

Este paralelismo entre ambas variables nos sugiere que estas vías de diseminación hacia la aparición de metástasis a distancia podrían aportar células malignas sueltas al microambiente mesotelial. Este tipo de células podrían corresponder con las visualizadas en algunas inmunotinciones para IGF-1 y plexina β_1 a modo de metástasis en tránsito, en el contexto de su influencia angiogénica y neural^{187, 188, 193, 198, 260}, que agrupándose a modo de conglomerados ó nódulos

tumorales representarían una de las etapas iniciales del proceso de colonización peritoneal.

De confirmarse esta teoría, estaríamos empezando a comprender un mecanismo fisiopatológico con entidad propia en la formación de carcinomatosis peritoneal, independientemente de la exfoliación o exposición celular desde el tumor primario.

La cirugía laparoscópica colorrectal se ha impuesto como abordaje quirúrgico del cáncer de colon por sus ventajas como método mínimamente invasivo y excelentes resultados oncológicos con independencia del segmento de colon afectado^{261, 262}.

El riesgo asociado a diseminación peritoneal en cirugía laparoscópica ha sido cuestionado en los últimos años atribuyendo esta posibilidad más a una técnica quirúrgica defectuosa, en el contexto de una curva de aprendizaje, que a los propios fundamentos del abordaje. El peritoneo constituye una barrera natural a la diseminación tumoral²⁶³ por lo que un manejo inapropiado de éste facilita la progresión de la enfermedad, llegándose a recomendar la aplicación de soluciones antitumorales o la resección del trayecto del trócar. Hoy en día, parece haberse descartado una influencia negativa derivada de los principios laparoscópicos en la evolución del cáncer, salvo cuando existe una carcinomatosis peritoneal ya instaurada, en cuyo caso se recomienda un abordaje desde la línea media, al sólo encontrar aponeurosis, para evitar la implantación tumoral en el trayecto de los tejidos atravesados por los trócares en los flancos que constituiría un factor independiente de mal pronóstico²⁶⁴.

La fecha de inicio y fin de este estudio incluyeron parte del periodo utilizado por nuestro servicio como curva de aprendizaje. Se diagnosticaron sólo 24 (5'9%) pacientes con carcinomatosis peritoneal al diagnóstico de la enfermedad no realizándose una resección laparoscópica en ninguno de ellos. En los 51 (12'6%) casos sometidos a este tipo de abordaje la recurrencia carcinomatosa se produjo en 5 de ellos sin alcanzar ninguna significación estadística.

Esta baja tasa de recurrencia coincide con otros autores^{262, 265} cuyos resultados confirman que el abordaje quirúrgico propiamente dicho no tiene influencia sobre la siembra peritoneal, de la herida quirúrgica ni en los puertos de acceso laparoscópicos; que vendrían definidas por las características clínico-patológicas de cada paciente. Aunque nuestra casuística fue escasa hasta la fecha de cierre de este estudio, coincidimos con otros autores en que el abordaje laparoscópico para el cáncer de colon sin carcinomatosis establecida puede ser una indicación apropiada si respeta los principios oncológicos de resección²⁶⁶.

Las complicaciones postoperatorias han sido relacionadas ampliamente con la recurrencia colorrectal. En un estudio de 1657 pacientes sometidos a cirugía curativa

de cáncer de colon se produjo una tasa de complicaciones postoperatorias del 27'3% y una recurrencia del 29'1%. La asociación estadística demostró que dichas complicaciones fueron un factor independiente de mayor riesgo de recurrencia global ($p=0'04$)²⁶⁷.

Este riesgo también ha sido estudiado cuando la enfermedad debuta ya como carcinomatosis. Simkens GA et al²⁶⁸ analizaron 133 pacientes sometidos a citorreducción y HIPEC por carcinomatosis colorrectal observando que 46 (35%) casos desarrollaron recurrencia en los 12 meses siguientes, existiendo una fuerte asociación entre las complicaciones quirúrgica mayores, especialmente si requirieron reintervención, y la recurrencia precoz ($p=0'046$, OR: 2'3), estableciéndose también una diferencia significativa ($p=0'02$) en la supervivencia con respecto a los que no presentaron complicaciones.

En nuestra experiencia clínica, las complicaciones postoperatorias de tipo infeccioso graves como el absceso intrabdominal y la fístula anastomótica parecen correlacionarse con un teórico mayor número de casos de recidivas a nivel general.

Nuestra serie presenta un número muy reducido de pacientes con estas complicaciones pero ninguna de estas dos variables alcanzó significación estadística. No obstante, la fístula anastomótica fue más frecuente que el absceso y expresó un cierto riesgo de desarrollar carcinomatosis postoperatoria (OR: 1'314), aspecto que podría estar vinculado a la relación entre el proceso inflamatorio que se genera y una eventual enfermedad residual.

En dos estudios recientes se incluyeron ambas complicaciones para evaluar su impacto en la recurrencia tumoral. En uno²⁶⁹ se recogieron muestras postoperatorias séricas y de fluido peritoneal de pacientes con estas complicaciones y sus controles para estudio "in vitro" de la proliferación, migración e invasión de células malignas, observando que la migración aumentaba en ambos tipos de muestras y la invasión sólo en el fluido peritoneal. Paralelamente, la supervivencia libre de enfermedad a los 2 años fue menor en el grupo infectado ($p=0'032$).

Una parte de la explicación a estos resultados quizás se encuentre en las conclusiones de Alonso S et al²⁷⁰ al apreciar un incremento de IL-6 y VEGF en mediciones séricas y de fluido peritoneal de los pacientes con infección intrabdominal postoperatoria. La respuesta inflamatoria y angiogénica inducida por la infección podría realzar la capacidad agresiva de células tumorales residuales a la cirugía.

No hay estudios específicos que relacionen estas complicaciones infecciosas con la recaída peritoneal pero pensamos que estos mecanismos podrían estar implicados en su fisiopatología. Sería interesante evaluar en el futuro el valor de esta hipótesis mediante biomarcadores inmunohistoquímicos de carcinomatosis peritoneal

involucrados en la respuesta inflamatoria y angiogénesis como el IGF-1 y la plexina β_1 , a la vista de nuestros resultados.

El tratamiento adyuvante en el cáncer de colon ha evolucionado en las últimas décadas con el advenimiento de modernos citostáticos y terapias biológicas en torno al año 2007. La circunstancia logística que nos obligó a limitar el periodo de estudio a ese año, a fin de no precisar el consentimiento informado de los pacientes, y el hecho de poder obtener un seguimiento oncológico mínimo de cinco años ha contribuido a conseguir una población bastante homogénea en lo que respecta a los esquemas de quimioterapia que recibieron. En este sentido, la controversia actual sobre la influencia de los citostáticos sistémicos en la recaída peritoneal¹⁵¹ quedaría en parte resuelta con nuestros resultados ya que observamos una recaída peritoneal en más del 50% de los pacientes que habían recibido quimioterapia adyuvante. Esto estableció un riesgo 3 veces mayor para dicha recurrencia ($p=0'000$).

Este resultado concuerda con el único estudio encontrado que relaciona directamente esta variable con el riesgo de recaída peritoneal²²³, versado sobre 5348 pacientes de los que recibieron adyuvancia el 17'5%. Encontraron un riesgo 2'3 veces asociado a este factor.

Esta asociación al riesgo de recaída sugiere que la difusión peritoneal de los citostáticos administrados por vía intravenosa es insuficiente pudiéndose presentar incluso recidivas peritoneales precoces por existencia de "santuarios celulares". Por otro lado, una concentración inadecuada de fármaco en áreas de enfermedad microscópica residual podría ser responsable de una resistencia celular que confiera una mayor agresividad a la progresión de la enfermedad.

Desconocemos el efecto de los nuevos fármacos con posterioridad a esa fecha aunque teóricamente previenen o postponen con mayor efectividad la recaída en peritoneo. Serán necesarios ensayos clínicos específicos para resolver su verdadera influencia.

3.- Concordancia de los factores de riesgo carcinomatoso específicos

La presencia de carcinomatosis peritoneal sincrónica a la intervención quirúrgica inicial expresa un estadio avanzado de la enfermedad con implicaciones pronósticas en el contexto de una recurrencia peritoneal o a distancia. De hecho, esta forma de presentación de la enfermedad se asocia un alto riesgo de recaída peritoneal a pesar de un tratamiento inicial adecuado. A nivel global su incidencia se estima entre el 4'8 y 8'5% de los pacientes con cáncer de colon intervenidos con intención

curativa^{108, 112, 228, 259}, pero probablemente su frecuencia sea mayor. En dos estudios^{74, 111} realizados con 14 y 41 pacientes diagnosticados de carcinomatosis sincrónica al cáncer de colon y tratados mediante cirugía citorreductora completa y quimioterapia adyuvante se descubrió recaída peritoneal mediante second-look en 10 (71'4%) y 25 (60'9%), respectivamente; a pesar de no haber presentado ningún criterio preoperatorio de recurrencia.

En nuestra serie, la frecuencia de carcinomatosis concomitante al tumor primario se encuentra dentro del rango general esperado al diagnosticarse 24 (5'9%) pacientes, de los cuales 15 (31'3%) presentaron recurrencia carcinomatosa. La falta de efectividad radiológica en el diagnóstico de carcinomatosis y la ausencia de second-look podría haber contribuido a esta infraestimación con respecto a las cifras expresadas por la mayoría de los autores.

A pesar de este bajo índice, la diferencia con respecto al resto de pacientes fue altamente significativa ($p=0'000$) hasta el punto de que la carcinomatosis sincrónica a la intervención quirúrgica inicial se asoció a un riesgo 17'2 veces mayor de recaída peritoneal. Este resultado convierte a este factor en un claro exponente de riesgo que justifica la significación alcanzada en el análisis multivariante ($p=0'008$) conservando un riesgo 6'41 veces mayor que el resto de la población estudiada.

La presencia de sintomatología extraluminal en el momento del diagnóstico de la carcinomatosis sincrónica suele acompañarse de una mayor extensión peritoneal que, a su vez, es el factor pronóstico más importante en la evolución de la enfermedad⁸⁵. Un elevado índice de cáncer peritoneal (PCI) se asocia a un mayor porcentaje de riesgo en la progresión de la enfermedad. La comparación de dos estudios^{111, 271} realizados sobre pacientes con carcinomatosis de origen colónico según presentaran o no sintomatología abdominal puso en evidencia un mayor PCI en los pacientes sintomáticos (PCI: 1-19 vs 14-24).

Por este motivo, deberíamos recomendar la realización de algún tipo de cuantificación intraoperatoria de la carcinomatosis como método para sospechar su recurrencia y gravedad aunque se hubiera conseguido una citorreducción completa y el paciente se encontrase asintomático en el postoperatorio.

En nuestra opinión, la estadificación como entidad propia de los depósitos de células malignas en áreas de drenaje linfático tumoral (N_{1c}) ha sido una de las contribuciones importantes de la 7ª edición del Manual de Estadaje del Cáncer de la AJCC a la clasificación del cáncer de colon⁷. Resulta difícil establecer el origen de estos implantes aunque algunas teorías avogan al concepto de metástasis en tránsito desde diferentes focos como la infiltración linfovascular, perineural o desde la propia extravasación capsular de los ganglios.

Se estima que una infravaloración de estos depósitos podría generar una evaluación pronóstica incorrecta en el 2'5% de los cánceres colorrectales²⁷².

Su presencia podría relacionarse con un mayor riesgo de carcinomatosis peritoneal postoperatoria al tratarse de células malignas expuestas directamente al microambiente mesotelial aunque, en la actualidad, no existe ningún análisis que establezca su relación directa con el riesgo de carcinomatosis posterior.

Pensamos que su presencia podría considerarse un signo indirecto de carcinomatosis peritoneal pero su estadificación máxima como estadio IIIA en la clasificación del cáncer de colon que hemos utilizado nos sugiere que su comportamiento pronóstico debería ser más venébo.

En nuestro análisis se identificaron 33 (8'2%) pacientes con depósitos peritumorales malignos. En 16 (33'3%) casos su evolución fue hacia una carcinomatosis postoperatoria presentando una frecuencia similar a los pacientes que habían debutado directamente con carcinomatosis sincrónica a la enfermedad (31'3%).

Su implicación en la recurrencia carcinomatosa se mantuvo significativa en el análisis multivariante ($p=0'039$) con un riesgo 3'638 veces mayor de padecer una recaída peritoneal durante el seguimiento oncológico.

Estos resultados nos sugieren una importancia pronóstica paralela a la carcinomatosis sincrónica al diagnóstico aunque su riesgo potencial sea algo menor, quizás mediatizado por una cirugía radical en una fase precoz del proceso de colonización mesotelial.

El cáncer de colon metastatiza en el ovario con una incidencia del 0'8-7'4% de los casos atribuyéndose una recidiva carcinomatosa posterior en el 56-62% de las pacientes sometidas a cirugía con intención curativa^{74, 113, 114}.

En nuestro grupo de pacientes se produjeron 2 casos de metástasis ovárica sincrónica al cáncer de colon, lo cual representa el 1'1% de la población femenina. Ambas pacientes desarrollaron una carcinomatosis peritoneal como forma de recidiva colónica. Esta circunstancia y el escaso número de pacientes con este factor nos impide extraer ninguna conclusión estadística.

Algunos autores^{273, 274} consideran que el modelo de recurrencia en este tipo de pacientes no es diferente al resto aunque la extensión peritoneal en caso de recurrencia carcinomatosa suele ser mayor en presencia de una metástasis ovárica durante la intervención del tumor primario. En cambio, la mayoría de las series muestran cifras elevadas de recurrencia peritoneal, alcanzando en algún caso el 62%^{74, 113, 114, 275}.

Esta perspectiva debería incitarnos a considerar la metástasis ovárica como un factor de riesgo aunque no lo hayamos podido demostrar, ya que los dos únicos casos registrados presentaron una evolución carcinomatosa.

La perforación del tumor primario representa un claro factor de riesgo de siembra peritoneal a partir de la descamación celular que se produce sobre el mesotelio. Resulta difícil conocer su incidencia y verdadera implicación en la recurrencia peritoneal ya que la mayoría de los autores expresan la perforación de forma conjunta sin precisar su relación con el tumor primario. En este sentido, Willett C et al²⁷⁶ presentaron un estudio retrospectivo con una recurrencia peritoneal del 19% de los tumores de colon perforados mientras que la incidencia publicada por Ogawa M et al¹²⁰, sobre un número más pequeño de pacientes, se disparó al 54%.

En nuestro estudio, se registraron 27 (6'7%) perforaciones del tumor primario de las cuales 9 (33'3%) desarrollaron una recaída peritoneal. En un estudio con más de 5500 pacientes Cheyner N et al¹¹⁹ establecieron una diferencia significativa ($p=0'04$) a favor de recurrencia peritoneal al comparar los pacientes que habían presentado perforación del tumor primario (14%) en relación a otras localizaciones de la perforación (6%).

La perforación tumoral presentada en nuestros enfermos indicó una mayor frecuencia de carcinomatosis postoperatoria ($p=0'001$) estableciendo un riesgo de padecerla 4'256 veces mayor.

Una frecuencia tan elevada con respecto a la expresada por otros autores y el hecho de que estas diferencias no se mantuvieran en el análisis multivariante nos hace pensar que a perforación del tumor primario guarda una relación con la siembra peritoneal artefactada por algunos casos que pudieron padecer una perforación en otra localización diferente.

La infiltración de la serosa visceral del colon podría ser un punto de partida factible en la diseminación peritoneal por exposición celular. Sin embargo, consideramos inicialmente esta variable como un factor de riesgo moderado al no encontrar tasas de recaída peritoneal superiores al 19%¹⁵¹. De hecho, unificamos todos los pacientes en la variable "invasión de serosa/órgano adyacente" pensando que todos los tumores T₄ deberían asociar un riesgo similar de dieminación peritoneal, al compartir un mismo mecanismo fisiopatológico, y para obtener una mayor fuerza estadística.

En nuestra serie, encontramos 118 (29'1%) pacientes con infiltración parietal T₄ de los cuales 34 (28'8%) desarrollaron una recurrencia peritoneal lo cual nos hace sugerir que un grado avanzado de infiltración parietal guarda una relación directa con el riesgo de diseminación peritoneal. Esta opinión cuestiona a las series de la mayoría

de los autores, que presentan una incidencia de recurrencia del 8 al 19% aunque sobre series que no superaban los 395 pacientes^{75, 277, 278}. En cambio, mantenemos cierta coherencia con un estudio retrospectivo⁷⁰ de 11124 pacientes en los que se observó, para este mismo grado de invasión, un 27'8% de carcinomatosis sincrónicas y metacrónicas ($p < 0'001$), al tiempo que se estableció un riesgo diez veces mayor en comparación con la infiltración limitada a la submucosa (T_1). Sin embargo, no se pudo establecer una diferencia significativa ($p = 0'075$) entre los tumores que penetraban la superficie del peritoneo visceral y los que invadían otros órganos. En un análisis específico de 28 pacientes con tumores de colon que invadían órganos adyacentes se produjo recaída peritoneal en 8 (29%) de los casos¹³³, no pudiéndose establecer tampoco esta diferencia aunque sí una tendencia a la carcinomatosis post-resección.

Este resultado sostiene nuestra teoría de diseminación para estos casos. Pensamos que el riesgo se produce por la exposición de la célula maligna a la superficie peritoneal, pero deberían darse otras condiciones locales que faciliten la colonización, diferentes a la simple infiltración de un órgano adyacente. De hecho, la fistulización inducida por el tumor a una víscera adyacente es estadificada como T_{4b} pero tampoco obtuvimos una significación estadística ($p = 0'289$) que nos sugiera asociación y sí un fuerte riesgo ($OR = 3'702$) que estaría determinado por su condición de T_4 .

Los adenocarcinomas mucinosos y en anillo de sello tienen más tendencia a la metastatización que el adenocarcinoma común, especialmente en el peritoneo. La forma mucinosa presenta mayor frecuencia que el subtipo en "anillo de sello" (3-15% vs 0'1-2'4%, respectivamente)^{123, 279} y parece asociarse a una mayor frecuencia de carcinomatosis peritoneal sincrónica. Sin embargo, esta asociación no está tan clara en la carcinomatosis metacrónica cuando el tumor asocia componente mucinoso o en anillo de sello. En un estudio retrospectivo¹²⁴ de 127 pacientes en estadio I-III de la enfermedad sometidos a una colectomía curativa se objetivó un 36% de recurrencia peritoneal en los tumores mucinosos y un 11% en los que tenían un componente mucinoso. En cambio, no se registró recurrencia peritoneal de los tumores en anillo de sello aunque los que tenían componente en anillo de sello presentaron un 27% de recaída peritoneal.

A pesar de una mayor frecuencia del subtipo mucinoso hemos asumido ambas formas con un riesgo carcinomatoso similar. En total se recogieron 88 (22'5%) enfermos de los cuales sólo 19 (21'6%) desarrollaron la enfermedad en el peritoneo. Este resultado podría estar en concordancia con el estudio de Pande R et al presentado ya que hemos incluido en conjunto las cuatro variantes posibles.

Creemos que esta circunstancia permitió obtener fuerza estadística con la que dictaminar un riesgo de padecer la recurrencia 2'59 veces mayor en presencia de cualquiera de los dos subtipos ($p=0'003$) pero quizás contribuyó a su escasa relevancia en el análisis multivariante. Necesitaremos un mayor número de pacientes para conocer su influencia por separado. Hasta entonces, deberíamos considerarlas en conjunto ya que ambas expresan agresividad peritoneal a pesar de sus matices individuales.

En un estudio prospectivo de 129 pacientes²⁸⁰ donde se analizaron cinco estirpes tumores se observó una mayor extensión peritoneal en los casos con tumor mucinoso, incluso en áreas anatómicas alejadas del tumor primario. Sin embargo, dos análisis retrospectivos de 4277 y 1336 pacientes^{125, 281} intervenidos por cáncer colorrectal compararon ambos subtipos objetivando un riesgo de mortalidad mayor para los tumores en anillo de sello, incluso en presencia de carcinomatosis sincrónica al tumor primario.

El tratamiento de quimioterapia intraoperatoria durante el tratamiento quirúrgico de los carcinomas mucinosos también parece mejorar su supervivencia⁸⁵, a pesar la elevada resistencia a la quimioterapia sistémica expresada habitualmente en estos tumores.

La presencia de células tumorales libres en la cavidad intraperitoneal tiene un significado pronóstico válido pero la disparidad de métodos de detección y la escasa incidencia de positividad han puesto en tela de juicio su rentabilidad clínica en cáncer de colon, a diferencia de otros tumores primarios¹²⁷.

Los factores que pueden facilitar el desprendimiento de las células malignas desde el tumor primario son: Un aumento de la presión intersticial del tumor debido a una elevada tasa de proliferación celular y ausencia de drenaje linfático, una disminución en la síntesis de proteínas de adhesión celular del propio tumor, la infiltración progresiva del tumor desde la mucosa a la serosa y una perforación espontánea del tumor primario por una proliferación celular incontrolada o una complicación tumoral como la isquemia.

La mayoría de los estudios recientes²⁸²⁻²⁸⁴ concuerdan en que el número de pacientes con citología positiva es escaso pero su correlación con la recurrencia peritoneal es muy alta. Bae SJ et al²⁸⁵ presentaron 6 (4'1%) citologías positivas en 145 pacientes intervenidos por cáncer de colon, de las cuales 5 (3'4%) desarrollaron recaída peritoneal. Concluyeron que la citología positiva es un factor predictivo independiente para recurrencia peritoneal ($p<0'001$, HR: 136'5).

En dos estudios independientes^{130, 286} con positividad para células tumorales libres en el 5'8 y 20% de los casos se estableció que el riesgo relativo de recurrencia

peritoneal con citología positiva, en comparación con la negativa, fue del 16'5 vs 2'9% ($p=0'0004$) y 22'8 vs 8% ($p=0'05$), repectivamente.

En nuestra muestra poblacional, se efectuaron 22 lavados peritoneales de los cuales 4 (18'2%) resultaron positivos. Se produjo recaída peritoneal en la mitad de las citologías positivas no pudiendo alcanzar una significación estadística. Sin embargo, el riesgo asociado a recurrencia peritoneal fue 2'6 veces mayor en presencia de citología positiva, claramente inferior a los autores referidos.

A la vista de la mayoría de los autores consultados, estos resultados indican un riesgo llamativo en nuestros pacientes, a pesar de la falta de significación, que debería hacernos considerar la práctica de un lavado peritoneal en todo paciente intervenido por cáncer de colon.

La infiltración ganglionar ha sido considerada un factor pronóstico independiente en este cáncer, especialmente cuando el número de adenopatías aisladas era inferior a doce^{30, 136-138}. Su implicación en la carcinomatosis peritoneal podría estar motivada por la suelta de células malignas a partir de la infiltración de la cápsula ganglionar o desde los vasos linfáticos durante la resección quirúrgica. De hecho, en nuestra serie casi la mitad de los pacientes (43'7%) que desarrollaron diseminación peritoneal habían presentado infiltración de dicha cápsula al diagnóstico.

Esta hipótesis ha llevado a sugerir un mayor riesgo de recaída peritoneal en presencia de metástasis ganglionares⁸⁵, al tiempo de que podría participar en la formación de depósitos tumorales (N_{1c}) en áreas de drenaje linfático del tumor; que estarían expresando metástasis en tránsito.

A pesar de estas afirmaciones, la literatura científica no encuentra un riesgo expreso entre la invasión ganglionar y la recurrencia peritoneal^{131, 151}, a excepción de Segelman J et al²²³ que menciona una relación directa entre ambas circunstancias, indicando adicionalmente la importancia predictiva del número de adenopatías examinadas; aunque no hace ninguna reseña sobre la posible influencia de la infiltración capsular. En su modelo predictivo, el estadiaje ganglionar fue uno de los factores más fuertemente asociados con riesgo carcinomatoso.

En nuestra serie, se registraron sólo 149 (36'8%) pacientes con infiltración ganglionar de los cuales 32 (21'5%) desarrollaron finalmente una carcinomatosis. La relación estadística para esta variable resultó altamente significativa ($p=0'000$) en el modelo univariante, estableciendo un riesgo para esta recurrencia 3'931 veces mayor en presencia de afectación nodal; resultado que no se mantuvo en el análisis multivariante. Pensamos que esta disparidad podría haber sido motivada por la exclusión que hicimos en referencia al número de ganglio examinados e infiltrados por

paciente. Es posible que algunos enfermos hayan sido registrados sin infiltración nodal porque el número de ganglios examinados para definirlo fuera insuficiente.

La cirugía urgente por cáncer de colon ha sido asociada tradicionalmente con un mal pronóstico por relacionarse con complicaciones tumorales, especialmente la perforación y la obstrucción, que suelen asociarse con un estadio oncológico más avanzado²⁸⁷.

No se ha encontrado ningún estudio que explique su implicación en el riesgo de diseminación peritoneal sino a través de las causas que motivan la intervención quirúrgica urgente^{142, 288, 289}. Una excepción está en Segelman J et al²²³, que establece una significación estadística ($p < 0'001$) de esta variable en su modelo multivariante hasta el punto de ser relevante para predecir recurrencia peritoneal. Sin embargo, su valoración global de la cirugía urgente excluye las indicaciones que la motivaron que, a nuestro entender, son las que establecen el verdadero riesgo. Así, en nuestro estudio, la perforación tumoral mostró una significación y riesgo elevado ($p = 0'001$, OR: 4'256) y, en cambio, la obstrucción intestinal ni tan siquiera fue estadísticamente significativa ($p = 0'331$).

La obstrucción intestinal ha sido relacionada con recaída peritoneal²⁹⁰ pero, en la actualidad, no existe una consistencia científica para sostenerlo pues la mayoría de las series relacionan la oclusión con la recurrencia local pero no especifican su influencia sobre el peritoneo^{276, 288}.

No obstante, una intervención quirúrgica urgente pudiera aportar una connotación especial al riesgo, derivada de la experiencia del equipo quirúrgico, manipulación tumoral o de las condiciones generales del paciente en el momento de la intervención. En nuestra opinión, este aspecto pudiera ser relevante ya que la proporción de casos operados de urgencia que desarrollaron una carcinomatosis postoperatoria fue superior al doble ($p = 0'000$) generando un riesgo 3'289 veces mayor aunque careció de relevancia en nuestro modelo multivariante, quizás por las diferencias encontradas en la indicación que motivó la urgencia.

En este contexto de cirugía urgente y no por la propia obstrucción se podría justificar que esta variable asocie en nuestros pacientes un riesgo de recaída peritoneal de 1'739 veces mayor.

Los marcadores tumorales, a expensas fundamentalmente del CEA, han sido considerados el primer indicador de recidiva en cáncer de colon, por encima incluso de los estudios de imagen o la semiología clínica, con un periodo de antelación de hasta 6 meses^{143, 291}. En estas circunstancias, algunos autores propusieron un second-look ante una elevación postoperatoria de CEA con objeto de un diagnóstico precoz que permitiera una mayor supervivencia^{292, 293}. En un estudio prospectivo de 1247

pacientes diagnosticados de cáncer de colon en estadio II-III se registraron 109 intervenciones curativas sobre 548 recurrencias presentadas de las cuales la sospecha de recaída se produjo por elevación de CEA en el 39'4% de los casos. Los estudios de imagen (34'6%) y la semiología referida (25'9%) guiaron al diagnóstico en el resto²⁹⁴.

Minton et al⁸² llevan la cuestión más allá proponiendo una cirugía de second-look antes de que el valor de CEA supere los 11 ng/mL, basándose en que el 98% de los casos con el marcador alto presentaba recidiva y el 10% de éstos era exclusivamente peritoneal.

Esta utilidad diagnóstica del CEA aislado en el diagnóstico global de la recurrencia no ha sido extrapolada al diagnóstico de recaída peritoneal, especialmente en pacientes asintomáticos. Su análisis en el contexto de una muestra poblacional de pacientes asintomáticos que habían desarrollado una carcinomatosis sincrónica al cáncer de colon desveló que el 50% de ellos presentaba un valor igual o inferior a 2 sin asociar significación estadística ($p=0'0941$) en el momento de la recidiva peritoneal¹¹¹.

La valoración del Ca 19.9 resulta también imprecisa para este tumor aunque se piensa que podría jugar un papel predictor en la recidiva peritoneal¹⁴⁶, especialmente en compañía de una elevación del CEA. Un estudio de 333 pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal evaluó la implicación clínica de este marcador sobre 61 (18'3%) casos que presentaron un nivel sérico preoperatorio elevado, observando correlación con la siembra peritoneal ($p<0'001$) y asociación con carácter independiente a la elevación preoperatoria de CEA en el análisis multivariante²⁹⁵.

En el estudio actual, la elevación patológica durante el postoperatorio de ambos marcadores individualmente no alcanzó significación estadística aunque mostraron un cierto riesgo de recaída peritoneal (OR: 2'23 y 1'26 para CEA y Ca 19.9, respectivamente). Su valoración conjunta tampoco logró una asociación con la carcinomatosis postoperatoria ($p=0'944$).

Estos hallazgos parecen coincidir con la valoración de Moertel C et al¹⁴⁵ sobre una monitorización de CEA en 1017 pacientes sometidos a colectomía por cáncer observando que el 59% de las recidivas presentaban una elevación sérica de CEA al tiempo que se producía un 16% de falsos positivos. Una valoración paralela de estos casos comprobó que la sensibilidad del CEA era mayor en metástasis a distancia que en recurrencia peritoneal o local, aspecto que podría explicar el mayor riesgo de recaída observado por nuestros pacientes, ya que en el grupo de carcinomatosis postoperatoria no se excluyeron otras formas de metástasis.

En contraste con estos resultados, un nivel sérico patológico de CEA en el preoperatorio se asoció con un riesgo 2'83 veces mayor de recaída peritoneal ($p=0'007$) y su importancia estadística se mantuvo en el análisis multivariante con una OR: 2'354. En cambio, la valoración del Ca 19.9 careció de toda relevancia estadística. De hecho, sólo un paciente de los 12 que presentaron niveles séricos altos en el preoperatorio desarrolló carcinomatosis.

Estas apreciaciones nos sugieren que el CEA no es indicador específico de recidiva peritoneal pero una elevación patológica del mismo debería hacernos sospechar este tipo de recaída, en presencia de otros factores de riesgo. La relevancia clínica del Ca19.9 no ofreció ninguna aportación en nuestro caso, quizás condicionado por una escasa representación muestral.

El grado de diferenciación del tumor primario se relaciona con el pronóstico del cáncer de colon, estableciendo un peor pronóstico cuanto más indiferenciada sean sus células.

Algunos autores¹¹² han relacionado una pobre diferenciación celular (G_3) del tumor primario con una mayor probabilidad de carcinomatosis sincrónica pero no encontraron ninguna asociación al riesgo de recaída peritoneal postoperatoria. En este sentido, un estudio prospectivo más reciente²⁹⁶ con 52 pacientes sometidos a cirugía de citorreducción y HIPEC para evaluar los factores de riesgo de recaída en el cáncer colorrectal asociado a carcinomatosis peritoneal evidenció que los tumores de alto grado se comportaban como factor de riesgo independiente para el conjunto de las recurrencias, aunque el tiempo hasta producirse dependía del grado de radicalidad alcanzado.

Los informes histopatológicos emitidos hasta el año 2007 en nuestro hospital describieron los diferentes grados de diferenciación celular del tumor sin discreditar entre alto y bajo grado. Todos los pacientes de alto grado de nuestro estudio pertenecieron al grupo de pobre diferenciación celular (19'2%).

La relación de esta variable con la carcinomatosis sincrónica queda fuera del objetivo de este estudio pero podemos decir que la relación de tumores con pobre diferenciación fue mucho más superior en el grupo que desarrolló recaída peritoneal ($p=0'000$). La presencia de esta variable marcó un riesgo 4'153 mayor de padecer esta forma de enfermedad en la recurrencia, lo cual nos sugiere una asociación, poco estudiada hasta la actualidad. Sin embargo, su significación estadística no se mantuvo en el estudio multivariante quizás por el escaso número de pacientes que presentaron esta característica.

Esta fuerte asociación observada en nuestros pacientes podría deberse a la plasticidad biológica que adquiere la célula con su indiferenciación. Las células

indiferenciadas de un tumor primario tienden a comportarse como mesenquimales secretando componentes de matriz extracelular que determinan modificaciones de la misma hacia un estroma desmoplásico, propio de tumores en estadio avanzado, al tiempo que se promueve su diseminación¹⁶².

En un estudio de 58 muestras de cáncer colorrectal, 38 de mucosa tumoral y normal, y 20 de mucosa tumoral y nódulos carcinomatosos; se observó un mayor grado de diseminación peritoneal en los casos que presentaban una pobre diferenciación celular ($p=0'006$). Cuando se analizó la influencia de la transición epitelio-mesénquima mediante biomarcadores de expresión génica y alteraciones somáticas, se observó también una mayor positividad de los mismos en los tumores con bajo grado de diferenciación ($p=0'001$)²⁹⁷.

A la vista de estos hallazgos, pensamos que el cambio de fenotipo adquirido por las células al iniciarse la invasión tumoral y la adquisición de funciones propias de células estromales podría ser determinante también en la colonización mesotelial a partir de modificaciones en su microambiente estromal. Por tanto, cuanto más indiferenciada sea la célula maligna más posibilidades existen para un comportamiento mesenquimal que contribuya a este proceso.

La distribución del cáncer de colon por segmentos es variable dependiendo de la edad de presentación, existiendo un cambio de ubicación de distal a proximal según aumenta la edad del enfermo²⁰. Globalmente, suele haber un predominio en la localización distal, como sucedió en nuestra serie, a expensas fundamentalmente del sigma.

Algunos estudios indican que el cáncer de colon avanzado se localiza a nivel proximal en el 33% de los pacientes; pero, desgraciadamente, no existe constancia científica que relacione la localización con la recaída peritoneal.

En nuestro estudio se consideró que la localización proximal podría ser un factor de riesgo al albergar subtipos histológicos más agresivos y presentar un estadiaje peor cuanto más cerca del ciego nos situábamos. Obtuvimos 158 (39%) enfermos con una localización proximal al ángulo esplénico, de los cuales 20 (12'7%) presentaron enfermedad recurrente en el peritoneo sin conseguir ninguna significación estadística. Por tanto, parece que la ubicación tumoral por sí misma no condiona este tipo de recaída.

El sangrado tumoral ha sido implicado en el desarrollo de la carcinomatosis peritoneal desde hace tiempo^{142, 290} pero ningún estudio ha llegado a establecer su influencia real. Un análisis de 176 pacientes que fueron tratados con urgencia por sangrado tumoral desveló una peor supervivencia ($p<0'001$) pero no aportó ninguna

información sobre el tipo de recidiva que presentaron. Tampoco podemos establecer si la supervivencia estuvo condicionada por la urgencia o por el propio sangrado²⁹⁸.

En el estudio actual nos resulta imposible establecer su riesgo para carcinomatosis metacrónica porque se registraron sólo dos pacientes en los que se había descrito un sangrado libre desde el tumor primario a la cavidad abdominal y, casualmente, ninguno de los dos enfermos presentó recaída peritoneal.

4.- Aplicación de biomarcadores inmunohistoquímicos en recaída peritoneal

Una limitación importante de nuestro análisis fue el escaso número de pacientes que pudieron ser sometidos a estudios inmunohistoquímicos. Esto empobrece una parte de nuestros resultados ya que hemos tenido que evaluar de forma global la influencia de los biomarcadores sobre el riesgo de presentar recurrencia carcinomatosa en el seguimiento de una colectomía con intención curativa.

4.1.- Implicaciones del c-Met

La expresión de c-Met se ha asociado con una mayor agresividad tumoral y un peor pronóstico del cáncer de colon. Diversos autores han intentado relacionar la expresión de este biomarcador con diferentes factores clínicos e histológicos de mal pronóstico para la enfermedad²⁹⁹⁻³⁰¹ pero no se ha podido generar ningún consenso al respecto.

En cualquier caso, la mayoría de estos estudios concuerdan en una mayor sobreexpresión de c-Met cuanto mayor es el grado de infiltración de la pared colónica y en presencia de metástasis ganglionares o hepáticas. Estos hallazgos sugieren que este biomarcador presenta una sobreexpresión creciente según avanza la enfermedad pudiéndose establecer una correlación con el estadio. De hecho, la mayoría de los autores constatan una mayor expresión c-Met en la metástasis que en el tumor primario^{169, 302}. Sin embargo, no hemos encontrado ningún estudio que correlacione directamente la carcinomatosis peritoneal, como modelo de metástasis, con este biomarcador.

Sin embargo, en nuestro análisis, la inmunotinción para c-Met resultó negativa para más de la mitad de los pacientes. Aún así, estuvo muy cerca de alcanzar la significación estadística ($p=0.074$) a la hora de predecir el riesgo de presentar una recaída peritoneal, quizás derivado del mayor número de pacientes con dicha recurrencia cuando la inmunotinción fue positiva.

A la vista de este resultado y en ausencia de recidiva, su determinación sobre el tumor primario no debería ser suficiente para predecir el riesgo de recaída peritoneal pero, en presencia de factores de riesgo clínico o histológico, cuando es positivo habría que valorar esta posibilidad. Desconocemos si su valoración en los implantes peritoneales denotarían una mayor expresión que en el tumor primario pero esto no resulta relevante en nuestro estudio ya que nuestro objetivo era el de preveer la enfermedad.

Algunos autores³⁰³ han objetivado una mayor sobreexpresión del biomarcador en las metástasis a distancia cuando coexisten con afectación ganglionar lo cual sugiere que las células mantendrían y amplificarían la expresión génica de sus progenitoras a medida que progresa la metastatización. En este contexto, cabría esperar que el comportamiento del implante peritoneal sería el mismo que para cualquier metástasis, expresando más c-Met que el tumor primario³⁰⁴. Este hecho supondría una mayor plasticidad y agresividad de la célula tumoral en dicho implante, por cambios en su fenotipo, que facilitaría su consolidación en el mesotelio.

Por otro lado, el resultado de las interacciones de c-Met con otros biomarcadores también podría determinar su efectividad para predecir ésta y otras formas de recurrencia. La ocupación del receptor por ligandos terapéuticos podría influir en su negatividad sobre pacientes que hubieran recibido quimioterapia³⁰⁵, aunque éste aspecto se encuentra descartado en nuestros enfermos porque las muestras analizadas corresponden al diagnóstico sin haber iniciado ningún tratamiento adyuvante.

El paralelismo publicado por algunos autores entre el concepto “budding” y una marcada tinción de c-Met podría estar definiendo simplemente que este inmunomarcador expresa áreas de desdiferenciación en el frente de invasión tumoral como inicio del proceso de transición epitelio-mesénquima^{35, 37}. Sin embargo, pensamos que sería necesario otras condiciones añadidas para que estas células, aún siendo potencialmente metastásicas, acaben implantando en el peritoneo.

4.2.- Implicaciones del IGF-1

El eje IGF-1 podría estar implicado en la colonización peritoneal por su papel en la proliferación celular, la transición de epitelio a mesénquima y la regulación del microambiente tumoral.

Su receptor IGFR-1 puede interactuar con otros ligandos como IGF-2 y la insulina con una afinidad decreciente de tal forma que su efecto final variará dependiendo del contexto celular y del microambiente extracelular¹⁸⁷. Se expresa en

diferentes tipos celulares y está directamente relacionado con el desarrollo del cáncer. Este hecho está promoviendo la investigación de inhibidores de este receptor a nivel de las células madre malignizadas del colon con intención de resolver fenómenos asociados a la quimiorresistencia del cáncer^{306, 307}.

El inmunomarcaje que hemos observado en ciertas poblaciones de linfocitos de la periferia de los centros germinales también podría aportar alguna pista sobre la respuesta inmune del huésped al tumor, ya que la activación de IGFR-1 ejerce un efecto proinflamatorio y antinmunitario, y su bloqueo produce un aflujo de células inmunes al tumor contribuyendo a la reducción de su tamaño¹⁸⁹.

A favor de esta hipótesis, un estudio sobre leucemia linfocítica crónica³⁰⁸ sugiere la posibilidad de una síntesis de IGF-1 independiente de la hormona de crecimiento con efecto autocrino sobre células inmunes linfocitarias que prolongarían su supervivencia y efecto antitumoral. Así, una tinción reducida para IGFR-1 en el tumor primario acompañado de una elevada población linfocitaria debería sugerir una respuesta aumentada del sistema inmune frente al cáncer y un menor riesgo de colonización peritoneal posterior.

Por otra parte, hemos observado en algunos pacientes una intensa inmunotinción en el área tumoral y los vasos linfáticos peritumorales a modo de linfangitis carcinomatosa a lo cual encontramos explicación en la actividad angiogénica, tanto vascular como linfática, del IGF-1 al promover la proliferación endotelial y permeabilidad capilar. Uno de los efectos visibles de esta neovascularización es el aumento de la densidad vascular del tumor³⁰⁹ que serviría de indicador indirecto de mal pronóstico.

La inducción de una diseminación vasculolinfática y extravascular permitiría adicionalmente la fuga de células tumorales a la circulación sistémica a modo de metástasis en tránsito y una siembra de células neoplásicas en el mesenterio y tejidos pericólicos.

En consecuencia, un inmunomarcaje alto para IGF-1 y IGFR-1 se podría relacionar con metástasis ganglionares, permeación vascular, infiltración perineural y depósitos de células tumorales en el mesenterio, asociados de forma muy significativa ($p=0'000$) a la recaída carcinomatosa en nuestro análisis. Así, este biomarcador expresaría un estadiaje tumoral alto y se asociaría con aquellos factores de riesgo para recurrencia peritoneal²⁶⁰ relacionados directa o indirectamente con la angiogénesis tumoral.

En este sentido, el estudio inmunohistoquímico que realizamos comparando los pacientes según presentaran o no recurrencia carcinomatosa fue claramente favorable al grupo con recaída ($p=0'022$) observando elevados porcentajes de positividad para

IGF-1 en la mayoría de los casos. Este aspecto nos hace prever una elevada efectividad de este biomarcador como activador del eje IGF-1/IGFR-1 para predecir recaída peritoneal como apuntan otros autores^{164, 310} ya que otros ligandos del receptor podrían definir el inicio del proceso neoplásico pero no guardan una relación directa con progresión de la enfermedad.

Algunos autores han relacionado IGF-1 con el pronóstico del cáncer de colon al observar una elevación sérica de este biomarcador en pacientes varones mayores de 60 años, tumores con mayor infiltración parietal (T₃ y T₄), pobre diferenciación (G₃) y subtipo mucinoso³¹¹.

La evaluación de estos factores en nuestra serie encontró relación estadística con respecto a la recaída carcinomatosa en los tumores T₄ (p=0'000), mucinosos (p=0'003) y con pobre diferenciación (p=0'000), pero el número de pacientes en la población general que presentaron estas características fue escaso. Sin embargo, la infiltración parietal T₄ mantuvo la significación estadística (p=0'034) en el análisis multivariante. En base a las limitaciones de este estudio, pensamos que estos factores histopatológicos de mal pronóstico no se acompañan necesariamente de una sobreexpresión de este biomarcador en el tejido tumoral pero deberíamos tenerlos en cuenta como signos indirectos de la actividad de IGF-1 sobre la oncogénesis. Necesitaremos un estudio con inclusión de más pacientes para comprobar esta suposición.

Por otro lado, la diabetes mellitus tipo II debería jugar un papel importante en el desarrollo de la carcinomatosis ya que la hiperinsulinemia se asocia a un incremento de la bioactividad de IGF-1 y la intensa positividad de los receptores de insulina observada en los vasos del estroma peritumoral podría facilitar la angiogénesis^{245, 312}.

En nuestro estudio, el escaso número de pacientes con la enfermedad registrada nos dificulta obtener conclusiones sobre su influencia aunque, a priori, su discriminación por grupos no parece guardar una relación directa con la recaída peritoneal (p=0'901), al contrario de lo esperado por la literatura por su repercusión pronóstica en el cáncer de colon.

4.3.- Implicaciones de la plexina β_1

Este biomarcador participa en funciones directamente relacionadas con la viabilidad y agresividad de la célula maligna como son la inhibición del control inmunitario y la transformación del fenotipo epitelial, pero también se encuentra implicado en procesos que promueven aporte nutricional y vías de diseminación como la angiogénesis o la infiltración perineural^{193, 197, 198}.

Su efecto sobre el fenotipo celular le confiere un papel relevante como indicador de transición epitelio-mesénquima por lo que sería de esperar una fuerte inmunotinción cuanto más indiferenciado se encuentre el tumor.

Así, en algunos casos de nuestra serie, se observó una fuerte inmunotinción en células indiferenciadas que se encontraban sueltas en el estroma y en los frentes de invasión. Este hallazgo avalaría su papel como marcador de células que han perdido su arquitectura epitelial y se encuentran en disposición de una colonización a distancia si las vías de diseminación y el microambiente del nuevo tejido son favorables.

En nuestra serie, la evaluación de las inmunotinciones para este marcador puso de manifiesto que más del 85% de los pacientes seleccionados presentaron una tinción positiva, presentaron o no recaída peritoneal, y su asociación a la probabilidad de recurrencia carcinomatosa fue estadísticamente significativa ($p=0.021$). Estas dos circunstancias nos sugieren indirectamente que este biomarcador sería el mejor de los tres examinados en la predicción del riesgo ya que su alta positividad en el conjunto de pacientes resulta coherente con una población especialmente susceptible de padecer recurrencia peritoneal al haber sido seleccionada por factores de riesgo o padecerla independientemente de que los tuviera.

Este detalle y elevado número de pacientes con un porcentaje de inmunotinción positiva superior al 60% también podrían explicar porqué fue seleccionado en el modelo multivariante a pesar de presentar una significación estadística previa muy similar a IGF-1.

Por otro lado, su participación en diferentes vías de diseminación tumoral con relevancia significativa para recaída peritoneal como la infiltración ganglionar, la neovascularización y la proliferación nerviosa peritumoral intuyen un papel relevante de este biomarcador no sólo en el proceso de adaptación de la célula para la invasión, a través de su indiferenciación, si no también en los medios necesarios para el transporte y colonización de la misma en el peritoneo.

En este contexto, pensamos que su inmunopositividad será mayor cuantos más factores de riesgo clínico o histológico tenga el paciente.

4.4.- Implicaciones del colágeno $\text{XI}\alpha_1$

La inmunotinción positiva para colágeno $\text{XI}\alpha_1$ presentada en la totalidad de los pacientes examinados, sin ningún tipo de discriminación sobre los que presentaron recaída peritoneal, nos indica que este biomarcador se asocia con una gran efectividad al diagnóstico de carcinoma infiltrante²¹¹, característico del cáncer de colon, pero no es capaz de establecer ninguna diferencia a la hora de predecir esta

recurrencia; a pesar de haberse considerado un indicador de mal pronóstico asociado a un estadio tumoral más avanzado²¹⁵ por su tendencia a una mayor expresión en los pacientes con infiltración ganglionar o metástasis a distancia.

En la actualidad, existe controversia sobre el origen epitelial o estromal de estas células “pseudofibroblásticas” que expresan colágeno $XI\alpha_1$. En nuestra valoración de las muestras inmunoteñidas, la presencia de células tumorales muy indiferenciadas en el estroma tumoral con características morfológicas similares a las células mesenquimales nos lleva a sugerir que los fibroblastos asociados al cáncer podrían tener un origen compartido entre células progenitoras del propio mesénquima y células tumorales indiferenciadas que adquieren funciones de célula estromal con capacidad migratoria.

A favor de esta observación contamos con el estudio de Sok JC et al²¹² realizado sobre 23 pacientes con diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello donde comparó fibroblastos estromales con células epiteliales malignas y sanas encontrando una expresión incrementada de los niveles de ARNm del colágeno $XI\alpha_1$ en las células malignas y los fibroblastos pero no en las normales, concluyendo que la elevación de esta forma de colágeno podría provenir de ambos tipos de células.

Esta afirmación sería consecuente con las células inmunoteñidas para plexina β_1 que hemos observado en el estroma tumoral sin poder definir su naturaleza estromal o epitelial por el grado de indiferenciación que presentaban. Creemos que esta observación es compatible con la falta de asociación entre el grado de diferenciación tumoral y la expresión de procolágeno $XI\alpha_1$ presentada por Galván J et al²¹⁵, a pesar del escaso número de pacientes que valoraron; ya que la propiedad de célula “pseudofibroblástica” sería adoptada sólo por aquellas células tumorales con mayor grado de indiferenciación.

Adicionalmente, otros autores han identificado células estromales en cáncer de colon que expresaban al mismo tipo procolágeno $XI\alpha_1$, actina α de músculo liso y vimentina a nivel citoplasmático²¹⁵.

Si tenemos en cuenta que los miofibroblastos normales no expresan estos marcadores, estaríamos ante la presencia de una célula maligna con la propiedad de movimiento y modificación de su microambiente a través del colágeno.

Las directrices de expresión del colágeno $XI\alpha_1$ en este cáncer nos hace pensar que este trazador sólo podría ser considerado como inmunomarcador asociado a malignidad en tumores infiltrantes pero no específico de recurrencia ni de localización de la misma a pesar de su implicación en la carcinogénesis como componente de la matriz extracelular.

Pensamos que debería analizarse la influencia de otras formas de colágeno en nuevas investigaciones sobre carcinomatosis peritoneal de colon al tratarse del principal componente de la matriz extracelular y mediador básico en su arquitectura. En este sentido, sugerimos la valoración del colágeno XVII³¹³, al asociarse también con un crecimiento infiltrativo y un mayor riesgo de metástasis ganglionares y a distancia.

5.- Validación del modelo predictivo para recurrencia carcinomatosa

En la actualidad, como hemos expuesto anteriormente, existen pocos estudios clínicos e histopatológicos sobre los factores de riesgo implicados en la carcinomatosis peritoneal como forma de recaída en el cáncer de colon y la mayoría hacen referencia a revisiones bibliográficas con grandes discrepancias de resultados o una escasa experiencia personal^{74, 151}, que no permite definir qué grupo de pacientes se podría beneficiar de esta estrategia.

El desarrollo de la biología molecular está intentando aportar una nueva expectativa ofreciendo explicaciones sobre los mecanismos de diseminación peritoneal¹⁶⁰ pero existe una gran confrontación de resultados y pocos biomarcadores han sido relacionados con el proceso carcinomatoso.

Si consideramos que la mejor propuesta actual es una re-laparotomía con opción de una cirugía agresiva, basada en cirugía de citorreducción completa y quimioterapia intraperitoneal hipertérmica, que no siempre estaría justificada por la extensión peritoneal y que todos los pacientes no presentan un estado funcional adecuado para su indicación; parece evidente el esfuerzo por una mejor filiación de los grupos de riesgo.

El único estudio actual conocido que establece un modelo de predicción individual sobre el riesgo de recaída peritoneal, mediante una puntuación de los factores de riesgo con significación pronóstica, fue propuesto por Segelman J et al²²³ en base a un registro sueco de 5348 pacientes en estadio I-III sometidos a cirugía curativa; pero carece todavía de una validación externa que impide su uso universal.

En nuestro modelo predictivo, se incluyó el mismo criterio quirúrgico y de estadiaje pero hemos ampliado el número de factores de riesgo testados, a la vista de la literatura y nuestra observación clínica, y hemos añadido la valoración de los cuatro biomarcadores inmunohistoquímicos reseñados por sus características moleculares en el proceso de diseminación tumoral.

A diferencia de esta autora, no pensamos que sea trascendental conocer la probabilidad de riesgo por año transcurrido desde la resección de colon, porque esta probabilidad irá en aumento a medida que pase el tiempo y el periodo de máxima incidencia de recaída se sitúa entre los 16 y 18 meses después de la intervención⁶⁹.

Pensamos que nuestro modelo representa a una población homogénea en la valoración de la recaída peritoneal del cáncer colónico en nuestra área de influencia sanitaria al haber seleccionado, mediante criterios de inclusión estrictos, pacientes consecutivos durante un periodo de estudio amplio que fueron intervenidos por un número limitado de cirujanos y sometidos a los esquemas tradicionales de adyuvancia, anteriores a la instauración de los nuevos citostáticos y la terapia biológica.

En el proceso de selección de variables analizadas para este fin se excluyeron aquellas que no tuvieran información en más del 75% de la población para no prescindir de otras, con alta representación, que serían descartadas en los sucesivos pasos del modelo estadístico; condicionando una pérdida importante de su fuerza estadística.

Al igual que en el análisis de Segelman J et al, el diagnóstico de recurrencia peritoneal por la presencia de algún tipo de sintomatología o estudio de imagen y sin haber realizado ningún tipo de second-look de rutina supone una limitación importante en la valoración de los resultados ya que podemos estar infraestimando el número de pacientes que presentaron realmente una recaída peritoneal. Gilbert JM et al³¹⁴ llevan más allá esta valoración al describir que la tasa de carcinomatosis podía variar entre un 7% cuando se realizaba un diagnóstico clínico premortem y un 55% si se descubría en autopsia.

Si tenemos en cuenta que 48 (11'8%) pacientes de nuestra serie presentaron recaída peritoneal y sólo en 11 (2'7%) de ellos hubo enfermedad exclusivamente en el peritoneo, estaríamos muy por debajo de las cifras documentadas en la literatura antes de la era del tratamiento hipertérmico intraperitoneal, con recidivas del 50 y 25%, respectivamente⁷¹⁻⁷³. Una explicación a estas diferencias podría estar en que 195 (48'1%) de nuestros casos presentaron un estadiaje inferior T₃N₀M₀ al diagnóstico y es presumible que carecieran de muchos de los factores de mal pronóstico considerados. Por otro lado, es posible que algunos enfermos que fueran diagnosticados de otro tipo de metástasis diferente no llegaran a ser filiados de carcinomatosis al ser incluidos directamente en un tratamiento paliativo.

En este sentido, deberíamos considerar que la realización de un second-look sistemático en pacientes asintomáticos considerados de alto riesgo por presentar carcinomatosis sincrónica al diagnóstico, metástasis ovárica o perforación tumoral diagnosticaría más del 50% de dichos casos asintomáticos, aunque desconocemos si

una inclusión de más factores de alto riesgo supondría un aumento significativo de estos porcentajes^{74, 111}. Quizás la aportación de estudios similares al sueco y al nuestro ofrezca alguna información sobre esta cuestión.

Una de las características que ofrece legitimidad a nuestro modelo matemático es su fuerte asociación al riesgo de recaída que presentaron todas nuestras variables, con un OR superior 2.

La influencia de la carcinomatosis peritoneal sincrónica confirma la opinión expresada por los autores con mayor experiencia en la materia. Presenta una fuerte asociación a la recidiva peritoneal alcanzando cifras que alcanzan el 75% de los casos, especialmente cuanto mayor es el tiempo transcurrido desde la intervención quirúrgica inicial. En nuestro caso, fue el factor que mayor riesgo imprimió a la recaída peritoneal en el modelo multivariante. La explicación a esta fuerte asociación podría encontrarse en una siembra peritoneal microscópica que pasó desapercibida por el cirujano a pesar de considerar la intervención como curativa, quedando aislada a modo de “santuarios” que se reactivaron después del tratamiento adyuvante si éste estuvo indicado.

Creemos que la fuerte significación estadística atribuida a los depósitos tumorales (N_{1c}) supone una novedosa aportación al estadiaje⁷ que hemos utilizado para homogenizar todos nuestros casos, al tiempo confirma nuestra sospecha de asociación directa con una carcinomatosis peritoneal encubierta. En realidad, parece poco trascendente si estas células tienen su origen en una extravasación linfovascular o una sustitución completa del tejido ganglionar por cáncer pero su comportamiento clínico es similar al implante peritoneal. Quizás, su riesgo resulta algo inferior a la carcinomatosis sincrónica por defectos en la interpretación de los informes histopatológicos de los pacientes, que lógicamente fueron emitidos antes del año 2010.

En el caso de la anemia, resultó curiosa su relación con la recaída aportando un riesgo 4'68 veces cuando la cifra de hemoglobina era inferior a los 10 gr/dL. Se admite que no sería la anemia propiamente dicha la que determinaría la recurrencia sino la necesidad de transfusión por su efecto inmuno supresor. En el periodo de nuestro estudio, las probabilidades de transfusión perioperatoria con estas cifras de hemoglobina eran muy altas y el riesgo de recurrencia

Es posible que los tratamientos preoperatorios actuales para mejorar las cifras de anemia en estos enfermos reduzcan el número de enfermos transfundidos mejorando la relación de riesgo atribuida a este factor. Por otro lado, los nuevos criterios de transfusión retrasan la administración de sangre si las condiciones del

paciente lo permiten por lo que si este mismo estudio fuera realizado en unos años la influencia de las cifras de hemoglobina en la recaída pudiera ser diferente.

Hasta la fecha, el CEA parece el mejor marcador sérico tumoral en el seguimiento de este cáncer. Su elevación patológica guarda una estrecha relación con la probabilidad de recurrencia tumoral, estableciéndose una mayor probabilidad de metástasis a distancia cuanto mayor sea su valor. De acuerdo con nuestros resultados, esta asociación parece mantenerse en la recaída peritoneal pues estaría reflejando la actividad metabólica de las células tumorales para la síntesis de este antígeno, de forma que a mayor extensión peritoneal sería esperado un mayor volumen tumoral y cifras más elevadas del marcador. Encontraríamos su excepción en algunas formas especiales del cáncer y en los casos con una carcinomatosis muy limitada, generalmente en pacientes asintomáticos. Su significación estadística ajustada ($p=0.083$) podría expresar otras causas no oncológicas de elevación a modo de falsos positivos, que habría que tener en cuenta en el conjunto del seguimiento.

El tamaño tumoral no guarda una relación directa con el estadiaje pero parece evidente que a mayor tamaño la probabilidad de infiltración parietal en profundidad y de los tejidos adyacentes debería aumentar. Estas circunstancias también facilitarían el descamamiento de células tumorales al peritoneo. Creemos que los resultados del análisis multivariante avalan el límite de tamaño por el que definimos el riesgo de recaída, ya que un tumor por encima de 5 centímetros sugiere haber iniciado alguna de estas dos formas del proceso carcinomatoso, la infiltración o la descamación.

Con respecto al modelo matemático propuesto por Segelman J et al coincidimos en la influencia del grado de infiltración parietal sobre todo cuando el tumor alcanzaba el peritoneo visceral (T_4). Dicha autora estableció también un riesgo superior a 6 veces (hazard ratio: 6.53) en su modelo multivariante para los tumores que atraviesan la muscularis mucosae (T_3). Sin embargo, en nuestro análisis se descartó este grado de infiltración para evitar sesgos atribuidos al subtipo histológico, de acuerdo con la revisión bibliográfica sobre factores de riesgo carcinomatoso realizada por Honoré et al¹⁵¹ al relacionar un mayor riesgo de éste con los tumores mucinosos o en anillo de sello. Por este motivo, pensamos que la inclusión de tumores T_3 como factor de riesgo sólo deberíamos hacerlo en concomitancia con un subtipo mucinoso o en anillo de sello.

La atracción bidireccional entre estructuras nerviosas y las células tumorales o el efecto angiogénico observado por algunos autores en las inmunotinciones con plexina β_1 ^{190, 193, 198} o la diseminación linfática que hemos observado nosotros en algunas tinciones positivas para IGF-1 podrían explicar el concepto de metástasis en tránsito para este cáncer. Se trataría de células que utilizarían las redes

neurovasculares en su diseminación a distancia aunque podrían llegar a colonizar el mesotelio si resultan favorables sus características biológicas y el microambiente. Por tanto, pensamos que la infiltración perineural y la invasión vascular serían responsables indirectos de una diseminación peritoneal a partir de cualquier foco de colonización.

En nuestro modelo multivariante, se conservó la relevancia estadística solamente para la infiltración perineural. No obstante, si nos basamos en esta observación y la fuerte asociación al riesgo encontrada previamente (OR=5'807) para la invasión/permeación vascular no deberíamos restar importancia a su influencia carcinomatosa cuando se omite la información sobre infiltración perineural en un informe histológico sobre este cáncer.

De forma similar, el modelo estadístico utilizado descartó la perforación intestinal y la metástasis ovárica a pesar de ser consideradas como factor de alto riesgo en la mayoría de las series. La primera podría estar en relación con que alguna de las 27 perforaciones registradas pudo realizarse en la vecindad del tumor o a distancia del mismo no contribuyendo directamente en la siembra peritoneal de células malignas. La metástasis ovárica quedó excluida debido a la escasa trascendencia que hubieran significado los dos casos registrados, anulando la veracidad de cualquier modelo predictivo resultante.

Creemos que el resto de variables seleccionadas para el estudio multivariante fueron descartadas en la elaboración de la fórmula matemática por los siguientes motivos:

La hipertensión y la ausencia de dislipemia podrían tener una influencia multifactorial al formar parte del síndrome metabólico restando peso estadístico a la hora de establecer probabilidad de recaída. De hecho, presentaron una $p < 0'05$ en el análisis univariante.

El porcentaje linfocitos séricos y el índice neutrófilo/linfocito parecen expresar una lectura de la influencia del sistema inmune sobre el tumor pero su escasa relevancia estadística en el análisis multivariante podría estar influenciada por el efecto inflamatorio peritumoral o por otras circunstancias que generen algún tipo de inmunosupresión, por ejemplo la necesidad de transfusiones recientes.

La cirugía urgente puede realizarse en el contexto de diversas indicaciones pero sólo la perforación, cuando guarda una relación directa con el tumor, parece asociarse al riesgo de recaída carcinomatosa. Por este motivo, creemos que la influencia de sesgos atribuidos a la indicación habría contribuido a su exclusión de la fórmula matemática.

El efecto de la quimioterapia debería ser teóricamente protector de riesgo de recaída. Sin embargo, la mala respuesta al tratamiento en algunos pacientes con recurrencias peritoneales precoces y extensas ha motivado un debate abierto sobre su influencia peritoneal¹⁵¹. Se desconoce las causas de esta evolución desfavorable pero podría estar relacionada con una resistencia celular inducida por el citostático o la activación de vías moleculares que confieren agresividad a la célula. En nuestro caso, la adyuvancia alcanzó relevancia en el análisis univariante ($p=0'000$) pero no tuvo influencia sobre la regresión logística lo cual nos hace pensar que los citostáticos utilizados antes del inicio de la terapia biológica presentan poca influencia sobre la recaída peritoneal. Esta observación hace suponer que esta nueva terapia tampoco debería condicionar riesgo teniendo en cuenta la mejoría pronóstica global presentada en este cáncer desde su instauración. Esta apreciación fue contraria a la observada por Segelman J et al, que pudo estar motivada por disponer de una mayor muestra de pacientes sometidos a diferentes esquemas de tratamiento incluso biológico.

En lo que respecta al grado de diferenciación, no encontramos una explicación plausible a nuestros resultados estadísticos salvo su coincidencia con la literatura al ser más frecuente en la carcinomatosis sincrónica pero no un predictor independiente para la presentación metacrónica¹¹².

La infiltración ganglionar fue incluida en la fórmula matemática sueca por su asociación a la recurrencia peritoneal, especialmente cuando el número de adenopatías analizadas fue inferior a doce²²³. Pensamos que su exclusión en nuestro modelo de predicción pudo estar influido por el número de pacientes que fueron considerados sin enfermedad ganglionar, independientemente del número de ganglios aislados.

Por último, la influencia cruzada de los subtipos histológicos mucinoso y en anillo de sello y la escasa muestra poblacional con esta característica pudieron ser causa de su intrascendencia en nuestro modelo matemático.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, todos los biomarcadores evaluados son capaces de mediar la transición epitelio-mesénquima por su participación en la polaridad y adhesión celular, confiriendo la propiedad migratoria a las células epiteliales malignizadas. Sin embargo, resulta evidente la necesidad de otras condiciones locales para que se produzca la colonización mesotelial.

En el caso de c-Met, la mayoría de los cánceres de colon presentan una amplificación de este receptor¹⁷³ y una activación desmedida del mismo por un aumento en la producción de HGF desde el estroma mesotelial. Ambos hechos podrían facilitar la proliferación celular y una invasividad peritoneal cada vez mayor por

activación de diferentes vías de señalización intracelular o la interacción con funciones moleculares de otros biomarcadores.

En cambio, la IGF-1 y la plexina β_1 tienen en común la propiedad de modular la respuesta inmune antitumoral y facilitar la angiogénesis a través de mecanismos biológicos diferentes. Su papel en la colonización peritoneal estaría vinculado a una deficiencia de la respuesta del huésped frente al tumor y a la construcción de una densa red linfovascular que sustente el metabolismo nutricional de las células.

La similitud estadística que presentan estos dos inmunomarcadores nos sugiere también este paralelismo aunque la mayor inmunopositividad presentada por la plexina β_1 pudiera aportar a este biomarcador un papel más discriminativo que IGF-1 a la hora de predecir recurrencia peritoneal a través de nuestra fórmula matemática.

La participación del colágeno $XI\alpha_1$ en el asentamiento peritoneal resulta dudosa al expresarse sin diferencias en los dos grupos estudiados. De acuerdo con la literatura, representaría un indicador de riesgo de metástasis ganglionares y a distancia pero no parece que defina la probabilidad de afectación peritoneal.

A la vista de las limitaciones del presente estudio, sería importante planificar un proyecto más ambicioso en el futuro, con un presupuesto mayor y una selección más específica de las variables, que permita ampliar el número de pacientes reclutados y realizar las técnicas inmunohistoquímicas a la totalidad de los casos con el objeto de conocer la verdadera influencia de estos biomarcadores en la predicción de riesgo de recurrencia carcinomatosa

Esta nueva perspectiva nos podría ayudar a elaborar una única fórmula que unifique los factores de riesgo clínico, histológicos e inmunohistoquímicos. La validación de un modelo único de predicción de riesgo de recaída peritoneal podría ser una herramienta de gran utilidad a la hora de establecer estrategias de adyuvancia y seguimiento en las sesiones multidisciplinarias.

En espera de este proyecto, no podemos sugerir ninguna recomendación práctica desde el punto de vista inmunohistoquímico, a pesar de observarse datos prometedores que precisan ser confirmados en nuevas series. En cambio, la fórmula clínico-histológica nos ofrece una visión más exacta del riesgo de recurrencia de tal manera que un paciente con una estimación de riesgo superior al 15% presenta una probabilidad del padecer la recaída del 70%, al tiempo que una estimación inferior descartaría dicha recidiva con un probabilidad del 87'9%.

A pesar de los posibles defectos de nuestro modelo, pensamos que puede tener la suficiente consistencia como para ofrecer un seguimiento oncológico especial a este grupo de pacientes de alto riesgo de recaída, considerando la posibilidad propuesta por Elias D et al⁷⁴ de un second-look al año de la intervención quirúrgica

inicial o seis meses después del tratamiento adyuvante aunque los estudios de imagen y los marcadores biológicos hubieran resultado normales, en busca de enfermedad peritoneal asintomática.

De esta forma, se rescataría un porcentaje importante de pacientes que se podría beneficiar de una cirugía citorreductora completa seguida de quimioterapia intraperitoneal hipertérmica, mejorando el pronóstico de su enfermedad.

La validación externa de este tipo de modelos permitirá en el futuro una mejor selección de los factores de riesgo y, posiblemente, avances en el tratamiento.

CONCLUSIONES

1. Los siguientes factores generan un aumento del riesgo clínico-patológico en la predicción de recaída peritoneal por cáncer de colon:
 - Carcinomatosis peritoneal sincrónica al diagnóstico del cáncer de colon
 - Existencia de depósitos tumorales (N_{1c}) en el área de drenaje linfático tumoral
 - Infiltración tumoral de la serosa visceral o de estructuras adyacentes (T_4)
 - Infiltración perineural
 - Anemia inferior a 10 gr/dL de hemoglobina
 - CEA sérico patológico al diagnóstico
 - Tamaño del tumor primario superior a 5 centímetros.

2. La determinación del CEA sérico al diagnóstico y durante el seguimiento oncológico del cáncer de colon puede facilitar la predicción de carcinomatosis postoperatoria en presencia de otros factores de riesgo, especialmente cuando el nivel sérico preoperatorio es superior a 5 ng/mL.

3. La inmunotinción positiva para c-Met, IGF-1 y plexina β_1 en el tumor primario de colon son factores de riesgo en la predicción de recurrencia peritoneal.

4. La expresión de colágeno $XI\alpha_1$ es un buen indicador en el diagnóstico de carcinoma infiltrante pero no es un predictor de recaída peritoneal.

5. Las fórmulas matemáticas de riesgo clínico-histológico e inmunohistoquímico para el riesgo de recaída carcinomatosa de colon son simples y fáciles de aplicar en la práctica clínica diaria.

6. Nuestro modelo predictivo clínico-histológico puede tener una clara utilidad en la práctica clínica actual de nuestro medio sanitario por su elevada sensibilidad y especificidad para determinar el riesgo de recaída carcinomatosa en cáncer de colon, en espera de su validación externa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005; **55**(2): 74-108.
2. Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015; **65**(1): 5-29.
3. Terhaar sive Droste J, van Wanrooij R, Morsink L, van der Hulst R, Craanen M, Bartelsman J, et al. Diagnostiek van colorectale tumoren in de dagelijkse praktijk. Vergelijking van coloscopie en sigmoidoscopie. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2009; **153**: A731.
4. El cáncer colo-rectal como problema de salud pública en Cantabria. In: González de Aledo A, editor. Programa de detección precoz del cáncer colorrectal en Cantabria. 2ª ed: Gobierno de Cantabria. Consejería de Sanidad. Dirección General de Salud Pública; 2011. p. 21-31.
5. Dukes C. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol.* 1932; **35**: 323-32.
6. Sobin L, Wittekind C. UICC TNM Classification of malignant tumors. 6th ed: New York: John Wiley & Sons, Inc; 2002.
7. Edge S, Byrd D, Compton C, Fritz A, Greene F, Trotti A. Colon and Rectum Cancer Staging. In: AJCC, editor. Cancer Staging Manual. 7th ed. Chicago, Illinois: Springer; 2010.
8. Steinert R, Hantschick M, Vieth M, Gastinger I, Kühnel F, Lippert H, et al. Influence of subclinical tumor spreading on survival after curative surgery for colorectal cancer. *Arch Surg.* 2008; **143**(2): 122-8.

9. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2001; **93**(8): 583-96.
10. West N, Morris E, Rotimi O, Cairns A, Finan P, Quirke P. Pathology grading of colon cancer surgical resection and its association with survival: a retrospective observational study. *Lancet Oncol.* 2008; **9**(9): 857-65.
11. Arlt F, Stein U. Colon cancer metastasis: MACC1 and Met as metastatic pacemakers. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; **41**(12): 2356-9.
12. Knorr C, Reingruber B, Meyer T, Hohenberger W, Stremmel C. Peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer: incidence, prognosis, and treatment modalities. *Int J Colorectal Dis.* 2004; **19**(3): 181-7.
13. Sandler R. Epidemiology and risk factors for colorectal cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 1996; **25**(4): 717-35.
14. Shellnut J, Wasvary H, Grodsky M, Boura J, Priest S. Evaluating the age distribution of patients with colorectal cancer: are the United States Preventative Services Task Force guidelines for colorectal cancer screening appropriate? *Dis Colon Rectum.* 2010; **53**(1): 5-8.
15. Fuentes-Albuero A, Ruiz-Molina J, Lopez-Basave H. Factores hormonales asociados al cáncer colorrectal. *Gamo.* 2008; **7**(Suppl 4): 16-9.
16. Yang Y, Mauldin P, Ebeling M, Hulsey T, Liu B, Thomas M, et al. Effect of metabolic syndrome and its components on recurrence and survival in colon cancer patients. *Cancer.* 2013; **119**(8): 1512-20.
17. Fuchs C, Giovannucci E, Colditz G, Hunter D, Speizer F, Willett W. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1994; **331**(25): 1669-74.
18. Heald R. Synchronous and metachronous carcinoma of the colon and rectum. *Ann R Coll Surg Engl.* 1990; **72**(3): 172-4.
19. Bosch Roig C, Morales Suárez-Varela M, Molins Palau C, Almenar Cubells D, Olmos Antón S, Muñoz Langa J, et al. Adenocarcinoma colorrectal: factores pronósticos de supervivencia en el tratamiento adyuvante con 5-Fluorouracilo-Levamisol (5FU-Lev). *Oncología (Barc).* 2004; **27**(8): 26-34.
20. Cheng-Robles D, Murrel Z. Colon cancer evaluation and staging. In: Bailey H, Billingham R, Satmos M, Snyder M, editors. *Colorrectal surgery.* Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p. 234-42.
21. Urrejola G, Bambs C, Espinoza M, Gellona J, Zúñiga A, Molina M, et al. Un índice neutrofilo/linfocito elevado se asocia a peor pronóstico en cáncer de colon en etapa II resecado. *Rev Med Chil.* 2013; **141**(5): 602-8.

22. Shao N, Cai Q. High pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio predicts recurrence and poor prognosis for combined small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*. 2015; **17**(10): 772-8.
23. Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Martín-Montañez E, Auerbach M. Perioperative anemia management in colorectal cancer patients: a pragmatic approach. *World J Gastroenterol*. 2014; **20**(8): 1972-85.
24. Ludwig H, Van Belle S, Barrett-Lee P, Birgegård G, Bokemeyer C, Gascón P, et al. The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *Eur J Cancer*. 2004; **40**(15): 2293-306.
25. Weiss G, Goodnough L. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*. 2005; **352**(10): 1011-23.
26. Amato A, Pescatori M. Transfusiones de sangre perioperatorias para la recidiva del cáncer colorrectal (Revisión Cochrane traducida). Oxford: Update Software Ltd; 2008.
27. Selves J. Aspects histologiques et critères d'évaluation pronostique. *Med Sci (Paris)*. 2009; **25**(1): 9-12.
28. Tentes A, Spiliotis I, Korakianitis O, Vaxevanidou A, Kyziridis D. Adjuvant perioperative intraperitoneal chemotherapy in locally advanced colorectal carcinoma: preliminary results. *ISRN Surg*. 2011; **2011**: 529876.
29. Compton C, Fenoglio-Preiser C, Pettigrew N, Fielding L. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer*. 2000; **88**(7): 1739-57.
30. Jiang K, Zhu Y, Liu Y, Ye Y, Xie Q, Yang X, et al. Lymph node ratio as an independent prognostic indicator in stage III colorectal cancer: especially for fewer than 12 lymph nodes examined. *Tumour Biol*. 2014; **35**(11): 11685-90.
31. Berger A, Sigurdson E, LeVoyer T, Hanlon A, Mayer R, Macdonald J, et al. Colon cancer survival is associated with decreasing ratio of metastatic to examined lymph nodes. *J Clin Oncol*. 2005; **23**(34): 8706-12.
32. Fujii T, Sutoh T, Morita H, Yajima R, Yamaguchi S, Tsutsumi S, et al. Vascular invasion, but not lymphatic invasion, of the primary tumor is a strong prognostic factor in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2014; **34**(6): 3147-51.
33. Fujita S, Shimoda T, Yoshimura K, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y. Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. *J Surg Oncol*. 2003; **84**(3): 127-31.
34. Compton C. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol*. 2003; **16**(4): 376-88.

35. Graham R, Vierkant R, Tillmans L, Wang A, Laird P, Weisenberger D, et al. Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-based Cohort. *Am J Surg Pathol.* 2015; **39**(10): 1340-6.
36. Zlobec I, Molinari F, Martin V, Mazzucchelli L, Saletti P, Trezzi R, et al. Tumor budding predicts response to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol.* 2010; **16**(38): 4823-31.
37. Satoh K, Nimura S, Aoki M, Hamasaki M, Koga K, Iwasaki H, et al. Tumor budding in colorectal carcinoma assessed by cytokeratin immunostaining and budding areas: possible involvement of c-Met. *Cancer Sci.* 2014; **105**(11): 1487-95.
38. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis.* 2009; **30**(7): 1073-81.
39. Pagès F, Galon J, Dieu-Nosjean M, Tartour E, Sautès-Fridman C, Fridman W. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene.* 2010; **29**(8): 1093-102.
40. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006; **313**(5795): 1960-4.
41. Noshio K, Baba Y, Tanaka N, Shima K, Hayashi M, Meyerhardt J, et al. Tumour-infiltrating T-cell subsets, molecular changes in colorectal cancer, and prognosis: cohort study and literature review. *J Pathol.* 2010; **222**(4): 350-66.
42. Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *J Clin Oncol.* 2011; **29**(6): 610-8.
43. Ueno H, Konishi T, Ishikawa Y, Shimazaki H, Ueno M, Aosasa S, et al. Histologic categorization of fibrotic cancer stroma in the primary tumor is an independent prognostic index in resectable colorectal liver metastasis. *Am J Surg Pathol.* 2014; **38**(10): 1380-6.
44. Wiratkapun S, Kraemer M, Seow-Choen F, Ho Y, Eu K. High preoperative serum carcinoembryonic antigen predicts metastatic recurrence in potentially curative colonic cancer: results of a five-year study. *Dis Colon Rectum.* 2001; **44**(2): 231-5.
45. Duffy M, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, et al. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer.* 2007; **43**(9): 1348-60.

46. Graham R, Wang S, Catalano P, Haller D. Postsurgical surveillance of colon cancer: preliminary cost analysis of physician examination, carcinoembryonic antigen testing, chest x-ray, and colonoscopy. *Ann Surg.* 1998; **228**(1): 59-63.
47. Gnanasampanthan G, Elsaleh H, McCaul K, Iacopetta B. Ki-ras mutation type and the survival benefit from adjuvant chemotherapy in Dukes' C colorectal cancer. *J Pathol.* 2001; **195**(5): 543-8.
48. Karapetis C, Khambata-Ford S, Jonker D, O'Callaghan C, Tu D, Tebbutt N, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2008; **359**(17): 1757-65.
49. Chou C, Lin J, Wang H, Yang S, Li A, Chang S. Microsatellite instability screening should be done for right-sided colon cancer patients less than 60 years of age. *Int J Colorectal Dis.* 2010; **25**(1): 47-52.
50. Turnage R, Richardson K, Li B, McDonald J. Pared abdominal, ombligo, peritoneo, epiplon y retroperitoneo. In: Townsend CJ, Beauchamp R, Evers B, Mattox K, editors. *Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna.* 18 ed. Barcelona: Elsevier; 2009. p. 1129-54.
51. Henriksen J, Winkler K. Peritoneum and ascites formation. In: Bengmark S, editor. *The peritoneum and peritoneal access.* 2 ed. London: Wright Publishers; 1989. p. 94-110.
52. van der Wal J, Jeekel J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Colorectal Dis.* 2007; **9**(Suppl 2): 9-13.
53. Sampson J. Implantation Peritoneal Carcinomatosis of Ovarian Origin. *Am J Pathol.* 1931; **7**(5): 423-44.
54. Weisberger A, Levine B, Storaasli J. Use of nitrogen mustard in treatment of serous effusions of neoplastic origin. *J Am Med Assoc.* 1955; **159**(18): 1704-7.
55. Suhrland L, Weisberger A. Intracavitary 5-fluorouracil in malignant effusions. *Arch Intern.* 1965; **116**: 431-3.
56. Spratt J, Adcock R, Muskovin M, Sherrill W, McKeown J. Clinical delivery system for intraperitoneal hyperthermic chemotherapy. *Cancer Res.* 1980; **40**(2): 256-60.
57. Dedrick R, Myers C, Bungay P, DeVita VT J. Pharmacokinetic rationale for peritoneal drug administration in the treatment of ovarian cancer. *Cancer Treat Rep.* 1978; **62**(1): 1-11.
58. Sugarbaker P. It's what the surgeon doesn't see that kills the patient. *J Nippon Med Sch* 2000 Feb; **67**(1): 5-8. 2000; **67**(1): 5-8.
59. Flessner M, Fenstermacher J, Blasberg R, Dedrick R. Peritoneal absorption of macromolecules studied by quantitative autoradiography. *Am J Physiol.* 1985; **248**(1 Pt 2): H26-32.

60. Sugarbaker P. Observations concerning cancer spread within the peritoneal cavity and concepts supporting an ordered pathophysiology. In: Sugarbaker P, editor. Peritoneal carcinomatosis: principles of management. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1996. p. 79-100.
61. Hagiwara A, Takahashi T, Sawai K, Taniguchi H, Shimotsuma M, Okano S, et al. Milky spots as the implantation site for malignant cells in peritoneal dissemination in mice. *Cancer Res.* 1993; **53**(3): 687-92.
62. Ronnett B, Shmookler B, Sugarbaker P, Kurman R. Pseudomyxoma peritonei: new concepts in diagnosis, origin, nomenclature, and relationship to mucinous borderline (low malignant potential) tumors of the ovary. *Anat Pathol.* 1997; **2**: 197-226.
63. Weiss L. Metastatic inefficiency: intravascular and intraperitoneal implantation of cancer cells. *Cancer Treat Res.* 1996; **82**: 1-11.
64. Mebius R. Lymphoid organs for peritoneal cavity immune response: milky spots. *Immunity.* 2009; **30**(5): 670-2.
65. Tsujimoto H, Takahashi T, Hagiwara A, Shimotsuma M, Sakakura C, Osaki K, et al. Site-specific implantation in the milky spots of malignant cells in peritoneal dissemination: immunohistochemical observation in mice inoculated intraperitoneally with bromodeoxyuridine-labelled cells. *Br J Cancer.* 1995; **71**(3): 468-72.
66. Gerber S, Rybalko V, Bigelow C, Lugade A, Foster T, Frelinger J, et al. Preferential attachment of peritoneal tumor metastases to omental immune aggregates and possible role of a unique vascular microenvironment in metastatic survival and growth. *Am J Pathol.* 2006; **169**(5): 1739-52.
67. Guller U, Zajac P, Schnider A, Bösch B, Vorburger S, Zuber M, et al. Disseminated single tumor cells as detected by real-time quantitative polymerase chain reaction represent a prognostic factor in patients undergoing surgery for colorectal cancer. *Ann Surg.* 2002; **236**(6): 768-75.
68. Dawson L, Russell A, Tong D, Wisbeck W. Adenocarcinoma of the sigmoid colon: sites of initial dissemination and clinical patterns of recurrence following surgery alone. *J Surg Oncol.* 1983; **22**(2): 95-9.
69. van Gestel Y, Thomassen I, Lemmens V, Pruijt J, van Herk-Sukel M, Rutten H, et al. Metachronous peritoneal carcinomatosis after curative treatment of colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2014; **40**(8): 963-9.
70. Segelman J, Granath F, Holm T, Machado M, Mahteme H, Martling A. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg.* 2012; **99**(5): 699-705.

71. de Bree E, Witkamp A, Zoetmulder F. Intraperitoneal chemotherapy for colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2002; **79**(1): 46-61.
72. Brodsky J, Cohen A. Peritoneal seeding following potentially curative resection of colonic carcinoma: implications for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum.* 1991; **34**(8): 723-7.
73. Maggiori L, Elias D. Curative treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis: current status and future trends. *Eur J Surg Oncol.* 2010; **36**(7): 599-603.
74. Elias D, Honoré C, Dumont F, Ducreux M, Boige V, Malka D, et al. Results of systematic second-look surgery plus HIPEC in asymptomatic patients presenting a high risk of developing colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg.* 2011; **254**(2): 289-93.
75. Willett C, Tepper J, Cohen A, Orlow E, Welch C. Failure patterns following curative resection of colonic carcinoma. *Ann Surg.* 1984; **200**(6): 685-90.
76. de Bree E, Koops W, Kröger R, van Ruth S, Witkamp A, Zoetmulder F. Peritoneal carcinomatosis from colorectal or appendiceal origin: correlation of preoperative CT with intraoperative findings and evaluation of interobserver agreement. *J Surg Oncol.* 2004; **86**(2): 64-73.
77. Berthelot C, Morel O, Girault S, Verrièle V, Poirier A, Moroch J, et al. Use of FDG-PET/CT for peritoneal carcinomatosis before hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Nucl Med Commun.* 2011; **32**(1): 23-9.
78. Low R, Barone R. Combined diffusion-weighted and gadolinium-enhanced MRI can accurately predict the peritoneal cancer index preoperatively in patients being considered for cytoreductive surgical procedures. *Ann Surg Oncol.* 2012; **19**(5): 1394-401.
79. Iafrate F, Ciolina M, Sammartino P, Baldassari P, Rengo M, Lucchesi P, et al. Peritoneal carcinomatosis: imaging with 64-MDCT and 3T MRI with diffusion-weighted imaging. *Abdom Imaging.* 2012; **37**(4): 616-27.
80. Dromain C, Leboulleux S, Auperin A, Goere D, Malka D, Lumbroso J, et al. Staging of peritoneal carcinomatosis: enhanced CT vs. PET/CT. *Abdom Imaging.* 2008; **33**(1): 87-93.
81. Yan T, Morris D, Shigeki K, Dario B, Marcello D. Preoperative investigations in the management of peritoneal surface malignancy with cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: Expert consensus statement. *J Surg Oncol.* 2008; **98**(14): 224-7.
82. Minton J, Hoehn J, Gerber D, Horsley J, Connolly D, Salwan F, et al. Results of a 400-patient carcinoembryonic antigen second-look colorectal cancer study. *Cancer.* 1985; **55**(6): 1284-90.

83. Gilly F, Carry P, Sayag A, Brachet A, Panteix G, Salle B, et al. Regional chemotherapy (with mitomycin C) and intra-operative hyperthermia for digestive cancers with peritoneal carcinomatosis. *Hepatogastroenterology*. 1994; **41**(2): 124-9.
84. Jacquet P, Sugarbaker P. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis. *Cancer Treat Res*. 1996; **82**: 359-74.
85. da Silva R, Sugarbaker P. Analysis of prognostic factors in seventy patients having a complete cytoreduction plus perioperative intraperitoneal chemotherapy for carcinomatosis from colorectal cancer. *J Am Coll Surg*. 2006; **203**(6): 878-86.
86. Elias D, Gilly F, Boutitie F, Quenet F, Bereder J, Mansvelt B, et al. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study. *J Clin Oncol*. 2010; **28**(1): 63-8.
87. Mutch M. Molecular profiling and risk stratification of adenocarcinoma of the colon. *J Surg Oncol*. 2007; **96**(8): 693-703.
88. Verwaal V, van Ruth S, de Bree E, van Sloothen G, van Tinteren H, Boot H, et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2003; **21**(20): 3737-43.
89. Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker P, Elias D, Levine E, De Simone M, et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study. *J Clin Oncol*. 2004; **22**(16): 3284-92.
90. Younan R, Kusamura S, Baratti D, Cloutier A, Deraco M. Morbidity, toxicity, and mortality classification systems in the local regional treatment of peritoneal surface malignancy. *J Surg Oncol*. 2008; **98**(4): 253-7.
91. Glehen O, Mohamed F, Gilly F. Peritoneal carcinomatosis from digestive tract cancer: new management by cytoreductive surgery and intraperitoneal chemohyperthermia. *Lancet Oncol*. 2004; **5**(4): 219-28.
92. Goldberg R, Sargent D, Morton R, Fuchs C, Ramanathan R, Williamson S, et al. Randomized controlled trial of reduced-dose bolus fluorouracil plus leucovorin and irinotecan or infused fluorouracil plus leucovorin and oxaliplatin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: a North American Intergroup Trial. *J Clin Oncol*. 2006; **24**(21): 3347-53.
93. Moosmann N, von Weikersthal L, Vehling-Kaiser U, Stauch M, Hass H, Dietzfelbinger H, et al. Cetuximab plus capecitabine and irinotecan compared

- with cetuximab plus capecitabine and oxaliplatin as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer: AIO KRK-0104--a randomized trial of the German AIO CRC study group. *J Clin Oncol.* 2011; **29**(8): 1050-8.
94. Van Cutsem E, Köhne C, Láng I, Folprecht G, Nowacki M, 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**(15): 2011-9.
 95. Sanoff H, Sargent D, Campbell M, Morton R, Fuchs C, Ramanathan R, et al. Five-year data and prognostic factor analysis of oxaliplatin and irinotecan combinations for advanced colorectal cancer: N9741. *J Clin Oncol.* 2008; **26**(35): 5721-7.
 96. Elias D, Lefevre J, Chevalier J, Brouquet A, Marchal F, Classe J, et al. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *J Clin Oncol.* 2009; **27**(5): 681-5.
 97. Franko J, Ibrahim Z, Gusani N, Holtzman M, Bartlett D, Zeh Hr. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion versus systemic chemotherapy alone for colorectal peritoneal carcinomatosis. *Cancer.* 2010; **116**(16): 3756-62.
 98. Verwaal V, Bruin S, Boot H, van Slooten G, van Tinteren H. 8-year follow-up of randomized trial: cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2008; **15**(9): 2426-32.
 99. Elias D, Glehen O, Pocard M, Quenet F, Goéré D, Arvieux C, et al. A comparative study of complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemotherapy to treat peritoneal dissemination from colon, rectum, small bowel, and nonpseudomyxoma appendix. *Ann Surg.* 2010; **251**(5): 896-901.
 100. Shen P, Thai K, Stewart J, Howerton R, Loggie B, Russell G, et al. Peritoneal surface disease from colorectal cancer: comparison with the hepatic metastases surgical paradigm in optimally resected patients. *Ann Surg Oncol.* 2008; **15**(12): 3422-32.
 101. Gunderson L, Sosin H, Levitt S. Extrapelvic colon--areas of failure in a reoperation series: implications for adjuvant therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1985; **11**(4): 731-41.
 102. Pestieau S, Sugarbaker P. Treatment of primary colon cancer with peritoneal carcinomatosis: comparison of concomitant vs. delayed management. *Dis Colon Rectum.* 2000; **43**(10): 1341-6.

103. Sammartino P, Sibio S, Biacchi D, Cardi M, Accarpio F, Mingazzini P, et al. Prevention of Peritoneal Metastases from Colon Cancer in High-Risk Patients: Preliminary Results of Surgery plus Prophylactic HIPEC. *Gastroenterol Res Pract.* 2012; **2012**: 141585.
104. Lefevre J, Elias D. Cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia in patients with colorectal cancer at high risk for local-regional recurrence. *Cancer J.* 2009; **15**(3): 200-3.
105. Mohamed F, Cecil T, Moran B, Sugarbaker P. A new standard of care for the management of peritoneal surface malignancy. *Curr Oncol.* 2011; **18**(2): e86-96.
106. Elias D, Goéré D, Di Pietrantonio D, Boige V, Malka D, Kohneh-Shahri N, et al. Results of systematic second-look surgery in patients at high risk of developing colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg.* 2008; **247**(3): 445-50.
107. Portilla A, Sugarbaker P, Chang D. Second-look surgery after cytoreduction and intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: analysis of prognostic features. *World J Surg.* 1999; **23**(1): 23-9.
108. Sugarbaker P. Update on the prevention of local recurrence and peritoneal metastases in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014; **20**(28): 9286-91.
109. Bhaskar V, Zhang D, Fox M, Seto P, Wong M, Wales P, et al. A function blocking anti-mouse integrin alpha5beta1 antibody inhibits angiogenesis and impedes tumor growth in vivo. *J Transl Med.* 2007; **5**: 61.
110. Talieri M, Li L, Zheng Y, Alexopoulou D, Soosaipillai A, Scorilas A, et al. The use of kallikrein-related peptidases as adjuvant prognostic markers in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2009; **100**(10): 1659-65.
111. Delhorme J, Triki E, Romain B, Meyer N, Rohr S, Brigand C. Routine second-look after surgical treatment of colonic peritoneal carcinomatosis. *J Visc Surg.* 2015; **152**(3): 149-54.
112. Lemmens V, Klaver Y, Verwaal V, Rutten H, Coebergh J, de Hingh I. Predictors and survival of synchronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: a population-based study. *Int J Cancer.* 2011; **128**(11): 2717-25.
113. Fujiwara A, Noura S, Ohue M, Shingai T, Yamada T, Miyashiro I, et al. Significance of the resection of ovarian metastasis from colorectal cancers. *J Surg Oncol.* 2010; **102**(6): 582-7.
114. Tan K, Tan W, Lim J, Eu K. Krukenberg tumors of colorectal origin: a dismal outcome--experience of a tertiary center. *Int J Colorectal Dis.* 2010; **25**(2): 233-8.
115. Kim D, Park I, Kim H, Yu C, Kim J. Ovarian metastases from colorectal cancer: a clinicopathological analysis of 103 patients. *Colorectal Dis.* 2009; **11**(1): 32-8.

116. Chung T, Chang H, Jung K, Park S, Lim S, Choi H, et al. Role of surgery in the treatment of ovarian metastases from colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2009; **100**(7): 570-4.
117. Lee S, Lee J, Lim H, Kang W, Choi C, Lee J, et al. Survival benefit from ovarian metastatectomy in colorectal cancer patients with ovarian metastasis: a retrospective analysis. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010; **66**(2): 229-35.
118. Sugarbaker P, Gunderson L, Wittes R. Colorectal cancer. In: De Vita VJ, Hellman S, Rosenberg S, editors. *Cancer: principles and practice of oncology.* 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1985. p. 795-866.
119. Cheynel N, Cortet M, Lepage C, Ortega-Debalon P, Faivre J, Bouvier A. Incidence, patterns of failure, and prognosis of perforated colorectal cancers in a well-defined population. *Dis Colon Rectum.* 2009; **52**(3): 406-11.
120. Ogawa M, Watanabe M, Eto K, Omachi T, Kosuge M, Hanyu K, et al. Clinicopathological features of perforated colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2009; **29**(5): 1681-4.
121. Verhulst J, Ferdinande L, Demetter P, Ceelen W. Mucinous subtype as prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Pathol.* 2012; **65**(5): 381-8.
122. Wang M, Zhang Y, Yang X, Wang Z. Prognostic significance of the mucin component in stage III rectal carcinoma patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; **15**(19): 8101-5.
123. Park J, Huh J, Park Y, Cho Y, Yun S, Kim H, et al. Prognostic comparison between mucinous and nonmucinous adenocarcinoma in colorectal cancer. *Medicine (Baltimore).* 2015; **94**(15): e658.
124. Pande R, Sunga A, Levea C, Wilding G, Bshara W, Reid M, et al. Significance of signet-ring cells in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2008; **51**(1): 50-5.
125. Inamura K, Yamauchi M, Nishihara R, Kim S, Mima K, Sukawa Y, et al. Prognostic significance and molecular features of signet-ring cell and mucinous components in colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2015; **22**(4): 1226-35.
126. Rekhraj S, Aziz O, Prabhudesai S, Zacharakis E, Mohr F, Athanasiou T, et al. Can intra-operative intraperitoneal free cancer cell detection techniques identify patients at higher recurrence risk following curative colorectal cancer resection: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol.* 2008; **15**(1): 60-8.
127. Sibio S, Fiorani C, Stolfi C, Divizia A, Pezzuto R, Montagnese F, et al. Detection methods and clinical significance of free peritoneal tumor cells found during colorectal cancer surgery. *World J Gastrointest Surg.* 2015; **7**(9): 178-84.

128. Cotte E, Peyrat P, Piaton E, Chapuis F, Rivoire M, Glehen O, et al. Lack of prognostic significance of conventional peritoneal cytology in colorectal and gastric cancers: results of EVOCAPE 2 multicentre prospective study. *Eur J Surg Oncol*. 2013; **39**(7): 707-14.
129. Koppe M, Boerman O, Oyen W, Bleichrodt R. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: incidence and current treatment strategies. *Ann Surg*. 2006; **243**(2): 212-22.
130. Yamamoto S, Akasu T, Fujita S, Moriya Y. Long-term prognostic value of conventional peritoneal cytology after curative resection for colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2003; **33**(1): 33-7.
131. Noura S, Ohue M, Seki Y, Yano M, Ishikawa O, Kameyama M. Long-term prognostic value of conventional peritoneal lavage cytology in patients undergoing curative colorectal cancer resection. *Dis Colon Rectum*. 2009; **52**(7): 1312-20.
132. Gunderson L, Jessup J, Sargent D, Greene F, Stewart A. Revised tumor and node categorization for rectal cancer based on surveillance, epidemiology, and end results and rectal pooled analysis outcomes. *J Clin Oncol*. 2010; **28**(2): 256-63.
133. Luna-Pérez P, Rodríguez-Ramírez S, De la Barrera M, Zeferino M, Labastida S. Multivisceral resection for colon cancer. *J Surg Oncol*. 2002; **80**(2): 100-4.
134. Russell A, Tong D, Dawson L, Wisbeck W. Adenocarcinoma of the proximal colon. Sites of initial dissemination and patterns of recurrence following surgery alone. *Cancer*. 1984; **53**(2): 360-7.
135. Verwaal V. Long-term results of cytoreduction and HIPEC followed by systemic chemotherapy. *Cancer J*. 2009; **15**(3): 212-5.
136. West N, Hohenberger W, Weber K, Perrakis A, Finan P, Quirke P. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon. *J Clin Oncol*. 2010; **28**(2): 272-8.
137. Le Voyer T, Sigurdson E, Hanlon A, Mayer R, Macdonald J, Catalano P, 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**(15): 2912-9.
138. Swanson R, Compton C, Stewart A, Bland K. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*. 2003; **10**(1): 65-71.

139. Wong M, Ng K, Lim J, Ooi B, Tang C, Eu K. 418 cases of laparoscopic colorectal resections: a single-institution experience and literature review. *Singapore Med J.* 2010; **51**(8): 650-4.
140. Neuhaus S, Watson D. Pneumoperitoneum and peritoneal surface changes: a review. *Surg Endosc.* 2004; **18**(9): 1316-22.
141. Kobayashi H, Kotake K, Sugihara K. Prognostic significance of peritoneal lavage cytology in patients with colorectal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2013; **18**(3): 411-7.
142. Ripley R, Davis J, Kemp C, Steinberg S, Toomey M, Avital I. Prospective randomized trial evaluating mandatory second look surgery with HIPEC and CRS vs. standard of care in patients at high risk of developing colorectal peritoneal metastases. *Trials.* 2010; **11**: 62.
143. Sugarbaker P, Gianola F, Dwyer A, Neuman N. A simplified plan for follow-up of patients with colon and rectal cancer supported by prospective studies of laboratory and radiologic test results. *Surgery.* 1987; **102**(1): 79-87.
144. McCall J, Black R, Rich C, Harvey J, Baker R, Watts J, et al. The value of serum carcinoembryonic antigen in predicting recurrent disease following curative resection of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1994; **37**(9): 875-81.
145. Moertel C, Fleming T, Macdonald J, Haller D, Laurie J, Tangen C. An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. *JAMA.* 1993; **270**(8): 943-7.
146. Park I, Choi G, Jun S. Prognostic value of serum tumor antigen CA19-9 after curative resection of colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2009; **29**(10): 4303-8.
147. van Gestel Y, de Hingh I, van Herk-Sukel M, van Erning F, Beerepoot L, Wijsman J, et al. Patterns of metachronous metastases after curative treatment of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol.* 2014; **38**(4): 448-54.
148. Baskaranathan S, Philips J, McCredde P, Solomon M. Free colorectal cancer cells on the peritoneal surface: correlation with pathologic variables and survival. *Dis Colon Rectum.* 2004; **47**(12): 2076-9.
149. Gozalan U, Yasti A, Yuksek Y, Reis E, Kama N. Peritoneal cytology in colorectal cancer: incidence and prognostic value. *Am J Surg* 2007 Jun;193(6):672-5. 2007; **193**(6): 672-5.
150. Kato H, Yamashita K, Wang G, Sato T, Nakamura T, Watanabe M. Anastomotic leakage contributes to the risk for systemic recurrence in stage II colorectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2011; **15**(1): 120-9.
151. Honoré C, Goéré D, Souadka A, Dumont F, Elias D. Definition of patients presenting a high risk of developing peritoneal carcinomatosis after curative

- surgery for colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol*. 2013; **20**(1): 183-92.
152. van Meer G, Simons K. Lipid polarity and sorting in epithelial cells. *J Cell Biochem*. 1988; **36**(1): 51-8.
153. Onder T, Gupta P, Mani S, Yang J, Lander E, Weinberg R. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res*. 2008; **68**(10): 3645-54.
154. Sipos F, Muzes G. Isolated lymphoid follicles in colon: switch points between inflammation and colorectal cancer? *World J Gastroenterol*. 2011; **17**(13): 1666-73.
155. Sipos F, Galamb O. Epithelial-to-mesenchymal and mesenchymal-to-epithelial transitions in the colon. *World J Gastroenterol*. 2012; **18**(7): 601-8.
156. Avizienyte E, Brunton V, Fincham V, Frame M. The SRC-induced mesenchymal state in late-stage colon cancer cells. *Cells Tissues Organs*. 2005; **179**(1-2): 73-80.
157. Brabletz T, Spaderna S, Kolb J, Hlubek F, Faller G, Bruns C, et al. Down-regulation of the homeodomain factor Cdx2 in colorectal cancer by collagen type I: an active role for the tumor environment in malignant tumor progression. *Cancer Res*. 2004; **64**(19): 6973-7.
158. Kirkland S. Type I collagen inhibits differentiation and promotes a stem cell-like phenotype in human colorectal carcinoma cells. *Br J Cancer*. 2009; **101**(2): 320-6.
159. Moustakas A, Heldin C. Signaling networks guiding epithelial-mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer progression. *Cancer Sci*. 2007; **98**(10): 1512-20.
160. de Cuba E, Kwakman R, van Egmond M, Bosch L, Bonjer H, Meijer G, et al. Understanding molecular mechanisms in peritoneal dissemination of colorectal cancer : future possibilities for personalised treatment by use of biomarkers. *Virchows Arch*. 2012; **461**(3): 231-43.
161. Aoyagi T, Terracina K, Raza A, Takabe K. Current treatment options for colon cancer peritoneal carcinomatosis. *World J Gastroenterol*. 2014; **20**(35): 12493-500.
162. Hanahan D, Weinberg R. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; **144**(5): 646-74.
163. Heath R, Jayne D, O'Leary R, Morrison E, Guillou P. Tumour-induced apoptosis in human mesothelial cells: a mechanism of peritoneal invasion by Fas Ligand/Fas interaction. *Br J Cancer*. 2004; **90**(7): 1437-42.

164. Varghese S, Burness M, Xu H, Beresnev T, Pingpank J, Alexander H. Site-specific gene expression profiles and novel molecular prognostic factors in patients with lower gastrointestinal adenocarcinoma diffusely metastatic to liver or peritoneum. *Ann Surg Oncol*. 2007; **14**(12): 3460-71.
165. Logan-Collins J, Lowy A, Robinson-Smith T, Kumar S, Sussman J, James L, et al. VEGF expression predicts survival in patients with peritoneal surface metastases from mucinous adenocarcinoma of the appendix and colon. *Ann Surg Oncol*. 2008; **15**(3): 738-44.
166. Seretis F, Seretis C. Immuno-PCI: a proposal for the implementation of "seed and soil" concept in the treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Med Hypotheses*. 2014; **83**(2): 137-41.
167. Blumenschein GJ, Mills G, Gonzalez-Angulo A. Targeting the hepatocyte growth factor-cMET axis in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2012; **30**(26): 3287-96.
168. Organ S, Tsao M. An overview of the c-MET signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol*. 2011; **3**(1 Suppl): S7-S19.
169. Fujita S, Sugano K. Expression of c-met proto-oncogene in primary colorectal cancer and liver metastases. *Jpn J Clin Oncol*. 1997; **27**(6): 378-83.
170. Gao W, Bing X, Li M, Yang Z, Li Y, Chen H. Study of critical role of c-Met and its inhibitor SU11274 in colorectal carcinoma. *Med Oncol*. 2013; **30**(2): 546.
171. Sierra J, Corso S, Caione L, Cepero V, Conrotto P, Cignetti A, et al. Tumor angiogenesis and progression are enhanced by Sema4D produced by tumor-associated macrophages. *J Exp Med*. 2008; **205**(7): 1673-85.
172. Liska D, Chen C, Bachleitner-Hofmann T, Christensen J, Weiser M. HGF rescues colorectal cancer cells from EGFR inhibition via MET activation. *Clin Cancer Res*. 2011; **17**(3): 472-82.
173. Inno A, Di Salvatore M, Cenci T, Martini M, Orlandi A, Strippoli A, et al. Is there a role for IGF1R and c-MET pathways in resistance to cetuximab in metastatic colorectal cancer? *Clin Colorectal Cancer*. 2011; **10**(4): 325-32.
174. Liu Y, Yu X, Zou J, Luo Z. Prognostic value of c-Met in colorectal cancer: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015; **21**(12): 3706-10.
175. Bauer T, Fan F, Liu W, Johnson M, Parikh N, Parry G, et al. Insulinlike growth factor-I-mediated migration and invasion of human colon carcinoma cells requires activation of c-Met and urokinase plasminogen activator receptor. *Ann Surg*. 2005; **241**(5): 748-56.
176. Varkaris A, Gaur S, Parikh N, Song J, Dayyani F, Jin J, et al. Ligand-independent activation of MET through IGF-1/IGF-1R signaling. *Int J Cancer*. 2013; **133**(7): 1536-46.

177. De Oliveira A, Matos D, Logullo A, DA Silva S, Neto R, Filho A, et al. MET Is highly expressed in advanced stages of colorectal cancer and indicates worse prognosis and mortality. *Anticancer Res.* 2009; **29**(11): 4807-11.
178. Zeng Z, Weiser M, Kuntz E, Chen C, Khan S, Forslund A, et al. c-Met gene amplification is associated with advanced stage colorectal cancer and liver metastases. *Cancer Lett.* 2008; **265**(2): 258-69.
179. Samamé Pérez-Vargas J, Biondani P, Maggi C, Gariboldi M, Gloghini A, Inno A, et al. Role of cMET in the development and progression of colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2013; **14**(9): 18056-77.
180. Lee C, Chow N, Su P, Lin S, Lin P, Lee J. The prognostic significance of RON and MET receptor coexpression in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2008; **51**(8): 1268-74.
181. Osada S, Matsui S, Komori S, Yamada J, Sanada Y, Ihawa A, et al. Effect of hepatocyte growth factor on progression of liver metastasis in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology.* 2010; **57**(97): 76-80.
182. Shoji H, Yamada Y, Taniguchi H, Nagashima K, Okita N, Takashima A, et al. Clinical impact of c-MET expression and genetic mutational status in colorectal cancer patients after liver resection. *Cancer Sci.* 2014; **105**(8): 1002-7.
183. Sridhar S, Goodwin P. Insulin-insulin-like growth factor axis and colon cancer. *J Clin Oncol.* 2009; **27**(2): 165-7.
184. Zhang R, Xu G, Li Y, He L, Chen L, Wang G, et al. The role of insulin-like growth factor 1 and its receptor in the formation and development of colorectal carcinoma. *J Int Med Res.* 2013; **41**(4): 1228-35.
185. Sax A, Jenkins D, Devin J, Hughes G, Bolam K, Skinner T. The insulin-like growth factor axis: A biological mechanism linking physical activity to colorectal cancer survival. *Cancer Epidemiol.* 2014; **38**(4): 455-9.
186. Giovannucci E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. *J Nutr.* 2001; **131**((11 Suppl)): 3109S-20S.
187. Seccareccia E, Brodt P. The role of the insulin-like growth factor-I receptor in malignancy: an update. *Growth Horm IGF Res.* 2012; **22**(6): 193-9.
188. Zhang C, Hao L, Wang L, Xiao Y, Ge H, Zhu Z, et al. Elevated IGFIR expression regulating VEGF and VEGF-C predicts lymph node metastasis in human colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2010; **10**: 184.
189. Durfort T, Tkach M, Meschaninova M, Rivas M, Elizalde P, Venyaminova A, et al. Small interfering RNA targeted to IGF-IR delays tumor growth and induces proinflammatory cytokines in a mouse breast cancer model. *PLoS One.* 2012; **7**(1): e29213.

190. Capparuccia L, Tamagnone L. Semaphorin signaling in cancer cells and in cells of the tumor microenvironment--two sides of a coin. *J Cell Sci.* 2009; **122**(11): 1723-36.
191. Rizzolio S, Tamagnone L. Semaphorin signals on the road to cancer invasion and metastasis. *Cell Adh Migr.* 2007; **1**(2): 62-8.
192. Basile J, Castilho R, Williams V, Gutkind J. Semaphorin 4D provides a link between axon guidance processes and tumor-induced angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; **103**(24): 9017-22.
193. Ch'ng E, Kumanogoh A. Roles of Sema4D and Plexin-B1 in tumor progression. *Mol Cancer.* 2010; **9**: 251.
194. Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins in interactions between T cells and antigen-presenting cells. *Nat Rev Immunol.* 2003; **3**(2): 159-67.
195. Oinuma I, Ishikawa Y, Katoh H, Negishi M. The Semaphorin 4D receptor Plexin-B1 is a GTPase activating protein for R-Ras. *Science.* 2004; **305**(5685): 862-5.
196. Guo W, Pylayeva Y, Pepe A, Yoshioka T, Muller W, Inghirami G, et al. Beta 4 integrin amplifies ErbB2 signaling to promote mammary tumorigenesis. *Cell.* 2006; **126**(3): 489-502.
197. Basile J, Holmbeck K, Bugge T, Gutkind J. MT1-MMP controls tumor-induced angiogenesis through the release of semaphorin 4D. *J Biol Chem.* 2007; **282**(9): 6899-905.
198. Binmadi N, Yang Y, Zhou H, Proia P, Lin Y, De Paula A, et al. Plexin-B1 and semaphorin 4D cooperate to promote perineural invasion in a RhoA/ROK-dependent manner. *Am J Pathol.* 2012; **180**(3): 1232-42.
199. Conrotto P, Corso S, Gamberini S, Comoglio P, Giordano S. Interplay between scatter factor receptors and B plexins controls invasive growth. *Oncogene.* 2004; **23**(30): 5131-7.
200. Valente G, Nicotra G, Arrondini M, Castino R, Capparuccia L, Prat M, et al. Co-expression of plexin-B1 and Met in human breast and ovary tumours enhances the risk of progression. *Cell Oncol.* 2009; **31**(6): 423-36.
201. Malik M, Ye L, Jiang W. The Plexin-B family and its role in cancer progression. *Histol Histopathol.* 2014; **29**(2): 151-65.
202. Lai A, Abella J, Park M. Crosstalk in Met receptor oncogenesis. *Trends Cell Biol.* 2009; **19**(10): 542-51.
203. Hanahan D, Weinberg R. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; **100**(1): 57-70.
204. Fischer H, Salahshor S, Stenling R, Björk J, Lindmark G, Iselius L, et al. COL11A1 in FAP polyps and in sporadic colorectal tumors. *BMC Cancer.* 2001; **1**: 17.

205. Boudreau N, Bissell M. Extracellular matrix signaling: integration of form and function in normal and malignant cells. *Curr Opin Cell Biol.* 1998; **10**(5): 640-6.
206. Tlsty T, Coussens L. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol.* 2006; **1**: 119-50.
207. Mertens J, Fingas C, Christensen J, Smoot R, Bronk S, Werneburg N, et al. Therapeutic effects of deleting cancer-associated fibroblasts in cholangiocarcinoma. *Cancer Res.* 2013; **73**(2): 897-907.
208. Polanska U, Orimo A. Carcinoma-associated fibroblasts: non-neoplastic tumour-promoting mesenchymal cells. *J Cell Physiol.* 2013; **228**(8): 1651-7.
209. Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell.* 2011; **147**(5): 992-1009.
210. Blaschke U, Eikenberry E, Hulmes D, Galla H, Bruckner P. Collagen XI nucleates self-assembly and limits lateral growth of cartilage fibrils. *J Biol Chem.* 2000; **275**(14): 10370-8.
211. Freire J, Domínguez-Hormaetxe S, Pereda S, De Juan A, Vega A, Simón L, et al. Collagen, type XI, alpha 1: an accurate marker for differential diagnosis of breast carcinoma invasiveness in core needle biopsies. *Pathol Res Pract.* 2014; **210**(12): 879-84.
212. Sok J, Lee J, Dasari S, Joyce S, Contrucci S, Egloff A, et al. Collagen type XI α 1 facilitates head and neck squamous cell cancer growth and invasion. *Br J Cancer.* 2013; **109**(12): 3049-56.
213. Anastassiou D, Rumjantseva V, Cheng W, Huang J, Canoll P, Yamashiro D, et al. Human cancer cells express Slug-based epithelial-mesenchymal transition gene expression signature obtained in vivo. *BMC Cancer.* 2011; **11**: 529.
214. Bowen K, Reimers A, Luman S, Kronz J, Fyffe W, Oxford J. Immunohistochemical localization of collagen type XI alpha1 and alpha2 chains in human colon tissue. *J Histochem Cytochem.* 2008; **56**(3): 275-83.
215. Galván J, García-Martínez J, Vázquez-Villa F, García-Ocaña M, García-Pravia C, Menéndez-Rodríguez P, et al. Validation of COL11A1/procollagen 11A1 expression in TGF- β 1-activated immortalised human mesenchymal cells and in stromal cells of human colon adenocarcinoma. *BMC Cancer.* 2014; **14**: 867.
216. Halsted K, Bowen K, Bond L, Luman S, Jorcyk C, Fyffe W, et al. Collagen alpha1(XI) in normal and malignant breast tissue. *Mod Pathol.* 2008; **21**(10): 1246-54.
217. Valentini V, van Stiphout R, Lammering G, Gambacorta M, Barba M, Bebenek M, et al. Nomograms for predicting local recurrence, distant metastases, and overall

- survival for patients with locally advanced rectal cancer on the basis of European randomized clinical trials. *J Clin Oncol*. 2011; **29**(23): 3163-72.
218. Weiser M, Landmann R, Kattan M, Gonen M, Shia J, Chou J, et al. Individualized prediction of colon cancer recurrence using a nomogram. *J Clin Oncol*. 2008; **26**(3): 380-5.
219. Fong Y, Fortner J, Sun R, Brennan M, Blumgart L. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg*. 1999; **230**(3): 309-18.
220. Kattan M, Gönen M, Jarnagin W, DeMatteo R, D'Angelica M, Weiser M, et al. A nomogram for predicting disease-specific survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer. *Ann Surg*. 2008; **247**(2): 282-7.
221. Yoon W, Alame A, Berri R. Peritoneal Surface Disease Severity Score as a predictor of resectability in the treatment of peritoneal surface malignancies. *Am J Surg*. 2014; **207**(3): 403-7.
222. Swellengrebel H, Zoetmulder F, Smeenk R, Antonini N, Verwaal V. Quantitative intra-operative assessment of peritoneal carcinomatosis - a comparison of three prognostic tools. *Eur J Surg Oncol*. 2009; **35**(10): 1078-84.
223. Segelman J, Akre O, Gustafsson U, Bottai M, Martling A. Individualized prediction of risk of metachronous peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2014; **16**(5): 359-67.
224. Esquivel J, Lowy A, Markman M, Chua T, Pelz J, Baratti D, et al. The American Society of Peritoneal Surface Malignancies (ASPSM) Multiinstitution Evaluation of the Peritoneal Surface Disease Severity Score (PSDSS) in 1,013 Patients with Colorectal Cancer with Peritoneal Carcinomatosis. *Ann Surg Oncol*. 2014; **21**(13): 4195-201.
225. Rabeneck L, Davila J, El-Serag H. Is there a true "shift" to the right colon in the incidence of colorectal cancer? *Am J Gastroenterol*. 2003; **98**(6): 1400-9.
226. Park J, Kim M, Park S, Kim M, Hong C, Sohn D, et al. Difference in Time to Locoregional Recurrence Between Patients With Right-Sided and Left-Sided Colon Cancers. *Dis Colon Rectum*. 2015; **58**(9): 831-7.
227. Omranipour R, Doroudian R, Mahmoodzadeh H. Anatomical distribution of colorectal carcinoma in Iran: a retrospective 15-yr study to evaluate rightward shift. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; **13**(1): 279-82.
228. Quere P, Facy O, Manfredi S, Jooste V, Faivre J, Lepage C, et al. Epidemiology, Management, and Survival of Peritoneal Carcinomatosis from Colorectal Cancer: A Population-Based Study. *Dis Colon Rectum*. 2015; **58**(8): 743-52.

229. Gómez-Portilla A, Cendoya I, López de Tejada I, Olabarria I, Magrach L, Martínez de Lecea C, et al. Bases y fundamentos del tratamiento de la carcinomatosis peritoneal por cancer colorrectal. Revision actual y puesta al dia. *Cir Esp*. 2005; **77**(1): 6-17.
230. Barzi A, Lenz A, Labonte M, Lenz H. Molecular pathways: Estrogen pathway in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2013; **19**(21): 5842-8.
231. English M, Stewart P, Hewison M. Estrogen metabolism and malignancy: analysis of the expression and function of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases in colonic cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2001; **171**(1-2): 53-60.
232. Bardin A, Boulle N, Lazennec G, Vignon F, Pujol P. Loss of ERbeta expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression. *Endocr Relat Cancer*. 2004; **11**(3): 537-51.
233. Clevers H. Colon cancer--understanding how NSAIDs work. *N Engl J Med*. 2006; **354**(7): 761-3.
234. Jänne P, Mayer R. Chemoprevention of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2000; **342**(26): 1960-8.
235. Wang M, Ping J, Li Y, Adell G, Arbman G, Nodin B, et al. The prognostic factors and multiple biomarkers in young patients with colorectal cancer. *Sci Rep*. 2015; **5**: 10645.
236. Limsui D, Vierkant R, Tillmans L, Wang A, Weisenberger D, Laird P, et al. Cigarette smoking and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes. *J Natl Cancer Inst*. 2010; **102**(14): 1012-22.
237. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol*. 2011; **22**(9): 1958-72.
238. Akhter M, Kuriyama S, Nakaya N, Shimazu T, Ohmori K, Nishino Y, et al. Alcohol consumption is associated with an increased risk of distal colon and rectal cancer in Japanese men: the Miyagi Cohort Study. *Eur J Cancer*. 2007; **43**(2): 383-90.
239. Bongaerts B, van den Brandt P, Goldbohm R, de Goeij A, Weijnenberg M. Alcohol consumption, type of alcoholic beverage and risk of colorectal cancer at specific subsites. *Int J Cancer*. 2008; **123**(10): 2411-7.
240. Jinjuvadia R, Lohia P, Jinjuvadia C, Montoya S, Liangpunsakul S. The association between metabolic syndrome and colorectal neoplasm: systemic review and meta-analysis. *J Clin Gastroenterol*. 2013; **47**(1): 33-44.
241. Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*. 2012; **35**(11): 2402-11.

242. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen S, Corley D, Tei Y, Buffler P. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? *Am J Gastroenterol.* 2011; **106**(11): 1911-21.
243. Harvey A, Lashinger L, Hursting S. The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory issue. *Ann N Y Acad Sci.* 2011; **1229**: 45-52.
244. Mendonça F, de Sousa F, Barbosa A, Martins S, Araújo R, Soares R, et al. Metabolic syndrome and risk of cancer: which link? *Metabolism.* 2015; **64**(2): 182-9.
245. Xu C, Zhu H, Zhu Y. Diabetes and cancer: Associations, mechanisms, and implications for medical practice. *World J Diabetes.* 2014; **5**(3): 372-80.
246. Herrigel D, Moss R. Diabetes mellitus as a novel risk factor for gastrointestinal malignancies. *Postgrad Med.* 2014; **126**(6): 106-18.
247. Zanders M, Vissers P, Haak H, van de Poll-Franse L. Colorectal cancer, diabetes and survival: epidemiological insights. *Diabetes Metab.* 2014; **40**(2): 120-7.
248. Musallam K, Tamim H, Richards T, Spahn D, Rosendaal F, Habbal A, et al. Preoperative anaemia and postoperative outcomes in non-cardiac surgery: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2011; **378**(9800): 1396-407.
249. Amato A, Pescatori M. Perioperative blood transfusions for the recurrence of colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; **25**(1): CD005033.
250. Kathiresan A, Brookfield K, Schuman S, Lucci Jr. Malnutrition as a predictor of poor postoperative outcomes in gynecologic cancer patients. *Arch Gynecol Obstet.* 2011; **284**(2): 445-51.
251. Ellegård L, Bosaeus I. Biochemical indices to evaluate nutritional support for malignant disease. *Clin Chim Acta.* 2008; **390**(1-2): 23-7.
252. Gomes de Lima K, Maio R. Nutritional status, systemic inflammation and prognosis of patients with gastrointestinal cancer. *Nutr Hosp.* 2012; **27**(3): 707-14.
253. Finn O. Cancer immunology. *N Engl J Med.* 2008; **358**(25): 2704-15.
254. Garber K. First results for agents targeting cancer-related inflammation. *J Natl Cancer Inst.* 2009; **101**(16): 1110-2.
255. Shields J, Kourtis I, Tomei A, Roberts J, Swartz M. Induction of lymphoidlike stroma and immune escape by tumors that express the chemokine CCL21. *Science.* 2010; **328**(5979): 749-52.
256. Stotz M, Pichler M, Absenger G, Szkandera J, Arminger F, Schaberl-Moser R, et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer.* 2014; **110**(2): 435-40.

257. Walsh S, Cook E, Goulder F, Justin T, Keeling N. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2005; **91**(3): 181-4.
258. Halazun K, Aldoori A, Malik H, Al-Mukhtar A, Prasad K, Toogood G, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol*. 2008; **34**(1): 55-60.
259. Jayne D, Fook S, Loi C, Seow-Choen F. Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg*. 2002; **89**(12): 1545-50.
260. Li Z, Ying X, Chen H, Ye P, Chen Z, Li G, et al. Insulin-like growth factor-1 induces lymphangiogenesis and facilitates lymphatic metastasis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2013; **19**(43): 7788-94.
261. Adamina M, Manwaring M, Park K, Delaney C. Laparoscopic complete mesocolic excision for right colon cancer. *Surg Endosc*. 2012; **26**(10): 2976-80.
262. Zanghì A, Cavallaro A, Piccolo G, Fisichella R, Di Vita M, Spartà D, et al. Dissemination metastasis after laparoscopic colorectal surgery versus conventional open surgery for colorectal cancer: a metanalysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; **17**(9): 1174-84.
263. Elias D, Goéré D. Respectons le Peritoine! C'est notre premiere ligne de defense contre la carcinose. *J Chir (Paris)*. 2007; **144**(4): 275-6.
264. Nunez M, Sardi A, Jimenez W, Nieroda C, Sittig M, MacDonald R, et al. Port-site metastases is an independent prognostic factor in patients with peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol*. 2015; **22**(4): 1267-73.
265. Hasegawa H, Okabayashi K, Watanabe M, Ashrafian H, Harling L, Ishii Y, et al. What is the effect of laparoscopic colectomy on pattern of colon cancer recurrence? A propensity score and competing risk analysis compared with open colectomy. *Ann Surg Oncol*. 2014; **21**(8): 2627-35.
266. Kim S, Milsom J, Gramlich T, Toddy S, Shore G, Okuda J, et al. Does laparoscopic vs. conventional surgery increase exfoliated cancer cells in the peritoneal cavity during resection of colorectal cancer? *Dis Colon Rectum*. 1998; **41**(8): 971-8.
267. Law W, Choi H, Lee Y, Ho J. The impact of postoperative complications on long-term outcomes following curative resection for colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2007; **14**(9): 2559-66.
268. Simkens G, van Oudheusden T, Luyer M, Nienhuijs S, Nieuwenhuijzen G, Rutten H, et al. Serious Postoperative Complications Affect Early Recurrence After Cytoreductive Surgery and HIPEC for Colorectal Peritoneal Carcinomatosis. *Ann Surg Oncol*. 2015; **22**(8): 2656-62.

269. Salvans S, Mayol X, Alonso S, Messeguer R, Pascual M, Mojal S, et al. Postoperative peritoneal infection enhances migration and invasion capacities of tumor cells in vitro: an insight into the association between anastomotic leak and recurrence after surgery for colorectal cancer. *Ann Surg*. 2014; **260**(5): 939-43.
270. Alonso S, Pascual M, Salvans S, Mayol X, Mojal S, Gil M, et al. Postoperative intra-abdominal infection and colorectal cancer recurrence: a prospective matched cohort study of inflammatory and angiogenic responses as mechanisms involved in this association. *Eur J Surg Oncol*. 2015; **41**(2): 208-14.
271. Elias D, Raynard B, Farkhondeh F, Goéré D, Rouquie D, Ciuchendea R, et al. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Gastroenterol Clin Biol*. 2006; **30**(10): 1200-4.
272. Chen V, Hsieh M, Charlton M, Ruiz B, Karlitz J, Altekruise S, et al. Analysis of stage and clinical/prognostic factors for colon and rectal cancer from SEER registries: AJCC and collaborative stage data collection system. *Cancer*. 2014; **120**(Suppl 23): 3793-806.
273. Kuijpers A, Mehta A, Aalbers A, van Driel W, Boot H, Verwaal V. Treatment of ovarian metastases of colorectal and appendiceal carcinoma in the era of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Eur J Surg Oncol*. 2014; **40**(8): 937-42.
274. Eveno C, Goéré D, Dartigues P, Honoré C, Dumont F, Tzanis D, et al. Ovarian metastasis is associated with retroperitoneal lymph node relapses in women treated for colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol*. 2013; **20**(2): 491-6.
275. Sakakura C, Hagiwara A, Yamazaki J, Takagi T, Hosokawa K, Shimomura K, et al. Management of postoperative follow-up and surgical treatment for Krukenberg tumor from colorectal cancers. *Hepatogastroenterology*. 2004; **51**(59): 1350-3.
276. Willett C, Tepper J, Cohen A, Orlow E, Welch C. Obstructive and perforative colonic carcinoma: patterns of failure. *J Clin Oncol*. 1985; **3**(3): 379-84.
277. Shepherd N, Baxter K, Love S. The prognostic importance of peritoneal involvement in colonic cancer: a prospective evaluation. *Gastroenterology*. 1997; **112**(4): 1096-102.
278. Fujii S, Shimada H, Yamagishi S, Ota M, Kunisaki C, Ike H, et al. Evaluation of intraperitoneal lavage cytology before colorectal cancer resection. *Int J Colorectal Dis*. 2009; **24**(8): 907-14.
279. Huguen N, van de Velde C, de Wilt J, Nagtegaal I. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol*. 2014; **25**(3): 651-7.

280. Carmignani C, Sugarbaker T, Bromley C, Sugarbaker P. Intraperitoneal cancer dissemination: mechanisms of the patterns of spread. *Cancer Metastasis Rev.* 2003; **22**(4): 465-72.
281. Razenberg L, van Gestel Y, Lemmens V, de Wilt J, Creemers G, de Hingh I. The Prognostic Relevance of Histological Subtype in Patients With Peritoneal Metastases From Colorectal Cancer: A Nationwide Population-Based Study. *Clin Colorectal Cancer.* 2015; **6**: pii: S1533-0028(15)00069-9. [Epub ahead of print].
282. Passot G, Mohkam K, Cotte E, Glehen O. Intra-operative peritoneal lavage for colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014; **20**(8): 1935-9.
283. Homma Y, Hamano T, Akazawa Y, Otsuki Y, Shimizu S, Kobayashi H, et al. Positive peritoneal washing cytology is a potential risk factor for the recurrence of curatively resected colorectal cancer. *Surg Today.* 2014; **44**(6): 1084-9.
284. Mohan H, O'Connor D, O'Riordan J, Winter D. Prognostic significance of detection of microscopic peritoneal disease in colorectal cancer: a systematic review. *Surg Oncol.* 2013; **22**(2): e1-6.
285. Bae S, Shin U, Ki Y, Cho S, Moon S, Park S. Role of peritoneal lavage cytology and prediction of prognosis and peritoneal recurrence after curative surgery for colorectal cancer. *Ann Coloproctol.* 2014; **30**(6): 266-73.
286. Kanellos I, Demetriades H, Zintzaras E, Mandrali A, Mantzoros I, Betsis D. Incidence and prognostic value of positive peritoneal cytology in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2003; **46**(4): 535-9.
287. Papadimitriou G, Manganas D, Phedias Georgiades C, Vougas V, Vardas K, Drakopoulos S. Emergency surgery for obstructing colorectal malignancy: prognostic and risk factors. *J BUON.* 2015; **20**(2): 406-12.
288. Yang Z, Wang L, Kang L, Xiang J, Peng J, Cui J, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes of patients with obstructive colorectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2011; **15**(7): 1213-22.
289. Chen W, Tan X, Ye J, Liu Q, Zeng Q, Wang L, et al. Effect of bowel obstruction on stage IV colorectal cancer. *Mol Clin Oncol.* 2014; **2**(2): 308-12.
290. Sugarbaker P. Revised guidelines for second-look surgery in patients with colon and rectal cancer. *Clin Transl Oncol.* 2010; **12**(9): 621-8.
291. Sugarbaker P, Zamcheck N, Moore F. Assessment of serial carcinoembryonic antigen (CEA) assays in postoperative detection of recurrent colorectal cancer. *Cancer.* 1976; **38**(6): 2310-5.
292. Steele G J, Zamcheck N, Wilson R, Mayer R, Lokich J, Rau P, et al. Results of CEA-initiated second-look surgery for recurrent colorectal cancer. *Am J Surg.* 1980; **139**(4): 544-8.

293. Attiyeh F, Stearns MJ. Second-look laparotomy based on CEA elevations in colorectal cancer. *Cancer*. 1981; **47**(9): 2119-25.
294. Goldberg R, Fleming T, Tangen C, Moertel C, Macdonald J, Haller D, et al. Surgery for recurrent colon cancer: strategies for identifying resectable recurrence and success rates after resection. Eastern Cooperative Oncology Group, the North Central Cancer Treatment Group, and the Southwest Oncology Group. *Ann Intern Med*. 1998; **129**(1): 27-35.
295. Yu H, Son G, Joh Y. The clinical significance of preoperative serum levels of carbohydrate antigen 19-9 in colorectal cancer. *J Korean Surg Soc*. 2013; **84**(4): 231-7.
296. Königsrainer I, Horvath P, Struller F, Forkl V, Königsrainer A, Beckert S. Risk factors for recurrence following complete cytoreductive surgery and HIPEC in colorectal cancer-derived peritoneal surface malignancies. *Langenbecks Arch Surg*. 2013; **398**(5): 745-9.
297. Shelygin Y, Pospekhova N, Shubin V, Kashnikov V, Frolov S, Sushkov O, et al. Epithelial-mesenchymal transition and somatic alteration in colorectal cancer with and without peritoneal carcinomatosis. *Biomed Res Int*. 2014; **2014**(629496).
298. McArdle C, McMillan D, Hole D. The impact of blood loss, obstruction and perforation on survival in patients undergoing curative resection for colon cancer. *Br J Surg*. 2006; **93**(4): 483-8.
299. Abou-Bakr A, Elbasmi A. c-MET overexpression as a prognostic biomarker in colorectal adenocarcinoma. *Gulf J Oncolog*. 2013; **1**(14): 28-34.
300. Takeuchi H, Bilchik A, Saha S, Turner R, Wiese D, Tanaka M, et al. c-MET expression level in primary colon cancer: a predictor of tumor invasion and lymph node metastases. *Clin Cancer Res*. 2003; **9**(4): 1480-8.
301. Al-Maghrabi J, Emam E, Gomaa W, Saggaf M, Buhmeida A, Al-Qahtani M, et al. c-MET immunostaining in colorectal carcinoma is associated with local disease recurrence. *BMC Cancer*. 2015; **15**(1): 676.
302. Christensen J, Burrows J, Salgia R. c-Met as a target for human cancer and characterization of inhibitors for therapeutic intervention. *Cancer Lett*. 2005; **225**(1): 1-26.
303. Sun Y, Liu W, Ma G, Gao D, Jiang Y, Liu Q, et al. Expression of HGF and Met in human tissues of colorectal cancers: biological and clinical implications for synchronous liver metastasis. *Int J Med Sci*. 2013; **10**(5): 548-59.
304. Yonemura Y, Kaji M, Hirono Y, Fushida S, Tsugawa K, Fujimura T, et al. Correlation between overexpression of c-met gene and the progression of gastric cancer. *Int J Oncol*. 1996; **8**(3): 555-60.

305. Gao S, Liu C, Wei J, Feng Y. Effect of c-Met inhibitor SU11274 on human colon cancer cell growth. *Chin Med J (Engl)*. 2013; **126**(14): 2705-9.
306. Hart L, Dolloff N, Dicker D, Koumenis C, Christensen J, Grimberg A, et al. Human colon cancer stem cells are enriched by insulin-like growth factor-1 and are sensitive to figitumumab. *Cell Cycle*. 2011; **10**(14): 2331-8.
307. Dallas N, Xia L, Fan F, Gray M, Gaur P, van Buren Gn, et al. Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition. *Cancer Res*. 2009; **69**(5): 1951-7.
308. Schillaci R, Becu-Villalobos D, Galeano A, Sapia S, Bezares R. Niveles séricos del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I como posible marcador de la evolución de pacientes con leucemia linfática crónica. *Hematología*. 2006; **10**(1): 13-9.
309. Cacchi C, Arnholdt H, Jähnig H, Anthuber M, Probst A, Oruzio D, et al. Clinical significance of lymph vessel density in T3 colorectal carcinoma. *Int J Colorectal Dis*. 2012; **27**(6): 721-6.
310. Fuchs C, Goldberg R, Sargent D, Meyerhardt J, Wolpin B, Green E, et al. Plasma insulin-like growth factors, insulin-like binding protein-3, and outcome in metastatic colorectal cancer: results from intergroup trial N9741. *Clin Cancer Res*. 2008; **14**(24): 8263-9.
311. Kukliński A, Kamocki Z, Cepowicz D, Gryko M, Czyżewska J, Pawlak K, et al. Relationships between insulin-like growth factor i and selected clinico-morphological parameters in colorectal cancer patients. *Pol Przegl Chir*. 2011; **83**(5): 250-7.
312. Liu J, Druta M, Shibata D, Coppola D, Boler I, Elahi A, et al. Metabolic syndrome and colorectal cancer: is hyperinsulinemia/insulin receptor-mediated angiogenesis a critical process? *J Geriatr Oncol*. 2014; **5**(1): 40-8.
313. Moilanen J, Kokkonen N, Löffek S, Väyrynen J, Syväniemi E, Hurskainen T, et al. Collagen XVII expression correlates with the invasion and metastasis of colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2015; **46**(3): 434-42.
314. Gilbert J, Jeffrey I, Evans M, Kark A. Sites of recurrent tumour after 'curative' colorectal surgery: implications for adjuvant therapy. *Br J Surg*. 1984; **71**(3): 203-5.

ANEXOS

Anexo I



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA IDIVAL



CRISTINA IRENE CAMPO HOYOS, Secretario/a del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA**

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: Tesis: Determinación de biomarcadores predictivos de carcinomatosis peritoneal en cáncer de colon.

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2014.145)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Se puede realizar el proyecto sin necesidad de obtener un consentimiento informado individualizado.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL SIERRALLANA**, actuando como investigador principal el Dr. **VICTOR JACINTO OVEJERO GÓMEZ**.

Como queda reflejado en el Acta: **24/2014**.

Lo que firmo en Santander, a **1 de agosto de 2014**

CRISTINA IRENE CAMPO HOYOS
Secretario/a del CEIC

Anexo II

CUESTIONARIO

Filiación:	Nombre y apellidos		
	Nº Historia clínica		
	Nº Histopatología		
	Domicilio		
	Población de residencia		
	Teléfono		
	Sexo	Hombre	Mujer
	Edad		
Antecedentes:	AF de cáncer de colon	No	Sí
	Taquismo	No	Sí
	Alcoholismo	No	Sí
	HTA	No	Sí
	Dislipemia	No	Sí
	Diabetes mellitus	No	Sí
Diagnóstico:	Tiempo de evolución (meses)		
	Dolor	No	Sí
	Distensión abdominal	No	Sí
	Naúseas y/o vómitos	No	Sí
	Alteración del tránsito intestinal	No	Sí
	Rectorragia / hematoquecia	No	Sí
	Mucosidad en heces	No	Sí
	Anorexia	No	Sí
	Pérdida de peso	No	Sí
	Astenia	No	Sí
	Tumor palpable	No	Sí
	Hb (gr/dL)		
	Hto (%)		
	Neutrófilos séricos (%)		
	Linfócitos séricos (%)		
	Índice neutrófilo/linfocito		
	Colesterol (mg/dL)		
	Proteínas totales (gr/dL)		
	Albumina (gr/dL)		
	LDH (U/L)		
	VSG (mm/h)		
	CEA (ng/mL)		
	Ca 19.9 (U/L)		
Intervención quirúrgica:	Fecha		
	Carácter de IQ	Urgente	Programada
	Tiempo quirúrgico (min)		
	Abordaje abdominal	Laparotomía	Laparoscopia
	Indicación urgente	Obstrucción	Perforación Hemorragia
	Técnica quirúrgica		
	Resección de estructuras adyacentes	No	Sí
	Complicaciones postoperatorias:	No	Sí
	1) Médicas:	No	Sí
	Neumonía	No	Sí
	Atelectasia	No	Sí
	Derrame pleural	No	Sí
	Infección urinaria	No	Sí
	ACVA	No	Sí
	TEP	No	Sí
	TVP	No	Sí
	IAM	No	Sí
	Insuficiencia cardíaca	No	Sí
	Insuficiencia respiratoria	No	Sí
	Bacteriemia por catéter central	No	Sí
	CID	No	Sí
	Shock séptico	No	Sí
	Otras		

2) Quirúrgicas:	No	Sí		
Ileo paralítico prolongado	No	Sí		
Fístula anastomótica	No	Sí		
Infección de herida	No	Sí		
Absceso intrabdominal	No	Sí		
Hemorragia	No	Sí		
Evisceración	No	Sí		
Fístula urinaria	No	Sí		
Fístula pancreática	No	Sí		
Isquemia intestinal	No	Sí		
Obstrucción intestinal	No	Sí		
Otras				
Reintervención quirúrgica	No	Sí		
Transfusión perioperatoria	No	Sí		
Nº CH transfundidos				
Tratamiento adyuvante	No	Sí		
Histopatología:				
Localización	Proximal	Distal		
Segmentación	Ángulo hepático	Transverso	Ángulo esplénico	
	Ascendente		Descendente	
	Ciego		Sigma	
Tamaño tumoral (cm)				
Implantes peritoneales	No	Sí		
Nódulo mesentérico	No	Sí		
Metástasis ovárica	No	Sí		
Perforación del tumor primario	No	Sí		
Fistulización tumoral	No	Sí		
Grado de diferenciación	G1	G2	G3	G4
Afectación ganglionar	No	Sí		
Extravasación de cápsula ganglionar	No	Sí		
pTpNpM				
Estadaje	0	I	IIA	IIB
	IIC	IIIA	IIIB	IIIC
	IVA	IVB		
Infiltración perineural	No	Sí		
Invasión vascular	No	Sí		
Subtipo mucinoso / anillo de sello	No	Sí		
Infiltrado inflamatorio peritumoral	Escaso	Abundante		
Citología peritoneal	Positiva	Negativa		
Seguimiento:				
Tiempo de seguimiento (meses)				
Fecha de recidiva				
CEA (ng/mL) en recidiva				
Ca 19.9 (UI/L) en recidiva				
Recidiva	No	Local	CP	D
	L + D	CP + D		
Tratamiento de la recidiva	Sintomático	IQ curativa	IQ paliativa	IQ curativa + QT
	IQ paliativa + QT	QT paliativa	RT paliativa	RQT paliativa
Fecha de muerte				
Estado actual	Vivo sin Enf	Vivo con Enf	Muerto por cáncer	MCAC con EA
	MCAC sin EA	Perdido		
Inmunohistoquímica:				
C-MET:	Porcentaje (%)			
	Intensidad	Nula	Baja (+)	Moderada (++)
	Histoscore (% x I)			
IGF- 1:	Porcentaje (%)			
	Intensidad	Nula	Baja (+)	Moderada (++)
	Histoscore (% x I)			
PLEXINA β1:	Porcentaje (%)			
	Intensidad	Nula	Baja (+)	Moderada (++)
	Histoscore (% x I)			
COLXIIα1:	Porcentaje (%)			
	Intensidad	Nula	Baja (+)	Moderada (++)
	Histoscore (% x I)			

CP: Carcinomatosis peritoneal, D: A distancia, L: Local, IQ: Intervención quirúrgica, QT: Quimioterapia, RT: Radioterapia, Enf: Enfermedad, MCAC con EA: Muerto por causa ajena al cáncer con enfermedad activa, MCAC sin EA: Muerto por causa ajena al cáncer sin enfermedad activa

Anexo III

ESTADIAJE DEL CÁNCER COLORRECTAL

Tumor primario (T)	
Tx	El tumor primario no puede ser valorado
T0	No hay evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ (Afectación intraepitelial o infiltración de lámina propia)
T1	El tumor invade la submucosa
T2	El tumor invade la muscularis mucosae
T3	El tumor invade los tejidos pericólicas a través de la muscularis mucosae
T4a	El tumor penetra hasta la superficie del peritoneo visceral
T4b	El tumor se encuentra adherido o invade directamente otros órganos o estructuras
Ganglios linfáticos regionales (N)	
Nx	Las adenopatías regionales no pueden ser valoradas
N0	No hay evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales
N1a	Metástasis en 1 ganglio linfático regional
N1b	Metástasis en 2 - 3 ganglios linfáticos regionales
N1c	Depósitos tumorales en subserosa, mesenterio o tejidos pericólicos o perirrectales no peritonizados sin metástasis ganglionares regionales
N2a	Metástasis en 4 - 6 ganglios linfáticos regionales
N2b	Metástasis en ≥ 7 ganglios linfáticos regionales
Metástasis a distancia (M)	
Mx	Las metástasis a distancia no pueden ser valoradas
M0	No hay evidencia de metástasis a distancia
M1a	Metástasis confinada a un órgano / lugar (hígado, pulmón, ovario, adenopatía no regional)
M1b	Metástasis en > 1 órgano / lugar o el peritoneo

La nomenclatura “V”, “L” y “PN” debería usarse en esta clasificación para identificar la presencia o ausencia de invasión / permeación “vascular”, “linfática” o “perineural”.

ESTADIAJE ANATÓMICO POR GRUPOS DE CLASIFICACIÓN

Estadio	T	N	M	Dukes	CACM*
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	A1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
	T1 - T3	N1 / N1c	M0	C	C1
IIIA	T1	N2a	M0	C	C1
	T3 - T4a	N1 / N1c	M0	C	C2
	T2 - T3	N2a	M0	C	C1 - C2
IIIB	T1 - T2	N2b	M0	C	C1
	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3 - T4a	N2b	M0	C	C2
IIIC	T4b	N1 - N2	M0	C	C3
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a		
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b		

*CACM: Clasificación de Astler-Coller modificada

