



**CONSORCI SANITARI
DEL MARESME**

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

Anàlisi de la supervivència a llarg termini en el càncer de còlon no metastàtic, mitjançant l'estudi de factors pronòstics clínics, quirúrgics i histològics.

Tesi doctoral presentada per **Òscar Estrada i Ferrer**

per a optar al grau de **Doctor en Cirurgia.**

Programa de Doctorat en Cirurgia (Hospital de Mataró)

Novembre de 2015

HOSPITAL DE MATARÓ

Servei de Cirurgia General i Digestiva

Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de medicina

Departament de Cirurgia

Tesi Doctoral dirigida pels doctors:

Pere Clavé i Civit

Xavier Suñol i Sala

Xavier Rius i Cornadó

PERE CLAVÉ I CIVIT, Director Acadèmic, de Recerca i Innovació de l'Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme i Professor associat del Departament de Cirurgia de la Universitat Autònoma de Barcelona;

XAVIER SUÑOL I SALA, Cap de Servei de Cirurgia General i Digestiva de l'Hospital de Mataró, consorci Sanitari del Maresme i Doctor en Cirurgia per la universitat de Barcelona i;

XAVIER RIUS I CORNADÓ, Catedràtic del Departament de Cirurgia de la Universitat Autònoma de Barcelona

FEM CONSTAR

Que la memòria titulada "Anàlisi de la supervivència a llarg termini en el càncer de còlon no metastàtic, mitjançant l'estudi de factors pronòstics clínics, quirúrgics i histològics" presentada per ÒSCAR ESTRADA I FERRER per optar al grau de Doctor, s'ha realitzat sota la nostra direcció i, en considerar-la concluda, autoritzem la seva presentació per a ésser jutjada pel Tribunal corresponent.

I per a que consti a tots efectes signem la present.

Hospital de Mataró, Novembre de 2015.

Dr. Pere Clavé i Civit, MD, PhD. ^{1,2}

Dr. Xavier Suñol i Sala, PhD. ³

Prof. D. Xavier Rius i Cornadó MD, PhD. ⁴

Director de la Tesi

Director de la Tesi

Director de la Tesis

¹ Director Acadèmic, de Recerca i Innovació de l'Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme; Professor associat del Departament de Cirurgia de la Universitat Autònoma de Barcelona

² CIBEREHD, Centro de Investigación Biomédica en Red: Enfermedades Hepáticas y Digestivas. Instituto de Salud Carlos III

³ Cap de Servei de Cirurgia, Hospital de Mataró.

⁴ Departament de Cirurgia, Universitat Autònoma de Barcelona.

Dedicada a la meva germana, Eva

Agraïments

Voldria donar les gràcies als directors d'aquesta Tesi, Prof. Xavier Rius, Dr. Xavier Suñol i en especial al Dr. Pere Clavé. Es evident que sense la seva insistència i dedicació, aquest estudi no hagués estat possible.

En segon lloc, agrair l'ajuda i les hores dedicades per part del Dr. Mateu Serra i l'Elisabet Palomera de la unitat de Recerca de l'hospital; la seva ajuda desinteressada també ha estat fonamental per a la meva feina.

Al Dr. Lluís Hidalgo pels seus consells i suport incondicional.

A la Dra. Laura Pulido amb la que vàrem realitzar l'estudi del gangli sentinella en el càncer de còlon.

Al Dr. Guillem Picart per l'ajut en l'estudi de la transfusió perioperatòria.

Al servei d'Anatomia Patològica i en especial a la seva cap, la Dra. Carme Admella i al tècnic de laboratori Jesús Mainar.

Al personal del Bloc Quirúrgic, per la seva col·laboració per realitzar l'estudi del gangli sentinella.

Gràcies també al Xavier Tibau, per l'ajuda en l'edició d'aquesta Tesi.

I a tot el servei de Cirurgia de l'Hospital de Mataró.

També agrair la compressió i l'ajuda de la meva dona Raquel i dels meus fills Guillem, Dídac i Rahel.

Per últim, reconèixer l'ajut i el suport que durant els meus anys d'estudiant sempre em van donar els meus pares, Miquel i Isabel. Gràcies a ells em vaig formar com a persona i com a metge.

Llistat d'abreviatures

AJCC / UICC: American Join Committee on Cancer / Union Internationale Contre le Cancer
TNM classification

COX-2: Enzim ciclooxygenasa

EGFR: Epithermal grown factor receptor

PIK3CA: Constitutive activation of the phosphatidylinositol 3-kinase

PTEN: Phosphatase and Tensin Homolog

5-FU: 5-Fluorouracil

SLN: Tècnica del gangli sentinella associada a Immunohistoquímica

UP-STAGE: Detecció de neoplàsia en els ganglis limfàtics només mitjançant la tècnica de gangli sentinella.

Publicacions

Els estudis d'aquesta tesi han estat publicats i presentats en els següents congressos:

- X. Suñol, M. del Bar, A. Heredia, L.A Hidalgo y R. Almerana (2007). Planificación, gestión y resultados de la implantación de la cirugía laparoscópica de colon y recto en un hospital. *Cirugía Española*. 82(2), 99-104.
- O. Estrada, L. Pulido Martínez, M.J. Fantova Cosculluela, E. García Torralbo, A. Heredia Budó, L.A. Hidalgo Grau, X. Suñol Sala (2009). Lganglio centinela en el c ncer colorrectal.  Un avance en el estudio histológico convencional? *XIII Reunión Nacional de la Asociación Española de Coloproctología*. Barcelona.
- L. Pulido Martínez, O. Estrada, C. Ferrer, L.A. Hidalgo, F. Espín, A. Heredia, E. García (2009). Ganglio centinela en el c ncer colorrectal. Eficacia de la detección de met stasis ganglionares ocultas en pacientes N0. *XVII Reunión Nacional de Cirugía*, Las Palmas de Gran Canaria.
- O. Estrada Ferrer, V. Marcilla Galera, E. García Torralbo, S. Llorca Cardeñosa, A. Heredia Bud , L.A. Hidalgo Grau. (2010) Supervivencia de los pacientes intervenidos por neoplasia de colon no metastàsica. Estudi comparativo entre abordaje laparot mico y laparosc pico. *I Congreso Ibérico de Coloproctolog a. XIV Reunión de la Asociación Española de Coloproctolog a*, Badajoz.
- V. Marcilla, O. Estrada Ferrer, A. Sánchez, E. García, A. Heredia, L. Hidalgo (2010). Supervivencia dels malalts amb neoplàsia de còlon. *XX Jornades de Cirurgia als Hospitals de Catalunya*, Vic.
- L. Pulido, O. Estrada, P. Clos, M. del Bas, L. Hidalgo, A. Heredia, E. Garcia Torralbo, M.J. antova, C. Admella, Suñol (2013). Ganglio centinela en el càncer colorectal. Significado clínico de una estadificaci n més precisa con estudio inmunohistoqu mico. *XVII Reunión Nacional de la Fundación de la Asociación Española de Coloproctolog a*, Palma de Mallorca, 2013.

ÍNDEX

Resum.....	13
Introducció	19
Introducció general	21
1. Epidemiologia del càncer colorectal	21
2. Factor de risc	24
3. Etiopatogènia	27
4. Programes de cribratge poblacional	29
5. Tractament del càncer de còlon.....	30
6. Estadificació.....	32
7. Factors Pronòstics	35
8. Importància de l'afectació ganglionar metastàtica en el càncer de còlon	40
9. Gangli sentinella per l'estudi de l'afectació ganglionar metastàtica	43
10. Transfusió de concentrats d'hematies en pacients amb càncer de còlon.	48
11. Tècnica quirúrgica i supervivència. Possible influència de la cirurgia laparoscòpica.....	51
Justificació de la tesi.....	57
Hipòtesi i objectius	63
Estudi 1.....	67
Estudi histològic del gangli sentinella com a factor pronòstic en el càncer de còlon no metastàtic.....	69
Introducció	69
Pacients i mètodes	70
Principals variables estudiades.	82
Anàlisi estadístic	83
Estudi 2.....	85
Efecte de la transfusió de concentrats d'hematies durant el període perioperatori en la supervivència dels pacients amb càncer de còlon no metastàtic.	87

Introducció	87
Pacients i mètodes	87
Disseny	88
Anàlisi estadístic	89
Estudi 3.....	91
Supervivència a llarg termini dels pacients intervinguts per patir un càncer de còlon no metastàtic. Estudi prospectiu comparant l'abordatge laparoscòpic i la laparotomia	93
Introducció	93
Mètodes	93
Resultats	97
resultats estudi 1. Estudi histològic del gangli sentinella com a factor pronòstic en el càncer de còlon no metastàtic.....	99
Característiques de la mostra.	99
Resultats estudi 2. Efecte de la transfusió de concentrats d'hematies durant el període perioperatori en la supervivència dels pacients amb càncer de còlon no metastàtic.....	105
Característiques dels pacients.....	105
Resultats estudi 3. Supervivència a llarg termini dels pacients intervinguts per patir un càncer de còlon no metastàtic. Estudi prospectiu comparant l'abordatge laparoscòpic i la laparotomia.....	113
Característiques dels pacients.....	113
Discussió general	121
1. Discussió general.....	123
2. Gangli sentinella en el càncer de còlon.....	124
3. Transfusió perioperatòria en la cirurgia del càncer de còlon	141
4. Cirurgia Laparoscòpica com a possible factor pronòstic en el càncer de còlon no metastàtic.	153
Epíleg.....	167
Conclusions.....	173
BIBLIOGRAFIA	177

RESUM

Resum

Resum complet de la Tesi Doctoral

El càncer de còlon és un problema de salut a escala mundial, havent-se convertint en els últims anys en una de les principals causes de mortalitat en els països desenvolupats. El millor coneixement dels factors associats a la malaltia que poden empitjorar el seu pronòstic a llarg termini, permetria aplicar teràpies de forma selectiva en determinats pacients, aconseguint millorar la seva expectativa de vida.

En els estudis que componen aquesta Tesi Doctoral hem investigat diversos factors identificables en un hospital general que podrien afectar el pronòstic dels pacients amb aquest tipus de neoplàsia. En aquest sentit, hem analitzat característiques histològiques ganglionars específiques com el gangli sentinella, teràpies del període perioperatori com la transfusió de concentrats d'hematies, i les vies d'abordatge quirúrgic com la laparoscòpia.

Estudi 1. En primer lloc hem estudiat la utilitat de l'anàlisi *ex vivo* del gangli sentinella en els pacients intervinguts amb intenció curativa per patir un càncer de còlon. Aquesta tècnica ens ha permès la detecció de malaltia neoplàsica no diagnosticada per mètodes convencionals, en quasi un 25% dels pacients. Amb tot, aquests pacients amb presència de malaltia neoplàsica només detectada per la tècnica de gangli sentinella (*up-stage*) no tenen pitjor pronòstic en comparació d'aquells sense afectació dels ganglis (N0), amb una supervivència als 5 anys del 84.2% i 87.9% respectivament. En canvi, els pacients amb afectació neoplàsica dels ganglis mitjançant tècniques convencionals sí que presenten una mortalitat més elevada (65.4% de supervivència) i unes taxes de recurrència del 30.8%, significativament majors que els N0. La majoria dels pacients *up-stage* ho van ser a causa de la identificació de cèl·lules neoplàsiques aïllades i no a causa de micrometàstasi, el que suggereix que la detecció de les cèl·lules tumorals aïllades mitjançant el gangli sentinella no empitjora el pronòstic en aquests malalts.

Estudi 2. La presència d'anèmia en els pacients amb càncer de còlon, és un dels signes clínics més prevalent de la malaltia. La transfusió de concentrats d'hematies en el període perioperatori pot, en teoria, provocar alteracions des del punt de vista immunològic que condicionarien la supervivència dels pacients. Per intentar esbrinar aquesta possible relació, hem seguit clínicament els pacients intervinguts en el nostre centre entre desembre

del 2002 i gener del 2007 i els hem analitzat en relació a la indicació de transfusió durant el seu ingrés. En el nostre estudi els pacients als que se'ls va administrar concentrats d'hematies van mostrar un pitjor pronòstic en relació als que no van rebre transfusions. No obstant, al realitzar anàlisi multivariat, la transfusió de sang s'ha de considerar com un factor associat als pacients amb d'edat més avançada, amb un pitjor índex de Charlson, un major nombre de ganglis limfàtics afectats i un abordatge quirúrgic mitjançant laparotomia. Per aquest motiu considerem que la transfusió no és un factor pronòstic independent en relació a la supervivència a llarg termini i el temps lliure de malaltia en el càncer de còlon.

Estudi 3. Per últim, hem analitzat la possible influència de l'abordatge per via laparoscòpica del malalts amb càncer de còlon en la seva supervivència. Amb aquesta intenció, hem comparat les corbes de supervivència global i les de recidiva, en relació als procediments laparoscòpics, els abordatges per laparotomia i les conversions. En la nostra mostra de 177 pacients, el haver estat intervingut per via laparoscòpica comporta un efecte favorable per a un menor índex de recidiva del 12% i una millor supervivència del 86% als set anys de seguiment. L'estudi multivariant va mostrar que en el nostre centre, l'abordatge quirúrgic és un dels factors que influeixen de forma independent tant en la supervivència lliure de malaltia com en la supervivència global.

La nostra conclusió és que el pronòstic dels pacients amb neoplàsia de colon intervinguts en el nostre centre no depèn de la presència de cèl·lules neoplàsiques aïllades en els ganglis limfàtics ni a la transfusió en el període perioperatori. En canvi hem detectat una relació independent amb la seva comorbiditat, amb l'afectació ganglionar major de 2 mm, la invasió venosa i angiolímfàtica i a l'abordatge per laparotomia o la necessitat de conversió.

Summary

Whole summary of the Doctoral Thesis

Colon cancer is a health problem worldwide, having become in recent years one of the leading causes of death in developed countries. A better understanding of the factors associated with the disease can allow us to apply selective treatments improving life expectancy in selected patients.

In this Thesis we have investigated various factors identified in a General Hospital that could affect patient outcome. So, we analyzed specific histological features as sentinel lymph node, perioperative therapies as allogenic blood red cell transfusion, and surgical approaches as laparoscopy.

Study 1. We studied the usefulness of *ex vivo* analysis of the sentinel lymph node in patients with colon cancer undergoing curative treatment. This technique has allowed the detection of cancer disease not diagnosed by conventional methods in almost 25% of patients. However, patients with the presence of tumor cells only detected by the technique of sentinel lymph node (up-stage) do not had worse prognosis compared to those with no involvement of lymph nodes (N0), with a 5-year survival of 84.2% and 87.9% respectively. In contrast, patients with lymph node involvement detected by conventional techniques did have a higher mortality (65.4% survival at 5 years) and recurrence rates of 30.8%, significantly higher than N0. Most patients up-staged were due to the identification of isolated cells and not because of micrometastases, which suggests that the detection of isolated tumor cells using the sentinel node technique does not worsen the prognosis these patients.

Study 2. The presence of anemia in patients with colon cancer is one of the most prevalent clinical signs of the disease. Allogenic blood red cell transfusion in the perioperative period may cause alterations from the immunological point of view that influence patient's survival. To determine this possible relationship, we studied patients operated at our center from December 2002 to January 2007. We classified them according to the indication for transfusion during their admission. In our study, patients who were transfused showed a worse prognosis compared to those who did not receive transfusions. However, in multivariate analysis, blood transfusion should be considered as a factor associated with

older patients with a worse Charlson index, a greater number of metastatic lymph nodes and operated by laparotomy. For this reason, we believe that transfusion is not an independent prognostic factor in relation to the long-term survival and time free of disease colon cancer.

Study 3. Finally, we analyzed the possible influence of the laparoscopic approach in the long term survival of colon cancer. We have compared the survival and recurrence curves of patients, comparing laparoscopic procedures, conversions and laparotomy. In our sample of 177 patients, laparoscopic approach implies a favorable effect for a lower rate of recurrence of 12% and 86% of overall survival at seven years of follow-up. The multivariate analysis showed that in our center, surgical approach is one of the factors influencing independently in both disease-free survival and overall survival.

In conclusion, the prognosis of patients with colon cancer operated in our center does not depend on the presence of isolated neoplastic cells in lymph nodes neither transfusion in the perioperative period. Instead we found an independent relationship with its comorbidity, with lymph node involvement major than 2mm, venous and angiolymphatic invasion and for laparotomy or the need for conversion.

INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ GENERAL

1. EPIDEMIOLOGIA DEL CÀNCER COLORECTAL

1.1 Incidència

El càncer de colon i recte és un problema de salut a escala mundial, representant la tercera causa de mort per neoplàsia tan en homes com en dones arreu del món. A tot el planeta, es diagnostiquen cada any uns 1.200.000 nous casos (9.8% dels nous càncers a excep-

ció dels cutanis) amb unes 600.000 morts relacionades amb la malaltia.

La seva incidència es variable respecte les diferents zones del planeta amb una màxima presència a Austràlia, Amèrica del Nord i Nord i l'Oest d'Europa [1, 2].

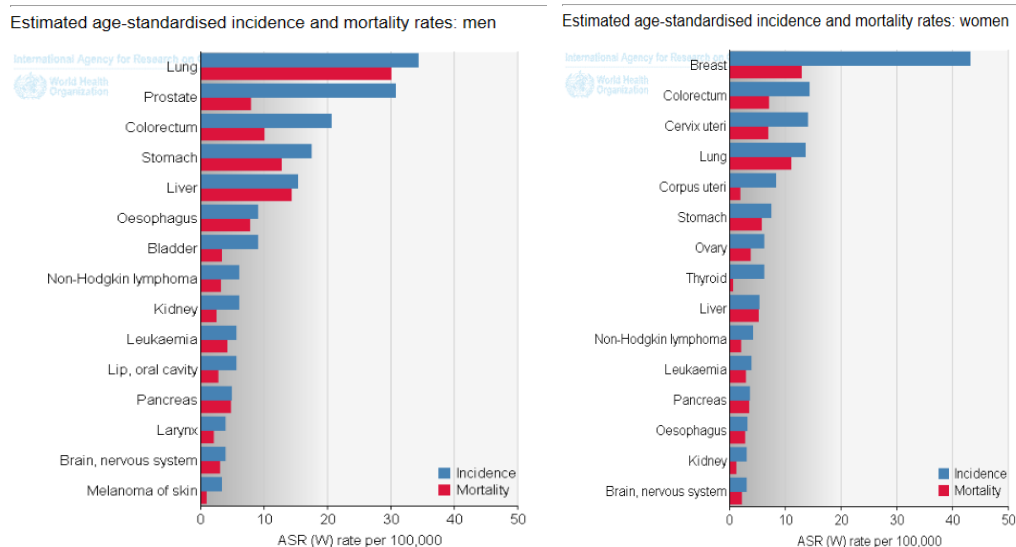


Figura 1. Incidència estimada i mortalitat del càncer colorectal en homes i dones. **Font:** http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

Destaca també la seva molt alta prevalença entre el sexe masculí al Japó, encara que amb una taxa de mortalitat relativament baixa, relacionada possiblement per l'efecte positiu dels programes de cribratge poblacional

posats en marxa des de principi dels anys noranta [2].

La incidència té diferències respecte sexes, encara que en global es considera la tercera neoplàsia més di-

agnosticada tan en homes i dones als Estats Units. En aquest país l'any 2013 es van diagnosticar 102.480 casos nous i va ser la causa de mort de 50.830 persones durant aquell any [3]. A Europa segons dades de l'any 2008 els nous casos voltaven els 450.000, amb un número de nous diagnòstics

per 100.000 habitants de 55,4 en homes i 46,2 en dones. La proporció respecte totes les morts degudes a càncer va ser del 12%. A més s'estima que un europeu té un risc acumulat des que neix fins als 75 anys de patir un càncer de còlon o recte del 4.17% en homes i del 2.6% en dones [4].

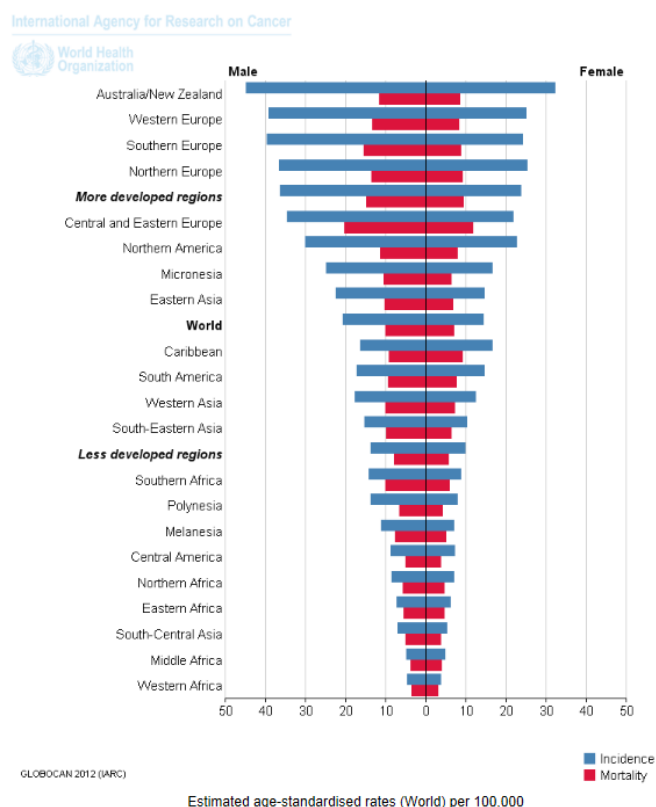


Figura 2. Incidència estimada i mortalitat del càncer colorectal segons les diferents regions del món. **Font:** http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

A l'estat Espanyol segons dades del 2012, la incidència en homes era de 43,9 per cada 100.000 habitants i en dones de 24,2 afectades per cada 100.000 habitants [5].

Si es valora sense diferenciació per sexes, el càncer colorectal és la neoplàsia més freqüent de l'estat, i és la segona causa de mort per malaltia neoplàsica [6].

És important destacar que Catalunya representa la comunitat autònoma amb la major incidència d'aquest tumor, amb una taxa ajustada per homes per sobre de la mitjana europea segons dades aportades per l'Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge [7].

1.2 Mortalitat

Les taxes de supervivència per al càncer de còlon es poden dividir segons l'estadiatge tumoral. Segons les dades l'Institut Nacional del Càncer dels Estats Units, la supervivència als 5 anys de les persones diagnosticades

amb càncer de còlon entre 2004 i 2010 va ser la següent:

Estadi I 92%, Estadi IIA 87%, Estadi IIB 63%, Estadi IIIA 89%, Estadi IIIB 69%, Estadi IIIC 53%, Estadi IV 11%.

Al Regne Unit, en els homes, la supervivència relativa als cinc anys oscil·la entre el 95% en l'Estadi I el 7% en l'Estadi IV dels pacients diagnosticats durant 2002-2006. En les dones, la supervivència de cinc anys oscil·la entre 100 % en l'Estadi I el 8% en l'Estadi IV. No hi ha diferències significatives en la supervivència als cinc anys entre els homes i les dones en cap de les etapes [8, 3].

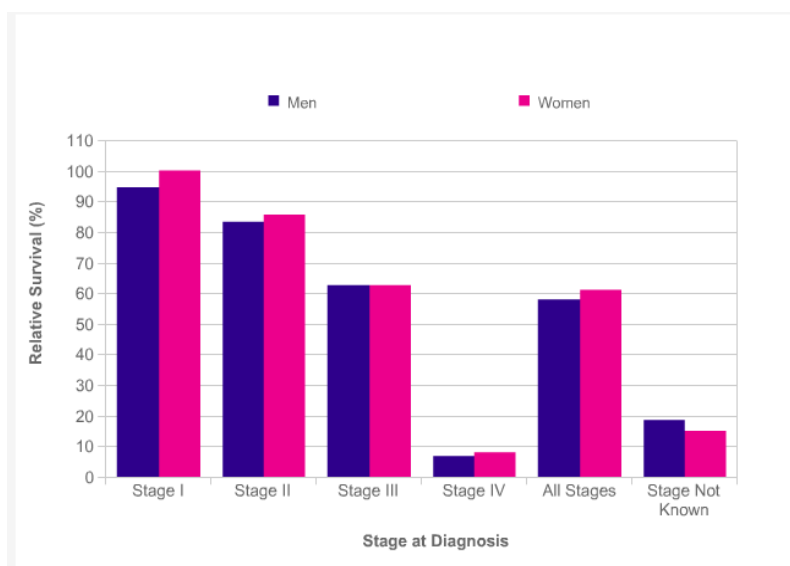


Figura 3. Supervivència estimada del càncer de còlon segons estadis. **Font:** Siegel R (2013). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 63(1) 11-30.

A Europa, la mortalitat ajustada per cada 100.000 habitants està descrita en la següent taula.

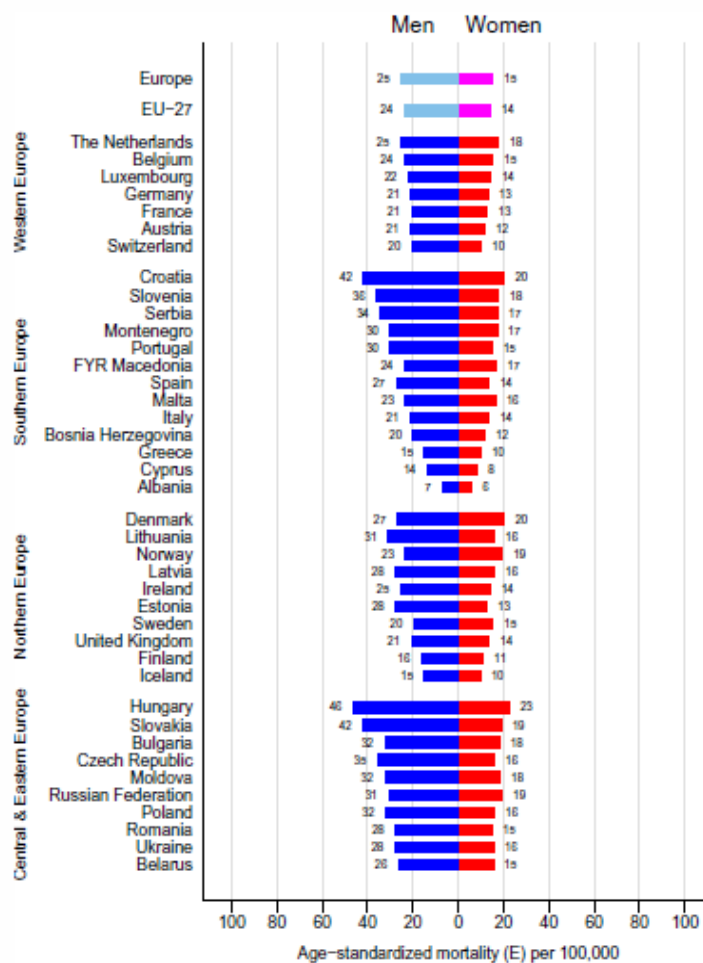


Figura 4. Mortalitat del càncer de còlon a Europa ajustada per cada 100.000 habitants. **Font:** <http://globocan.iarc.fr>

2. FACTOR DE RISC

Els principals factors de risc per patir un càncer colon o de recte són: l'edat (≥ 50 anys), determinats hàbits alimentaris, el consum d'alcohol superior a 30 grams diaris, el tabac, l'obesitat i el sedentarisme. Els antecedents familiars són un factor de risc quan es pateixen síndromes polipòsiques adenomatoses i hamartomatoses, i la síndrome de Lynch. El nombre

de familiars afectes, el grau de parentiu i l'edat de diagnòstic del càncer determinen el risc de desenvolupar aquesta malaltia [9].

A continuació s'exposen els principals factors de risc coneguts fins a l'actualitat.

2.1 Factors de risc deguts a flora colònica

Les criptes de la mucosa del còlon tenen l'índex de renovació més alt de tots els òrgans humans (índex de proliferació de 3-10 bilions de cèl·lules colòniques per dia) [10]. A més, l'immens número de bacteries de la flora colònica que estan en íntim contacte amb aquesta mucosa exerceixen una influència directa sobre les possibles patologies de la mateixa. El tipus de dieta i el canvi en la diversitat d'aquesta flora que s'observa durant l'envelliment de les persones, són factors que poden predisposar al càncer de còlon [11].

2.2 Substàncies amb potencial carcinogènic presents a la llum del còlon.

2.2.1 Substàncies nitrogenades.

Poden ser el resultat de proteïnes no digerides en el budell prim i crear compostos amb amoni i fenols. Aquests poden alterar la mucosa colònica amb canvis en el seu pH i hipòxia, creant un ambient pro-inflamatori.

2.2.2 Sals biliars.

La concentració de sals biliars secundàries en la llum colònica és el doble en pacients amb ingestes altes de greixos animals que la població general. S'ha postulat un possible efecte augmentador de la proliferació cel·lular amb major risc de mutacions [12].

2.3 Factors dietètics i d'estil de vida

Nombrosos estudis de cohorts indiquen que la ingesta de carn vermella i processada pot arribar a augmentar fins en un 28% el risc de patir càncer colorectal [13, 14]. Fins i tot, si les quantitats sobrepassen els 100 grams per dia, el risc pot arribar a augmentar el 37% [15]. El mecanisme vindria donat per la disminució local del pH, un augment d'amoni i dels nivells de sals biliar secundàries. Un consum òptim de fibra (20-35 g per dia) permet una correcta regulació de la flora intestinal i redueix el temps de contacte de les substàncies carcinogèniques amb la llum intestinal [16]. La ingesta d'alcohol i el consum de tabac, també estan relacionades amb l'augment de risc de patir càncer de còlon [17]. El consum de peix i la in-

gesta de llet i derivats làctics, el tractament hormonal substitutiu i els anticonceptius orals s'ha observat que exerceixen un possible efecte protector envers aquest tumor. L'exercici físic també és un factor protector del càncer de còlon, però no té efecte sobre el de recte [18, 19].

2.4 Inflamació i càncer de còlon

2.4.1 Inflamació i flora bacteriana

La relació entre inflamació i desenvolupament de malalties neoplàsiques està establerta amb una forta evidència. A nivell del còlon els nivells de substàncies pro-inflamatòries van augmentat de forma progressiva amb l'edat, el que permet el creixement i l'adhesió de bacteries sapròfitas a la mucosa facilitant el dany crònic i l'angiogènesi [20].

2.4.2 Metabolisme de l'àcid Araquidònic

Les substàncies procedents del metabolisme de l'àcid araquidònic, tenen una alta capacitat per agredir la paret intestinal i afavorir l'acció de bacteries patògenes i la carcinogènesi colònica [21]. La COX-2 es l'enzim amb la mà-

xima capacitat per transformar l'àcid araquidònic en aquests substàncies nocives. Per aquest motiu, l'àcid acetil salicílic com a inhibidor d'aquest enzim, s'ha demostrat que té un efecte de prevenció del càncer de còlon de entre un 25 i un 50% al llarg de la vida [22].

2.5 Poliposi colònica familiar

Els individus amb aquest tipus de poliposi són portadors d'una mutació heretada en un al·lel del gen APC que provocarà durant els primers 30 anys de la seva vida l'aparició de centenars d'adenomes colònics amb el risc conseqüent de carcinomes posteriors [23].

2.6 Síndrome de Lynch

La síndrome de Lynch es defineix com una malaltia autosòmica dominant que predisposa a patir neoplàsies, bàsicament colorectals. Els pacients amb síndrome de Lynch tenen risc un risc del 80% de desenvolupar un càncer colorectal al llarg de la seva vida. Els criteris diagnòstics estan definits per la revisió de Bethesda [24].

3. ETIOPATOGENIA

Encara que estan descrites diferents tipus de neoplàsies localitzades en el còlon i recte (tumors carcinoides, tumors de l'estroma gastrointestinal, limfoma, carcinomes escamosos en el marge anal, tumors metastàtics d'altres òrgans), el 95% del tumors

colorectals diagnosticats són adenocarcinomes. Es considera que el càncer de còlon apareix a través de dues vies genètiques diferents: La primera mitjançant la inestabilitat cromosòmica amb canvis estructurals a aquest nivell i la segona per inestabilitat de microsatèl·lits [25].

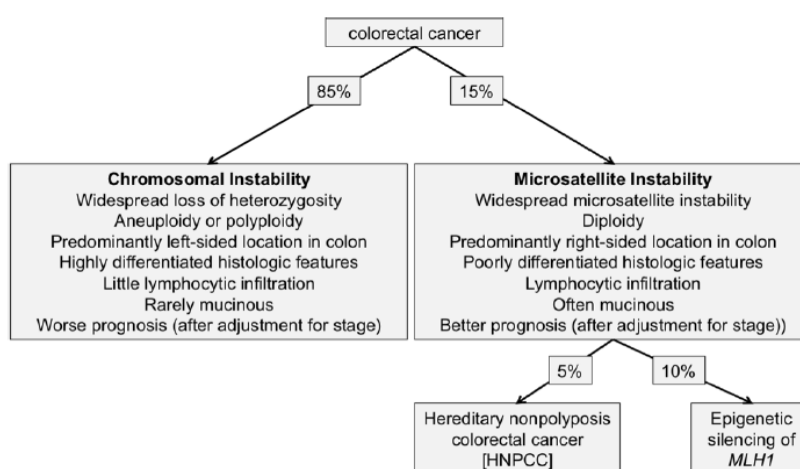


Figura 5. Possibles vies genètiques d'aparició del càncer de còlon. **Font:** De la Chapelle, NEJM 2003 [26].

3.1 Inestabilitat de microsatèl·lits

Els microsatèl·lits són segments d'ADN amb seqüències de nucleòtids repetides una sèrie de cops. Canvis en el número de repeticions o en la llargada d'aquestes seqüències deguts a errors en els gens reparadors, es denominen inestabilitat de microsatèl·lits [27]. L'existència en un pacient determinat d'inestabilitat de micros-

tèl·lits es pot determinar per reacció de cadenes de polimerasa (PCR) al comparar segments d'ADN de mucosa colònica normal amb ADN del tumor. L'absència d'expressió de proteïnes de gens reparadors del ADN determinada per immunohistoquímica és una alternativa a la PCR per observar aquesta alteració [28].

La majoria d'estudis mostren que els pacients intervinguts amb intenció

curativa de càncer de còlon que tenen inestabilitat de microsatèl·lits, tenen una supervivència ajustada per estadi superior als que no tenen aquesta característica genètica. Fins hi tot s'ha suggerit que aquest subtipus de tumors no mostren cap benefici clínic al ser tractats amb teràpies convencionals amb 5-Fluorouracil [29].

3.2 Inestabilitat cromosòmiques

3.2.1 Mutacions en el cicle de la Kinasa.

Es tracta d'un cicle important de transmissió de senyals que controlen la resposta cel·lular als estímuls de creixement. Les mutacions tipus K-RAS o BRAF estan presents en aproximadament el 50% dels pacients afectes de càncer de còlon [30]. La activació aberrant de la via de la EGFR es deguda la mutació del K-RAS. Això provoca la proliferació tumoral, angiogènesi i invasió metastàtica. Noves teràpies amb anticossos monoclonals com el Cetuximab i el Panitumumab són capaces de bloquejar aquesta via, però només si està present el K-RAS *wild type* [31]. De la mateixa manera, tractaments estàndards amb irinotecan o oxaliplatí no són capaços de millorar la supervivència en malalts

amb mutacions tipus K-RAS o BRAF [32].

3.2.2 La mutació de PI3CKA i la deleció de PTEN

Sembla que els dos factors serien factor pronòstic en predir una mala resposta al tractament amb teràpia anti EGFR [33].

L'activació de PTEN desapareix per diferents mecanismes, incloent mutacions, delecions i la metilació, essent aquest fenomen promotor en diversos tipus de càncer. L'expressió de PTEN en mostres metastàtiques es considera predictiu de la resposta a cetuximab, mentre que aquest fet no ha estat observat en el teixit tumoral primari [34].

L'activació constitutiva de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) ha estat plantejat com un factor important en el desenvolupament d'un nombre elevat de càncers, incloent el càncer de còlon. La seva mutació alteraria l'efectivitat de certes teràpies antineoplàsiques [35].

3.2.3 Hipermetil·lació aberrant de l'ADN

És força comú en diferents càncers i també ha estat descrita en el càncer de còlon. Sembla ser que aquest fe-

nomen faria bloquejar gens supressors de certa importància. Aquells tumors amb alts graus de metilació solen evolucionar a través d'adenomes serrats sèssils, mentre que els càncers amb baixa metilació acostumen a sorgir d'adenomes serrats tradicionals o adenomes clàssics [36].

3.2.4 L'expressió excessiva del gen de la timidilat sintasa

El gen de la timidilat sintasa catalitza la síntesis de pirimidina, fonamental en la generació d'ADN. És una diana terapèutica específica per al 5-FU (anàleg de la pirimidina), provocant la mort cel·lular i l'apoptosi. L'expressió excessiva del gen de la timidilat sintasa, està associat amb recurrències en estadis II i III de càncer de còlon [37].

La pèrdua de l'heterozigositat del cromosoma 18q està habitualment associada a mal pronòstic dels pacients [38].

3.2.5 Presència de cèl·lules tipus stem cell-like

La presència dins de l'espessor del tumor de cèl·lules que eventualment poden comportar-se com a cèl·lules mare, amb capacitat per renovació, possibilitat de diferenciació i resistèn-

cia a les senyals d'apoptosi, està considerat com un factor molecular de mal pronòstic [39].

4. PROGRAMES DE CRIBRATGE POBLACIONAL

Les guies de "The European Guidelines For Quality Assurance In Colorectal Cancer Screening And Diagnosis" [40] indiquen que hi ha prou evidència per afirmar que la prova de sang oculta en femta mitjançant el guayacol o per tests immunològics redueixen la mortalitat per càncer colorectal en un 15% en les poblacions amb un major risc de patir la malaltia [41, 42]. A més, sembla raonable pensar que la realització de colonoscòpia redueix la incidència i la mortalitat si es realitza dins d'un programa de cribratge organitzat.

Aquests programes de cribratge colorectal s'estan iniciant en els països amb més recursos dins d'Europa i Amèrica del Nord.

L'organització mundial de la salut (OMS) preveu un augment del 77% en el nombre de casos de càncer de còlon i recte i un augment fins al 80% de les morts relacionades amb aquesta malaltia per l'any 2030. La majoria

dels nous casos es donarien en els països que en l'actualitat estan en vies de desenvolupament [43].

El recursos, tan humans com econòmics, emprats en front aquesta patologia, són una part força important de les despeses dels sistemes de salut dels cinc continents. Per fer-nos una idea, el cost mig aproximat del tractament en un pacient amb càncer de còlon als Estats Units, està al voltant d'uns 29.000 \$ [44].

5. TRACTAMENT DEL CÀNCER DE CÒLON

5.1 Tractament quirúrgic

La resecció quirúrgica és l'única opció de tractament curatiu per al càncer de còlon no disseminat. L'objectiu de la resecció quirúrgica de càncer de còlon és l'extirpació completa del tumor amb marges de seguretat i del territori de drenatge limfàtic del segment de còlon afectat. La resecció d'òrgans veïns pot ser necessària si existeix afectació per contigüitat de la malaltia en un òrgan intraperitoneal. Les reseccions d'altres òrgans a distància es poden plantejar en els casos en que es presenti la malaltia en estadi IV.

5.1.1 Limfadenectomia

La limfadenectomia del territori de drenatge del tumor proporciona informació pronòstica i indicacions pel maneig postoperatori amb teràpia adjuvant. És una de les claus del tractament quirúrgic adient.

5.1.2 Extirpació del mesocòlon

L'escissió completa i la lligadura vascular a la base dels pedicles s'han de realitzar de forma rutinària, el que implica l'eliminació en bloc del tumor i de la porció de mesenteri associat. Aquesta tècnica porta associada de formes implícita l'escissió completa del mesocòlon i en situacions concretes del mesorecte com van descriure el cirurgià Dr. Heald [45] i el patòleg Dr. Quirke [46] als anys 80.

5.1.3 Marges de resecció

El marges proximal i distal de resecció han de ser com a mínim de 5 cm del tumor. Aquests marges han de permetre una resecció adequada del segment de colon amb el seu territori vascular i limfàtic associat. Si el procediment realitzat és una hemicolecotomia dreta, la longitud d'ili ressecat no influeix en les taxes de recurrència locals [47].

5.1.4 La via d'abordatge

Les alternatives actuals ens permeten oferir un abordatge quirúrgic per la parotomia o per via laparoscòpia. Els estudis multicèntrics publicats en els últims anys, ens permeten afirmar que la via més adient per tractar als pacients en estadis inicials de la malaltia és la l'accés per laparoscòpia.

5.2 Tractament quimioteràpic

5.2.1 5-fluorouracil i leucovorin

Des de l'any 1990 i fins al 2004, la quimioteràpia postoperatòria amb l'associació de 5-fluorouracil i leucovorin (5-FU / LV) va ser el tractament estàndard per als pacients en estadi III de la malaltia [48]. Les fluoropirimidines orals com la capecitabina poden ser una alternativa eficaç a 5-FU / LV en pacients amb edat avançada o certes comorbiditats [49].

5.2.2 Oxaliplatí

L'any 2004, un estudi multicèntric Internacional analitzant l'oxaliplatí en el tractament adjuvant del càncer de còlon va demostrar que la addició d'oxaliplatí al 5-FU / LV millorava tant la supervivència lliure de malaltia com la supervivència global [50]. Des d'aquell moment es van modificar la

majoria de protocols de tractament quimioteràpic en aquesta línia.

5.2.3 Irinotecan

La quimioteràpia adjuvant associada a irinotecan no pot ser considerada un enfocament estàndard per a pacients que requereixen quimioteràpia adjuvant. Aquesta conclusió es basa en els resultats negatius de diferents estudis [51]. Aquest compost es reserva de forma habitual per a fases metastàtiques de la malaltia.

5.2.4 Bevacizumab

Es tracta d'un anticòs monoclonal dirigit en contra el factor de creixement endotelial vascular (VEGF), que és un dels principals factors moduladors de l'angiogènesi associada a tumors. La seva utilització com a teràpia adjuvant de primera línia no ha demostrat millories significants en la supervivència dels pacients. Amb tot, l'addició de bevacizumab a règims que contenen 5-FU / LV, irinotecan o oxaliplatí millora els resultats en els pacients amb càncer colorectal metastàtic [52].

5.2.5 Cetuximab

És un anticòs monoclonal que actua contra al receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR). El benefici

d'aquest fàrmac en el càncer colorectal metastàtic es limita als pacients on els tumors no tenen una mutació en un dels gens RAS (wild-type K-RAS). No està indicat com a teràpia adjuvant i es reserva principalment per fases metastàtiques de la malaltia [53].

6. ESTADIFICACIÓ

Per afrontar de forma adient el repte que suposa el tractament del càncer de còlon, és fonamental una estadificació correcta de la malaltia, que permeti aplicar un tractament idoni i personalitzat a cada pacient.

La forma més habitual de classificació de l'extensió de la malaltia neoplàsica

és a través de la "American Joint Committee on Cancer / Union Internationale Contre le Cancer (AJCC/UICC) TNM classification". Aquesta classificació ha estat utilitzada des de fa més de 50 anys per predir la supervivència estimada de múltiples tumors i seleccionar els tractaments més adients en cada cas.

En referència al càncer de còlon, la darrera actualització del *AJCC Cancer Staging Manual*, data de l'any 2010 (és la seva setena revisió) i classifica el càncer de còlon de la següent forma, realitzant un especial èmfasi en la presència d'afectació neoplàsica dels ganglis limfàtics:

Primary Tumor (T)	Stage	T	N	M
TX Primary tumor cannot be asse	0	Tis	NO	MO
T0 No evidence of primary tumor				
Tis Carcinoma in situ: intraepithel or invasion of lamina propria ¹	I	T1	NO	MO
T1 Tumor invades submucosa				
T2 Tumor invades muscularis pro	IIA	T2	NO	MO
T3 Tumor invades through the m propria into pericolorectal tiss				
T4a Tumor penetrates to the surfa of the visceral peritoneum ²	IIIB	T4a	NO	MO
T4b Tumor directly invades or is ad to other organs or structures ^{2,3}	IIC	T4b	NO	MO
Regional Lymph Nodes (N)	IIIA	T1–T2	N1/N1c	MO
NX Regional lymph nodes cannot	IIB	T1	N2a	MO
N0 No regional lymph node meta				
N1 Metastasis in 1–3 regional lym	IIB	T3–T4a	N1/N1c	MO
N1a Metastasis in one regional lym				
N1b Metastasis in 2–3 regional lym	IIC	T2–T3	N2a	MO
N1c Tumor deposit(s) in the subser or nonperitonealized pericolic tissues without regional nodal				
N2 Metastasis in 4 or more region	IIC	T1–T2	N2b	MO
N2a Metastasis in 4–6 regional lym				
N2b Metastasis in 7 or more region	IIC	T3–T4a	N2b	MO
Distant Metastasis (M)				
M0 No distant metastasis	IIB	T4b	N1–N2	MO
M1 Distant metastasis				
M1a Metastasis confined to one org (for example, liver, lung, ovary nonregional node)	IVA	Any T	Any N	M1a
M1b Metastases in more than one organ/site or the peritoneum	IVB	Any T	Any N	M1b

Figura 6. Última actualització del AJCC *Cancer Staging Manual* per a les neoplàsies de còlon i recte. **Font:** <https://cancerstaging.org> [54].

Respecte la sisena revisió de l'any 2003, els canvis més destacats són els següents:

- Les lesions es subdivideixen en T4a (tumor penetra la superfície del peritoneu visceral) i com T4b (tumor directament envaeix o histològicament infiltra a altres òrgans o estructures).
- Es potencia la importància dels dipòsits tumorals satèl·lit i es defineix ara com un factor específic (TD). Les

neoplàsies que no tenen metàstasi en els ganglis limfàtics regionals, però tenen dipòsit tumoral en el mesenteri es classifiquen com N1c.

- El nombre de ganglis afectats per metàstasi es considera factor pronòstic en ambdós grups, N1 i N2. En conseqüència, N1 es subdivideix com N1A (metàstasi en 1 gangli regional) i N1b (metàstasi en 2-3 ganglis) i N2 es subdivideixen com N2a (metàstasi en

4-6 ganglis) i N2b (metàstasi en 7 o més ganglis).

• L'estadi II es subdivideix en IIA (T3N0), IIB (T4aN0), i IIC (T4bN0).

• Les M1 han estat subdividides en M1a per única metàstasi i M1b per a múltiples localitzacions [55].

TNM Edition	5th (1997)	6th (2002)	7th (2009)
T		T4a directly invades other organ or structures T4b invade visceral peritoneum	T4a perforates visceral peritoneum T4b directly invades other organ or structures
N	N1: 1-3 positive nodes N2: 4 or more positive nodes	N1: 1-3 positive nodes N2: 4 or more positive nodes	N1: 1-3 positive nodes N1a: 1 node N1b: 2-3 nodes N1c: satellites in subserosa, without regional nodes * N2: 4 or more positive nodes N2a: 4-6 nodes N2b: 7 or more nodes
Isolated tumor cells (ITCs) ‡		ITC considered as N0~	ITC considered as N0~
Nodal Micrometastasis *		Considered as N1~	Considered as N1~
Tumor Deposits (TD)	introducing the 3-mm rule	replacing the 3-mm rule with the contour rule	
M			Mx removed M1a one organ M1b >one organ or peritoneum
Stage Grouping		Stage II is subdivided into IIA and IIB based on whether the primary tumor is T3 or T4, respectively Stage III is subdivided into IIIA (T1-2N1 M0), IIIB (T3-4 N1 M0) or IIIC (any T N2 M0)	Stage II is subdivided into IIA, IIB and IIC based on whether the primary tumor is T3, T4a or T4b, respectively Stage III is subdivided into IIIA, IIIB and IIIC IIIA limited to T1, T2, N1, N2a M0 IIIB any N2b M0 any T except T4b IIIC any T4b N1 N2 M0 Stage IV is subdivided into IVA, and IVB based on whether metastases are M1a or M1b respectively

Figura 7. Comparativa de les tres últimes classificacions de l'American Join Committee on Cancer/Union Internationale Contre le Cancer (AJCC/UICC) TNM classification. **Font:** Marzouk and John Schofield. *Cancers* 2011 [32].

La classificació TNM ha estat molt útil durant anys per estandarditzar les línies de tractament a nivell internacional i per a poder avaluar de forma adient la resposta a aquestes teràpies i, el que és més important, poder predir la supervivència dels pacients dins dels diferents subgrups. Els diversos estudis realitzats per introduir

possibles nous mètodes de classificació del càncer de còlon (immunohistoquímica del tumor, biomarcadors, característiques genètiques, etc.) no han superat fins al moment la classificació TNM. Amb tot, alguns estudis suggereixen que l'anàlisi de la resposta immune intratumoral, podria tenir una capacitat superior que el TNM

per avaluar la supervivència dels pacients segons l'estadiatge [56].

Òbviament, el TNM no és una classificació absolutament precisa ja que fins hi tot en la seva última versió es poden objectivar pitjors taxes de supervivència en pacients amb estiatges teòricament inferiors.

Gao *et al.* van comparar la supervivència en un registre de més de

150.000 pacients aplicant la classificació de la AJCC en la seva versió 6a i 7a. Paradoxalment (com es pot observar a la **Figura 8**) la supervivència va ser major en els pacients en estadi IIIA que en els subgrups més avançats de l'estadi II (IIC i IIB) [57].

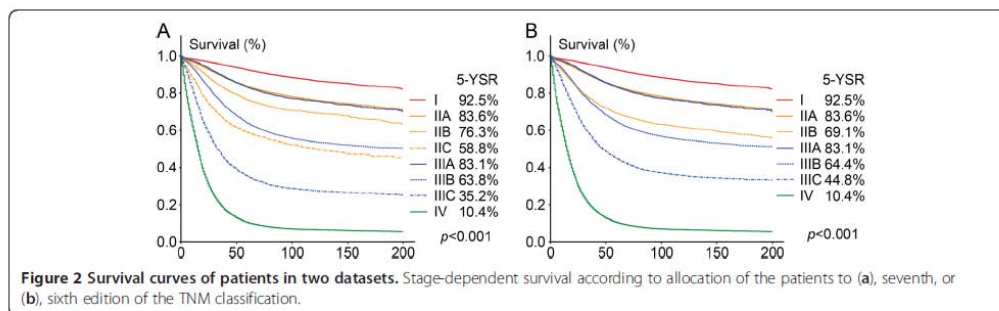


Figura 8. Comparació de la supervivència del pacients afectes de càncer colorectal, aplicant la setena versió de la AJCC (A) o la sisena versió. **Font:** Gao *et al.* *BMC Cancer* 2013 [57].

En aquest sentit, es conegut que fins al 30% dels pacients amb estadi I i II que han realitzat un tractament quirúrgic adient i sense signes d'extensió del càncer al seu diagnòstic, patiran una disseminació a distància de la seva malaltia durant els 5 primers anys de seguiment [58]. És clar per aquest motiu, que altres factors pronòstics independents han de jugar un

paper important en la història natural de la malaltia i en la planificació de tractaments adjuvants eficients.

7. FACTORS PRONÒSTICS

El pronòstic de càncer colorectal ha estat investigat àmpliament durant el segle XX. Ja a la dècada de 1930 Cuthbert Dukes, a l'Hospital de Sant Mark's a Londres va idear el primer

sistema de classificació de la malaltia [59, 60]. En aquell moment es va adonar que el pronòstic del càncer colorectal es basava fonamentalment en la seva forma de presentació en el moment del diagnòstic i per tant en les possibilitats existents de tractament quirúrgic. Actualment l'estadi del tumor segueix sent el factor més important, però s'ha comprès que estem davant d'una malaltia poc homogènia ja que tumors en la mateixa etapa de l'estadiatge poden tenir supervivències diferents i respostes al tractament quimioteràpic també diverses.

7.1 Factors pronòstics en els pacients sense metàstasis

En aquesta línia, el *College of American Pathologist* va definir una sèrie de factors pronòstics en diferents categories en relació a l'evidència científica existent amb el seu efecte en l'evolució del càncer colònic [61].

Com a factors pronòstics del màxim nivell (factors provats en estudis contrastats i acceptats de forma unànime) destaquen el grau d'infiltració local de tumor, o sigui l'estadi T de la classificació TNM i la infiltració metas-

tàtica dels ganglis limfàtics regionals. Alguns autors també inclouen el número de ganglis afectats respecte el total extirpat (ràtio ganglionar) com a factor pronòstic en aquest nivell. Les micrometàstasis en l'espessor del teixit ganglionar, també entrarien en aquest apartat, no obstant seran discutides a fons posteriorment. També estan inclosos la presència de nusos tumorals al mesenteri, la invasió angiolímfàtica, la persistència de tumor després de cirurgia amb intenció curativa (cirurgies R1, R2) i l'elevació del CEA preoperatori.

En un segon nivell van incloure el grau de diferenciació tumoral i l'afectació circumferencial del tumor en porcions retroperitoneals del còlon. Es tractaria de factors llargament estudiats però que encara no han estat analitzats en estudis amb suficient potència. A continuació es situarien factors suggerits en nombrosos estudis però que encara no poden ser inclosos en la categoria prèvia. Estarien entre d'altres el grau histològic, la inestabilitat de microsatèl·lits, la invasió perineural, la pèrdua al·lèlica d'una regió del braç llarg cromosoma 18 i la presència en la peça quirúrgica d'infiltració limfocitària.

Un nivell per sota es descriuen factors no suficientment estudiats com la fibrosis peritumoral, la presència d'aneuploidies en l'ADN del tumor, la diferenciació neuroendocrina focal i la densitat de microvasos dins del tumor [62].

Per últim inclouríem factors on s'ha demostrat que no juguen cap paper en la supervivència del pacients. Entre aquest estarien les característiques macroscòpiques del tumor o la seva mida, on només un estudi ha trobat

una relació entre una mesura superior a 4.5 cm i una pitjor evolució posterior [63].

Com es descriu en la **Taula 1**, innumerable factors pronòstic suposadament relacionats amb el càncer de còlon han estat, i segueixen sent, analitzats amb resultats en ocasions encara parcials o de difícil interpretació.

La següent taula defineix i classifica tots els factors pronòstics estudiats fins al moment per la comunitat científica en el càncer de còlon:

Taula 1. Factors pronòstics estudiats en del càncer de colon. **Font:** Pathology and prognostic determinants of colorectal cancer [64].

-
- a. Extensió local del tumor
 - b. Ganglis regionals metastàtics. Micrometàstasis. Cèl·lules tumorals aïllades
 - c. Nòduls mesentèrics
 - d. La invasió vascular
 - e. La presència de tumor residual
 - f. Elevació CEA preoperatori
 - g. El grau de diferenciació del tumor
 - h. Infiltració circumferencial (radial)
 - i. La regressió del tumor després de la teràpia neoadjuvant (recte)
 - j. Tipus histològic
 - k. La deficiència de gens de reparació així tumor infiltrant limfòcits
 - l. Delecions 18q
 - m. Tipus de marge del tumor
 - n. La invasió perineural
 - o. Aneuploidies de l'ADN
 - p. Múltiples marcadors moleculars com : Gens supressors, Diferents oncogens, gens relacionants amb l'apoptosi cel·lular , gens de la síntesi de DNA
 - q. Factors de creixement i receptors cel·lulars dels mateixos, gens reguladors de l'angiogènsi, gens relacionats amb l'adhesió molecular, inhibidors de la metaloproteïna de la matriu extracel·lular, gens supressor de les metàstasi com el nm23-H1,
-

superexpressió de microRNA, nivells excessius dels processos de metilació i el receptor gamma de l'activació del peroxisoma.

- r. Mutacions del K-ras
 - s. Densitat de microvasos
 - t. Molècules de la superfície cel·lular
 - u. Fibrosi peritumoral i resposta inflamatòria local
 - v. Diferenciació neuroendocrina focal
 - w. Activitat proliferativa
 - x. Mida del tumor
 - y. Configuració macroscòpica del tumor
-

7.2 Factors pronòstics en el càncer colorectal metastàtic

Aquesta fase de la malaltia requereix un anàlisi a banda, ja que a causa de la seva alta incidència ja s'ha convertit en la segona causa de mort en els països occidentals. La supervivència dels malalts en estadi IV de la malaltia ha augmentat de forma considerable en les últimes dècades, en especial gràcies a l'aparició de noves línies de quimioteràpia. Si en els anys 90 amb els tractaments basats en el 5-fluorouracil, la mitjana de supervivència era de 12 mesos, la posterior aparició de l'irinotecan i oxaliplatí van fer augmentar aquesta fins els 18 mesos. En la actualitat, la utilització d'agents biològics han fet que l'esperança de vida sobrepassi els dos anys [33].

Si bé es cert que les noves teràpies amb agents selectius com cetuximab, panitumumab i bevacizumab milloren les expectatives en aquest subgrup de pacients, la resposta a aquests tractaments no és uniforme en tots els malalts. Es per aquests motiu que s'han buscats factors pronòstics individualitzats que permetin una aplicació molt més selectiva d'aquestes teràpies.

D'entrada s'han avaluat factors pronòstics clínics i analítics per determinar en quins pacients existirà una millor resposta al tractament aplicat.

7.2.1 Concentracions de CEA

Els nivells sanguinis de CEA s'han demostrat com un excel·lent marcador de recidiva tumoral després de la resectió quirúrgica. No queda clar quin paper pot jugar en el cas de malaltia

metastàtica, ja que la seva elevació durant aquesta fase, ha estat interpretada de forma divergent en diferents estudis [65].

El que sembla demostrat, és que la presència de CEA elevat en fase metastàtica pot tenir relació amb la presència de K-ras mutat i per tant implicacions en el tipus de teràpia a emprar [32].

7.2.2 Concentracions de CA 19.9

L'elevació del CA 19.9 està en clara relació amb les majors possibilitats d'aparició de malaltia metastàtica i el pitjor pronòstic esperat [66].

7.2.3 Edat com a factors pronòstic

Existeix consens en considerar que l'edat avançada no comporta per si sola un factor de mal pronòstic en el càncer colònic metastàtic [67]. Existeixen classificacions com la classificació pronòstica de Köhne, basada en factors analítics, l'estat físic del pacient i número de metàstasis detectades que permeten afinar de forma més adient el pronòstic dels malalts [68].

7.2.4 Alteracions en el gens K-ras i BRAF

L'activació dels receptors de membrana associats a la proliferació cel·lular, és un dels factors fonamental per entendre el desenvolupament de les cèl·lules neoplàsiques. El control d'aquest receptors es fa mitjançant els gens KRAS i BRAF [69]. Aproximadament el 35% de les peces quirúrgiques amb càncer de còlon, porten associada una mutació al codó 12 (25%) o 13 (10%) de KRAS que provoca l'activació incontrolada dels receptor EGFR [70].

Les noves línies de teràpia biològica, fonamenten la seva actuació en el bloqueig d'aquesta via.

La informació sobre el genotip KRAS / BRAF és fonamental per poder seleccionar la quimioteràpia sistèmica als pacients amb malaltia metastàtica, ja que pot ajudar a identificar els pacients amb pitjor pronòstic. Diversos estudis retrospectius revelen que el cetuximab no és efectiu en pacients amb mutacions de KRAS i del BRAF i que es requereix la presència del gen no mutat [71]. La identificació de les mutacions KRAS com a marcadors de resistència a Inhibidors d'EGFR ha obligat a estudiar marcadors alternatius de resistència a la teràpia anti-

EGFR, com el NRAS, BRAF, i les mutacions PI3KCA [35].

8. IMPORTÀNCIA DE L'AFECTACIÓ GANGLIONAR METASTÀTICA EN EL CÀNCER DE CÒLON

És en aquest punt on hom es planteja la necessitat fonamental d'aprofundir d'una forma el més acurada possible en l'estadiatge i els possibles factors pronòstics dels pacients afectes de càncer de còlon. Per sobre dels nombrosos factors exposats fins al moment, l'evidència científica fins a data d'avui ens obliga a fer un èmfasi especial en la via limfàtica de disseminació tumoral. Si bé aquesta via no és l'únic mecanisme conegut de disseminació (la via vascular pot jugar un paper destacat segons alguns estudis), és la forma més freqüent en les neoplàsies de còlon [72].

Com hem descrit prèviament, la 7a i per ara última classificació de TNM aporta destacades modificacions respecte la forma de subdividir l'afecció dels ganglis limfàtics. Fonamentalment es destaca la importància dels dipòsits tumorals satèl·lit i es defineix ara com un factor específic de mala evolució de la malaltia. Aquests dipòsits poden aparèixer de forma aïllada

on en grups i ser originats per antics ganglis que ha perdut de forma absoluta la seva arquitectura prèvia o de dipòsits en estructures venoses o de la microvascularització [73].

8.1 Número de ganglis dissecats i ràtio ganglionar

Un dels factors acceptats d'una forma més consensuada és la importància del número total de ganglis de la peça quirúrgica per l'estudi histològic [74], consensuant-se en un mínim de 12. En ocasions situacions especials com tractaments adjuvants previs, fan difícil assolir aquest número per fibrosi i impossibilitat de dissecció dels ganglis. La importància d'aquesta evidència ha fet que s'hagin desenvolupat noves tècniques per poder millorar la dissecció i identificació de ganglis en l'espessor del greix mesentèric. Un dels mètodes es basa en la injecció per via arterial de 15 a 20 ml de solució de blau de metilè en la peça quirúrgica. Gràcies a aquesta tècnica s'aconsegueix augmentat de forma significativa el recompte de ganglis limfàtics en comparació amb la dissecció convencional [75]. També ha estat descrita una tècnica per aconseguir eliminar fins a un 90% el teixit

adipós del territori ganglionar gràcies a la injecció d'acetona i la posterior compressió mecànica de la peça [76].

Encara que el número de ganglis estudiats augmenta de forma significativament amb aquestes tècniques, no ho fa el número de ganglis on s'identifica neoplàsia [77].

Diferents estudis mostren que la milloria en l'estadiatge si s'analitzen 12 o més ganglis, és força clara en els estadis II i III i no ho és gens en l'estadi I [78].

Per aquest motiu cada cop pren més força la idea de plantejar una ràtio de ganglis limfàtics, comparant els ganglis afectats respecte el total d'analitzats de la mostra. Nombrosos estudis indiquen que aquesta proporció podria tenir un efecte superior com a factors pronòstic que el número global de ganglis dissecats, en especial en l'estadi III de la malaltia [79]. Sembla observar-se també que el número mínim de ganglis que caldria obtenir per un resultat òptim estaria al voltant de 10 [80].

8.2 Invasió extracapsular dels ganglis limfàtics

La capacitat de les cèl·lules tumorals de segregar components que perme-

tin trencar la càpsula del gangli limfàtic, està en relació directa amb l'agressivitat del tumor i amb la possibilitat de recidiva local i a distància [81].

La detecció i la quantificació del grau d'invasió extracapsular pot ajudar a identificar d'un subgrup de pacients que podrien beneficiar-se de teràpia adjuvant més intensiva.

8.3 Noves tècniques d'anàlisi molecular dels ganglis limfàtics.

Immunohistoquímica i OSNA

Una limitació important de l'examen histològic ganglionar convencional és el fet que només una petita porció del gangli limfàtic s'analitza de forma adient. La forma habitual de fixació del gangli permet la seva tinció amb hematoxilina i eosina i la secció del mateix pel seu eix longitudinal. Per aquest motiu, molta part de la informació pot quedar sense ser processada al estar en regions dels ganglis allunyades de les zona de secció.

8.3.1 Immunohistoquímica

Les tècniques de immunohistoquímica utilitzant anticossos monoclonals dirigits a diferents proteïnes presents

en la superfície o el citoplasma de les cèl·lules tumorals, com ara CEA, citoqueratina 20 (CK 20), i citoqueratines AE1 / AE3 (vegeu a la **taula 2** els marcadors més habituals emprats). Aquests anticossos monoclonals estan identificats amb certs colorants i això permet detectar per microscòpia òptica la presència de cèl·lules epitelials en els ganglis limfàtics, indicant la seva naturalesa metastàtica.

A més, aquesta tècnica es pot associar a la secció múltiple del gangli limfàtic amb talls de fins a 250 micres, aconseguint analitzar quasi la totalitat del volum adenopàtic.

8.3.2 OSNA

El "*One-step nucleic acid amplification*" (OSNA) és una nova tècnica d'anàlisi molecular dels ganglis limfàtics basada en la identificació del RNA missatger de la Citoqueratina 19 (CK-19) expressada per les cèl·lules tumorals en el càncer de còlon i mama principalment [82]. Aquest mètode permet analitzar la totalitat del gangli i així determinar el número de còpies presents de mRNA de la CK-19 gràcies a la transcripció inversa isotèrmica de l'ADN. De forma estandaritzada, es considera que < de 250

còpies per microlitre és un resultat negatiu i per sobre un resultat positiu. La rapidesa en arribar a un número determinat de còpies i la quantitat d'aquestes còpies, permeten una estimació en la presència de cèl·lules neoplàsiques aïllades, micrometàstasis i macrometàstasis [83].

Els inconvenients d'aquesta tècnica apareixen quan s'observa que només es pot realitzar amb espècimens en fresc i no és possible la fixació del material amb formol. Això obliga a la presència de forma immediata del patòleg en l'acte quirúrgic, fet que avui en dia suposa un greu problema organitzatiu. Un segon problema descrit és la facilitat amb que es poden contaminar les mostres per mobilització de cèl·lules tumorals durant les maniobres quirúrgiques. Això pot determinar la presència de falsos positius [83]. Per últim la realització d'OSNA dificulta diferenciar si la invasió neoplàsica es tracta de cúmuls extraganglionars o en d'interior del gangli limfàtic.

8.3.3 Tècnica de PCR

Es tracta d'una tècnica enzimàtica que permet la detecció i quantificació de cadenes de RNA missatger de dife-

rents molècules associades a cèl·lules neoplàsiques. El valor de la tècnica per a la detecció de cèl·lules tumorals ocultes en els ganglis limfàtics regionals es basa en minimitzar l'aparició de resultats falsos positius i de falsos

negatius. En aquest sentit, estan descrits en la literatura la detecció d'expressió de citoqueratina 19 en ganglis de pacients intervinguts per patologies benignes [84].

Taula 2. Aquesta taula descriu alguns dels marcadors moleculars emprats per a la detecció de cèl·lules de càncer de còlon en ganglis limfàtics. **Font:** Resch *et al.* 2013 [73].

Keratin 20
Keratin 19 (including one-step nucleic acid amplification technique)
Mucin apoprotein 2
Guanylyl cylase C
Carcinoembryonic antigen
CEACAM6
CEACAM1-S
CEACAM1-L
CEACAM7-1
CEACAM7-2
c-Met
K-ras mutation
Estrogen receptor promoter methylation

9. GANGLI SENTINELLA PER L'ESTUDI DE L'AFECTACIÓ GANGLIONAR METASTÀTICA

9.1 Definició

Es defineix com a gangli sentinella aquell gangli limfàtic o grup de ganglis que estan en la primera regió del drenatge limfàtic d'un tumor i que, per tant, tenen una major possibilitat d'estar afectats per malaltia metastàsica. Aquest gangli es pot identificar i extirpar per separat, permetent fer una estimació de l'estat d'afectació tumoral de tota la cadena ganglionar.

9.2 Història

El concepte de gangli sentinella té més de mig segle de vida, ja que va ser descrit per primer cop per Gould l'any 1960 en un pacient amb càncer de paròtida [85] i va ser posteriorment aplicat a la pràctica clínica per Cabanas en els anys 70 en neoplàsies de penis [86]. L'any 1992 es va publicar la primera sèrie en malalts afectes de melanoma maligne i posteriorment es va estendre el seu ús en el càncer de mama, on mostra actualment la seva màxima difusió [87, 88].

L'aplicació de la tècnica en aquestes patologies condiona un canvi en la estratègia quirúrgica, permetent limfadenectomies més limitades i per tant menys agressives pel pacient.

9.3 Gangli sentinella en el càncer colorectal

El gangli sentinella aplicat específicament en el càncer de còlon va ser introduït imitant el concepte descrit per altres patologies neoplàsiques, si bé la idea inicial no passava per modificar la tècnica quirúrgica (com succeïa fins al moment) si no per aconseguir una estadificació més acurada del procés [89].

Variants tècniques

Existeixen dues variants tècniques principals per aconseguir la difusió del marcador fins als ganglis del mesenteri, la tècnica *in-vivo* (descrita inicialment l'any 2000 per Saha *et al*) [90], i la tècnica *ex vivo* [89].

9.3.1 Tècnica in-vivo.

La tècnica *in-vivo* aconsegueix administrar el contrast en ple acte quirúrgic, quan les estructures anatòmiques estan intactes i el drenatge limfàtic no està alterat. Els avantatges d'aquest

sistema radiquen en que l'anatomia de la zona no mostra cap disrupció i que el drenatge des del tumor no està alterat. Aquesta característica va fer que en alguns estudis es descrivissin les anomenades *Skip Metastases* [91]. Es definien com a ganglis limfàtics que captaven contrast injectat al tumor primari, però que pertanyien a un territori aberrant, no esperat si considerem les distribucions anatòmiques habituals. Això obre la porta en casos limitats a variar la tècnica quirúrgica emprada, ja que podria ser necessari realitzar limfadenectomies més amples en pacients concrets amb ganglis sentinella fora del territori de drenatge habitual i que per tan poden incloure en teoria cèl·lules neoplàsiques metastàtiques. El procediment ha estat descrit tan en cirurgia per via oberta com en reseccions per via laparoscòpica [92].

Els inconvenients principals de la tècnica *in vivo* radiquen en la necessitat de punció durant el mateix acte quirúrgic. Aquest procediment es pot realitzar a través de fibrocolonoscòpi o per punció directa del tumor per part del cirurgià. Aquesta manipulació del tumor durant l'acte quirúrgic, és el que ha fet que la tècnica no ha hagi

estat emprada de forma extensiva, ja que aniria en contra del concepte clàssic del *Don't touch* relacionat amb la possibilitat teòrica de disseminació neoplàsica durant l'acte quirúrgic [93].

9.3.2 Tècnica *ex vivo*

La tècnica quirúrgica *ex vivo* es defineix com la injecció del contrast en un camp quirúrgic independent un cop la peça quirúrgica està ressecada segons criteris oncològics estàndards. Els punts més favorables estarien en relació amb la seguretat de la tècnica per la impossibilitat de disseminació tumoral i per la major cura en la injecció del colorant en la submucosa colònica. L'inconvenient més evident radica en la impossibilitat de detectar *skip metastases* ja que el drenatge limfàtic ja està amputat i per tan pot existir una teòrica infraestadificació dels pacients.

La majoria d'estudis accepten la possible existència de drenatges limfàtics aberrants en menys del 10% del casos. Tot i així, un estudi recent d'un grup amb una alta experiència en gangli sentinella, eleva fins al 22% els pacients en els que es detecten ganglis limfàtics amb marcadors fora del territori de drenatge esperat [94].

En resum, la forma ideal d'aplicar el traçador per detectar el gangli sentinella, seria emprar la tècnica quirúrgica *in-vivo* amb punció al voltant del tumor a través del colonoscopi. De totes formes, les dificultats organitzatives que comporta realitzar una colonoscòpia intraoperatòria fan que la majoria d'estudis optin per fer prevaldre la seguretat dels pacient respecte la possibilitat d'infraestadificació i apliquen la tècnica *ex vivo* quan s'analitza el gangli sentinella en el càncer de còlon [95].

9.4 Traçadors

9.4.1 Blau de metilè

El traçador utilitzat en la majoria de publicacions [96] i en el nostre estudi és el blau de metilè (clorur de metilona). Es tracta d'un producte no tòxic, amb un baix cost econòmic i que permet una bona difusió i correcta identificació a través dels canalicles limfàtics del gangli sentinella.

9.4.2 altres colorants

Han estat emprats com alternatives múltiples traçadors com diferents tipus de tintes, la més comú el *Patern Blue* o l'*Isosufan blue*. També està descrit el verd d'indocianina associat la injecció de sèrum salí a la paret del

còlon amb posterior identificació amb llum infraroja. Permet la seva realització en cirurgia laparoscòpica i amb identificació *in vivo* del gangli sentinella [97].

9.4.3 Radio col·loides i nanopartícules

Els radio col·loides utilitzats (^{99m}Tc Tecneci sestamibi), per detectar els ganglis sentinelles en altres localitzacions com la mama i els melanomes, també han estat testats amb èxit en el cas del còlon [98]. Finalment, nanopartícules i combinacions entre tintes i radio col·loides han estat descrites en algunes publicacions [99].

No han estat detectades diferències significatives relacionades amb el traçador en relació a la detecció del gangli sentinella. En un metanàlisi publicat per Van der Pas on inclou 52 estudis, es descriu com la tinta té una taxa del 94% d'èxits, els radioisòtops un 88%, el verd d'indocianina un 88% i el blau de metilè un 84% [96].

9.5 Paràmetres de referència de la tècnica

La taxa de falsos positius de la tècnica es molt baixa, encara que ocasionalment estan descrits alguns falsos positius en ganglis limfàtics de pacients

amb patologies benignes [100]. La taxa de detecció es calcula mitjançant el nombre de procediments en els quals almenys un sentinella va ser identificat, dividit pel nombre total dels procediments realitzats. Els falsos negatius es consideren quan no s'identifica implants neoplàsics en els ganglis sentinelles i sí en ganglis no sentinelles.

La sensibilitat del procediment es defineix com el nombre de ganglis sentinelles positius dividit per aquesta xifra més els falsos negatius. (veritables positius / veritable positius més falsos negatius) [96].

Amb tot, cap de les variants del procediment descrites han permès superar uns dels punts febles de la tècnica, l'alta dispersió dels resultats en referència a la sensibilitat a l'hora de detectar cèl·lules neoplàsiques només en els ganglis considerats sentinelles. Els percentatges tenen un rang entre el 33% i el 100% depenent de cada publicació amb una mitja del 76%.

Si només analitzen els estudis amb una millor qualitat metodològica, un número de pacients inclosos més elevats i una llarga experiència en la tècnica, la sensibilitat mitja i la taxa

mitja de detecció s'eleva fins al voltant de 90% [101].

Existeixen diverses explicacions per intentar justificar aquestes diferències respecte la sensibilitat:

- a) En nombrosos estudis es descriu l'ocupació del canalicles limfàtics per cúmuls tumorals com un motiu que impediria la correcta detecció del gangli sentinella. A major estadi tumoral, més possibilitats d'infiltració i per tan més complicat serà detectar el gangli sentinella [102].
- b) En els cas de les neoplàsies de recte, la realització de tractament neoadjuvant amb radioteràpia, fa que en moltes ocasions el drenatge limfàtic quedi alterat, i fins i tot està descrita la disminució del recompte de ganglis dissecats per fibrosi dels mateixos [103].
- c) Per últim, com en tota tècnica relacionada amb la cirurgia, està descrita una corba d'aprenentatge que podria influir en la sensibilitat del procediment i en especial en la taxa de detecció. Existeix un consens en definir uns vint procediments

com el número ideal per superar aquest corba [104].

9.6 Anàlisi anatomopatològic del gangli sentinella

L'obtenció d'un número reduït de ganglis representatius de la totalitat de la peça quirúrgica, permet aplicar una sèrie de tècniques específiques sobre aquest gangli amb un estalvi de temps i de recursos econòmics. En concret està descrit l'aplicació de tècniques de microsecció, immunohistoquímica, PCR i OSNA sobre el gangli sentinella. Tots aquests procediments permetran detectar un major número d'afectacions ganglionars per malaltia neoplàsica, amb un diferent grau i amb diferents possibles implicacions. Es defineix com a Gangli positiu, aquell on es detecta la presència de cèl·lules neoplàsiques, independent de la tècnica histològica emprada.

- Es defineix com a Macrometàstasi la presència de cúmuls de cèl·lules tumorals majors de 2 mm
- Es considera Micrometàstasi la presència de cúmuls de cèl·lules tumorals entre 2 mm i 0.2mm
- Es classifica com a Cúmuls Cel·lulars Metastàsics o submicrometàstasis aïllats la presència de

cúmuls de cèl·lules tumorals menors de 0,2 mm sense contacte amb paret dels sinus i sense reacció estromal del voltant

- Es defineix com Cèl·lules Aïllades la detecció de cèl·lules neoplàsiques sense formar agrupacions [105].

9.7 Significat clínic de les micrometàstasis i de les cèl·lules aïllades

Un dels reptes actuals més importants en l'estudi histopatològic del càncer de còlon, és determinar fins a quin nivell la presència de malaltia neoplàsica en un gangli limfàtic, tindrà capacitat per desenvolupar-se de forma autònoma i provocar disseminació metastàsica.

Les recomanacions de les últims guies de la AJCC / UICC indiquen la necessitat de diferenciació entre la presència de cèl·lules aïllades i de micrometàstasis en els ganglis analitzats. Aquestes indicacions segueixen la tendència d'una part de la bibliografia publicada fins a data d'avui, on es suggereix que l'aparició de micrometàstasis condiciona un pitjor pronòstic als pacients. En un meta-anàlisi recent després d'analitzar vuit estudis es conclou que la presència de micrometàstasis en els

ganglis limfàtics de pacients amb estadi I i II de càncer de còlon són un factor de mal pronòstic. De la mateixa manera, la detecció només de cèl·lules aïllades en els ganglis no provoca cap canvi en la seva corba de supervivència [106].

Però no tots els estudis arriben a la mateixa conclusió. De fet Rahbari [107] en un meta-anàlisi i Bukholm [108] en un estudi prospectiu en un sol centre, associen la presència de cèl·lules neoplàsiques aïllades en els ganglis limfàtics amb una pitjor supervivència. En el cas de pacients amb malaltia metastàsica, sembla que la pitjor evolució és més clara, tan si es detecten cèl·lules aïllades o micrometàstasis en sang perifèrica o en ganglis limfàtics [109].

10. TRANSFUSIÓ DE CONCENTRATS D'HEMATIES EN PACIENTS AMB CÀNCER DE CÒLON.

A principis dels anys vuitanta, Francis i Sentón en una publicació basada en models animals van apuntar la possibilitat que la transfusió sanguínia afavorís el creixement tumoral [110]. En estudis clínics, des de la primera descripció en 1982 per Burrows i Tartter [111], diverses publicacions han sug-

gerit que la transfusió sanguínia en el període perioperatori pot disminuir la supervivència global i augmentar les taxes de recurrència tumoral en els malalts amb càncer de còlon i recte [112].

Els mecanismes postulats per justificar aquests efectes estarien en relació amb possibles alteracions immunològiques condicionades pels diferents productes de la transfusió.

Tanmateix, la pitjor supervivència en els pacients que reben transfusions de sang podria no ser necessàriament una conseqüència de les transfusions per si mateixes, sinó més aviat per factors de mal pronòstic presents en els pacients que obliguen a indicar una transfusió [113].

10.1 Canvis immunològics deguts a la transfusió

La reducció de la concentració de leucòcits prèvia a l'emmagatzematge dels concentrats d'hematies, és el mètode actual més estès de conservació de les mostres [114]. Un dels principals avantatges de leucorreducció és evitar l'acumulació de substàncies bioactives alliberades per les cèl·lules de la sèrie blanca implicades

en la immunosupressió relacionada amb la transfusió.

Tot i això, la reducció dels leucòcits no és completa i poden persistir petites concentracions d'aquestes cèl·lules i de citocines biològicament actives (Interleuquines 5, 6 i 10 entre d'altres) [115]. Sembla ser que l'augment del temps d'emmagatzematge dels concentrats d'hematies, provocaria que substàncies pro-inflamatòries entrin en fase d'activació i afectin la immunitat cel·lular del receptor, en especial alterant les respostes dels limfòcits Natural Killers [116].

S'ha postulat que aquest ambient pro-inflamatori podria jugar un paper decisiu en la expansió dels tumors i en el procés de metàstasi dels mateixos.

Els principals efectes descrits sobre la immunitat s'exposen a continuació [117]:

- Disminució del recompte de cèl·lules T
- Disminució de la proporció Helper / Killer de cèl·lules T
- Disminució de la resposta dels limfòcits als estímuls mitogènics,

- Disminució de la funció del Limfocits natural killer
- Reducció de la hipersensibilitat de tipus retardat
- Presentació d'antígens defectuosa
- Supressió de la blastogènesis de limfòcits
- Disminució de la funció fagocítica dels macròfags
- Augment de la producció anticossos anti-clonotípic i anti-idiotip

No queda del tot aclarit, si aquest canvis demostrats en diferents publicacions, poden realment interferir en el creixement tumoral i de quina manera en concret poden modificar l'evolució del càncer de còlon i recte.

10.2 Transfusions autòlogues i al·logèniques

No existeix prou evidència per definir si existeix diferències en l'administració de sang autòloga en relació al risc de recurrència de càncer en comparació amb les transfusions al·logèniques. Si bé l'autotransfusió intraoperatòria sembla ser un mètode segur, no queda clar si ofereix algun avantatge sobre l'administració de transfusions de sang al·logènica en referència a la recurrència del càncer

o la mortalitat general dels pacients [118]. De fet Busch *et al.* en un estudi prospectiu randomitzat, van demostrar que no existeix una millor evolució des del punt de vista oncològic en pacients que havien estat transfusos amb sang autòloga i amb d'altres als que se'l va administrar sang heteròloga [119]. Aquest fet posa en dubte l'efecte real de la immunomodulació associada a transfusió en la història natural del càncer de còlon.

10.3 Relació entre transfusions i recidiva o mortalitat

Existeixen certes divergències en els estudis clínics per poder esbrinar si la transfusió de concentrats d'hematies té una relació *per se* amb la supervivència dels pacients afectes de càncer de còlon. Han estat publicats dos meta-anàlisis a data d'avui, el primer escrit pel grup Cochrane l'any 2011 [120] que va incloure assajos controlats aleatoris, juntament amb estudis observacionals prospectius i retrospectius. L'efecte de les transfusions de sang perioperatòria en la recurrència en els estudis aleatoris mostrava una associació moderada entre la transfusió de sang perioperatoria i un major

risc de recurrència en pacients amb càncer colon i recte. També van mostrar una relació dependent de la dosi, amb tres o més unitats de sang transfosa gairebé duplicant el risc observat amb un o dos unitats. Malgrat això, l'heterogeneïtat dels estudis i la incapacitat per distingir el possible efecte de la tècnica quirúrgica en els resultats, no va permetre als autors determinar una relació causa-efecte.

En el segon estudi publicat un any després, s'afirma que és prudent suposar que a més dels diferents factors adversos que poden modificar l'evolució posterior a la cirurgia del càncer de còlon, la transfusió juga un paper negatiu en aquesta evolució a llarg termini [121]. Paradoxalment, altres estudis afirmen que els pitjors resultats en els pacients que reben transfusions de sang no són necessàriament deguts a les transfusions per si mateixes, sinó més aviat per altres factors de mal pronòstic associats a les transfusions de sang, com ara l'anèmia preoperatòria, la dificultat i durada del procediment quirúrgic, l'estadiatge del tumor i les comorbilitats dels pacients [119, 113].

Una possible explicació per aquesta disparitat de resultats, seria les dates dels estudis analitzats en els metanàlisis (la majoria durant els anys noranta) i el número baix de pacients inclosos en la majoria d'ells. És evident que falten estudis que permetin avaluar el paper independent de la transfusió en el pronòstic del pacients amb càncer de còlon no metastàtic. .

11. TÈCNICA QUIRÚRGICA I SUPERVIVÈNCIA. POSSIBLE INFLUÈNCIA DE LA CIRURGIA LAPAROSCÒPICA

11.1 Evolució històrica

La resecció laparoscòpica del còlon sigmoide va ser descrita per primer cop per Jacobs l'any 1991 [122]. No obstant això, l'adopció generalitzada del procediment laparoscòpic ha estat més lenta per al càncer colorectal que per a altres patologies benignes. En part aquest fet pot ser explicat pels decebedors resultats inicials amb altes taxes de recurrència i aparicions d'implants neoplàsics en les cicatrius dels tròcars de treball (Port site metastases) [123]. Gràcies a l'estandardització de la tècnica quirúrgica laparoscòpica (aplicant les premisses del *Don't touch techniques*

[124]) i a l'aplicació de les mesures per evitar la disseminació de la neoplàsia (control del pneumoperitoneu) es va aconseguir superar els dubtes de la primera fase. Va ser en aquest punt, on es van posar de manifest els avantatges a curt termini d'aquest nou enfoc tècnic. La menor agressió quirúrgica permetia una més ràpida recuperació postoperatòria, amb menys necessitat de transfusió sanguínia i un inici precoç de la ingesta. A les millores des del punt de vista estètic, també es van sumar la més ràpida recuperació per a les activitats de la vida quotidiana.

En resum es pot dir que la cirurgia per via laparoscòpica d'aquesta patologia, aconsegueix una disminució significativa de la disfunció orgànica postoperatòria amb moderats guanys en quant a la recuperació funcional. A més, segons alguns estudis, la morbiditat immediada després de la cirurgia, es veu reduïda de forma evident si realitzem el procediment per via laparoscòpica [125]. En aquest moment, molts centres van iniciar la seva corba d'aprenentatge per la tècnica i poc a poc es va establir com la forma d'abordatge del càncer de còlon per defecte. Seguint aquesta tendència,

l'any 2002 a l'Hospital de Mataró ens vàrem proposar el desenvolupament de la cirurgia laparoscòpica en els malalts afectes de càncer de còlon [126]. En aquesta època, la nostra unitat realitzava aquestes intervencions a través de laparotomia, amb uns resultats comparables als estàndards de qualitat acceptats internacionalment tant des del punt de vista perioperatori com de recidiva i supervivència [127].

El nostre objectiu va ser beneficiar-nos dels avantatges que aporta aquesta cirurgia, sense incrementar les complicacions, mantenint els criteris oncològics de resecció (nombre de ganglis, lligadures vasculars en l'arrel, distància de la neoplàsia als marges de resecció, etc.) i sense empitjorar els resultats a llarg termini, especialment en relació a la supervivència i al temps lliure de malaltia

11.2 Els estudis multicèntrics en cirurgia laparoscòpica de còlon

A finals de la dècada dels 90 i durant els primers anys del segle XXI, es va posar de manifest la necessitat de realitzar estudis multicèntrics que permetessin extreure conclusions

significatives sobre l'aplicabilitat de la tècnica laparoscòpica i els seus avantatges. A més era primordial obtenir resultats que contrastessin les taxes de supervivència global i les taxes de temps lliure de malaltia per comparar-les amb l'abordatge convencional per laparotomia. Els estudis més destacats van ser el COST trial (on van participar 48 centres de Estats Units i Canadà) [128], el COLOR trial (amb la participació de 29 centres de 7 països Europeus, entre ells Espanya) [129] i el CLASSICC trial amb 27 Hospitals del Regne Unit [130].

Els resultats a curt termini comparant la cirurgia laparoscòpica amb la laparotomia van mostrar que:

1. El temps quirúrgic va ser més llarg per la tècnica laparoscòpica.
2. La pèrdua hemàtica en els pacients que es van sotmetre laparoscòpia va ser significativament menor que en els pacients que es van sotmetre laparotomia. No es van trobar diferències en el número de pacients transfosos.
3. No hi van haver diferències significatives en el nombre de ganglis identificats ni en l'afectació circumferencial en les peces quirúrgiques de les dues formes d'abordatge.
4. La durada de l'estada hospitalària i el temps d'inici de la dieta oral van ser significativament més curts amb la laparoscòpia.
5. La longitud de la incisió sobre l'abdomen va ser significativament més curta en el grup de laparoscòpia.
6. Les taxes de ili postoperatori van ser significativament menors si els pacients havien estat intervinguts per laparoscòpia.
7. No es van detectar diferències en les taxes de dehiscència anastomòtica ni en la mortalitat global perioperatòria.
8. El cost global de la cirurgia va ser similar en els dos grups.

En relació als resultats a llarg termini, dels estudis es pot extreure que pel que fa a la recurrència de la malaltia, la recidiva local, les metàstasi a distància, i la disseminació peritoneal, les diferències entre els dos grups no van ser significatives [131]. Els temuts

implants en els trócars, van tenir una incidència similar a les recidives a nivell de les laparotomies. Tampoc hi va haver diferència significativa en la mortalitat general i en la relacionada amb el càncer.

A continuació es mostra una relació del estudis amb major significació estadística comparant la cirurgia laparoscòpia del càncer de còlon per via laparoscòpica i per laparotomia.

Taula 3. Selecció d'estudis publicats comparant cirurgia laparoscòpica i laparotomia en el càncer de còlon. **Font:** Adaptat de Hiroshi *et al.* Journal of Cancer 2012 [131].

authc	institutions of the study	Conversion rate (%)	Study size (n)		follow-up period (months)
			LC	OC	
Braga et	single center	5.2(7/134)	134	134	73 months (median)
CLASICA	multicenter (27)	25(61/246)	526	268	56.3 months (median)
COLOR	multicenter (29)	19(102/534)	534	542	53 months (median)
COST tri	multicenter (48)	21(90/435)	435	428	7 years (median)
Curet et	single center	28(7/25)	25	18	4.9 years (mean)
ALCCaS (Hewett)	multicenter (31)	14.6(43/294)	294	298	unknown
Kaiser et	single center	46.4(13/28)	28	20	35 months (median)
Barcelon (Lacy et)	single center	11(12/111)	111	108	95 months (median)
Liang at	single center	3(4/135)	135	134	40 months (median)
Mirza et	single center	17 (19/113) concluding rectal cancer	116	117	48 months (median)
Pascual et	single center	12(7/60)	60	60	41 months (median)
Winslow	single center	15(7/46)	46	43	30.1 months (mean)

11.3 Cirurgia laparoscòpica i millora de la supervivència

Només alguns articles publicats, la majoria arrel de l'experiència en un mateix centre, han apuntat la possibilitat que l'abordatge laparoscòpic pugui suposar una factor favorable en la supervivència a llarg termini [132]. En l'estudi que s'ha anomenat "Barcelona Trial" de l'any 2008, l'equip del

Dr. Lacy van indicar que els malalts en estadi III de càncer de còlon operats per laparoscòpia tenien una millor supervivència global i un major temps lliure de malaltia respecte els intervinguts per laparotomia. Entre les possibles explicacions que es podrien trobar d'aquest fet, es van descriure la demostrada disminució de la resposta a l'estrès quirúrgic que provoca la laparoscòpia i la menor alliberament de citocines en sang perifèrica [133].

Aquesta tipus de resposta permetria mantenir una millor funció immune de tipus cel·lular i una disminució dels factors pro-inflamatoris en sang perifèrica. Tan en models animals com en estudis en humans, l'abordatge per laparotomia provoca l'augment de les concentracions sanguínies de interleukina 6 i de Factor endotelial de creixement (VEGF) que podrien estar en relació amb el creixement tumoral i l'angiogènesi [134].

Alguns estudis no randomitzats amb pacients d'un únic hospital han obtingut un resultat similar des del punt de vista de millor supervivència dels pacients intervinguts per laparoscòpia [135]. Un estudi multicèntric Italià, també ha reproduït els resultats obtinguts pel grup de Lacy en l'estadi III de la malaltia [136].

JUSTIFICACIÓ DE LA TESI

Justificació de la tesi

El càncer de còlon és un problema de salut a escala mundial, amb una especial afectació dins de la població dels països occidentals. La seva alta incidència ha fet que ens els últims anys, s'hagi convertit en una de les principals causes de mort en el primer món. L'enfoc mèdic de la malaltia es pot plantejar des de diverses vessants si fem especial èmfasi en la història natural de la mateixa. Així, disposem de mesures de prevenció basades en el control dels factors de risc com podrien ser l'obesitat, el sedentarisme, el tabac, l'alcoholisme, els hàbits alimentaris i el seguiment dels pacients amb malalties predisposants. Les campanyes de cribratge entre la població sana han permès, tanmateix, la detecció del càncer de còlon en estadis molt precoços de la malaltia i així augmentar de forma significativa la supervivència dels pacients. El tractament d'elecció un cop diagnosticada la patologia i que permet el major índex de supervivència és la resecció quirúrgica del tumor. La tècnica quirúrgica està plenament estandarditzada, requerint la resecció íntegra de la neoplàsia amb marges adients i amb la complerta exèresi del territori de drenatge ganglionar. Posteriorment seran l'estadiatge definitiu del tumor i les característiques anatomopatològiques de la neoplàsia les que marcaran el tractament a seguir. És en aquest punt on ens hem plantejat la necessitat d'aprofundir en una sèrie de factors pronòstics basats en característiques anatomopatològiques del tumor i en variables del període perioperatori que impacten en el pronòstic dels pacients i que es poden avaluar en un hospital general. A la unitat de coloproctologia de l'Hospital de Mataró es realitzen una mitja de 95 intervencions anuals per càncer de còlon. Aquesta dada posa de manifest que darrera del càncer de mama, és la patologia neoplàsica amb més prevalença en el nostre centre.

És per aquest motiu que ens plantegem analitzar quina ha estat l'evolució dels pacients diagnosticats de càncer de còlon no metastàtic al nostre centre entre els anys 2002 i 2012, amb un especial interès en conèixer els factors pronòstics que es poden derivar de l'estudi exhaustiu de l'afectació limfàtica de la malaltia, de la tècnica quirúrgica utilitzada i de la necessitat de transfusió de concentrats d'hematies en el període perioperatori. El millor coneixement d'aquests factors ens permetria millorar la nostra pràctica clínica en relació amb aquesta patologia tan prevalent. Són nombrosos els factors pronòstics detectats fins a la data d'avui que estan associats a característiques de l'estudi histològic. Aquest factors condicionen la supervivència dels malalts afectes de càncer de còlon i, en els protocols

actuals, la seva presència és el motiu principal que indica la l'administració de tractament quimioteràpic en el període postoperatori. En l'actualitat s'accepta que l'afectació ganglionar per cèl·lules neoplàsiques és el principal factor pronòstic i, per tant, el motiu fonamental per aplicar teràpia adjuvant en aquests malalts. Si no es detecta infiltració dels ganglis extirpats, es considera que la malaltia no ha sobrepassat la barrera limfàtica i que per definició la resecció quirúrgica complerta és curativa. Paradoxalment, en aquests subgrup de pacients apareix una progressió tumoral als cinc anys quasi en un terç dels malalts. Aquest fet, planteja la necessitat de valorar dos possibles causes:

1. No disposem de les tècniques adients per detectar l'afectació del ganglis limfàtics per cèl·lules tumorals. En aquest sentit, els procediments que es realitzaren de forma sistemàtica en la majoria de centres, permeten detectar de manera adient les macrometàstasis ganglionars, però fracassen en la majoria d'ocasions a l'hora de diagnosticar micrometàstasis i cèl·lules aïllades.
2. Podrien existir altres factors pronòstics no avaluats en l'actualitat que fan que l'evolució dels pacients amb aquest tipus de neoplàsia sigui més tòrpida. A més de les característiques genètiques de les cèl·lules tumoral, el grau d'agressió quirúrgica durant l'acte operatori i l'estat immunològic del propi malalt podria jugar algun paper.

L'aplicació sistemàtica de la tècnica del gangli sentinella en els pacients intervinguts de càncer de còlon no metastàtic, podria permetre identificar un grup reduït de ganglis amb les més altes probabilitats de patir afectació per cèl·lules neoplàsiques. L' associació de tècniques d'immunohistoquímica i de microsecció en aquests ganglis, augmenta de forma significativa la detecció d'implants neoplàsics, fins hi tot les micrometàstasis i la presència de cèl·lules aïllades. No existeix una evidència científica ferma que recolzi la hipòtesis que una afectació ganglionar metastàtica microscòpica signifiqui una pitjor supervivència als cinc anys. Aquesta tesi doctoral intentarà donar resposta a aquesta pregunta, com a mínim en els malalts tractats en els nostre centre.

En un segon bloc de la tesi, analitzarem dues variables del període perioperatori dels nostres malalts que poden afectar el seu pronòstic. Per una part estudiarem la possible relació entre la transfusió sanguínia a la que han estat sotmesos aquests pacients (indicada per l'anèmia típica d'aquesta patologia o per complicacions durant l'acte quirúrgic) i la super-

vivència i recidiva als cinc anys. Encara que hi han referències puntuals en la literatura científica, no existeix un consens unànim en acceptar que les transfusions sanguínies puguin alterar la història natural del càncer de còlon. L'estudi de les dades que disposem, pot ajudar a resoldre aquesta qüestió.

Per últim descriurem quina ha estat l'evolució de la tècnica quirúrgica en el nostre centre en els últims 10 anys i exposarem com la cirurgia laparoscòpica del càncer de còlon ha patit un desenvolupament exponencial. Des de uns inicis on només estava indicada en casos molt seleccionats, actualment és la via d'elecció per a tot pacient afecte per aquesta malaltia. Un cop demostrat a través d'estudis multicèntrics els avantatges d'aquesta via d'abordatge en especial en el període postoperatori, resta per esbrinar si podria fins i tot aportar una milloria de la supervivència a llarg termini. Som conscients que la descripció dels nostres resultats no podrà posar llum a la qüestió d'una manera definitiva, però si que creiem que aportaran dades per a la reflexió en aquest sentit.

HIPÒTESI I OBJECTIUS

Hipòtesi

Hipòtesi general: Existeixen factors pronòstics histològics i del període perioperatori, que no han estat estudiats de forma exhaustiva, i que condicionen la supervivència global i el temps lliure de malaltia dels pacients afectes d'un càncer de còlon no metastàtic.

De forma específica, plantegem que:

- a) Un estadiatge tumoral més acurat mitjançant la tècnica del gangli sentinella, permetrà identificar un subgrup de pacients (*up-stage*) que es podran beneficiar de tractaments quimioteràpics adjuvants i millorar la seva supervivència als cinc anys de la cirurgia.
- b) La transfusió perioperatòria de concentrats d'hematies influeix en la supervivència global i el temps lliure de malaltia en aquests pacients
- c) L'abordatge quirúrgic pot comportar-se com un factor pronòstic i condicionar la supervivència global i el temps lliure de malaltia en aquests pacients.

Objectius

- **Estudi 1.** Determinar si els pacients intervinguts per patir un càncer de còlon , amb afectació ganglionar metastàsica només diagnosticada per la tècnica del gangli sentinella (up-stage) tenen una pitjor supervivència que aquells on no s'evidencia afectació ganglionar per cap tècnica (N0)
- **Estudi 2.** Definir si la transfusió de concentrats d'hematies en el període perioperatori en pacients afectes de càncer de còlon no metastàtic, pot afectar de forma independent la seva supervivència a llarg termini. Aquesta relació vindria donada per una augment de la recidiva tumoral local i a distància.
- **Estudi 3.** Descriure l'impacte de la tècnica quirúrgica (cirurgia oberta , laparoscòpia i conversions) en la a supervivència dels pacients intervinguts de càncer de còlon a l'Hospital de Mataró, comparant els resultats d'aquells malalts on el procediment es va completar per via laparoscòpica amb els que van requerir laparotomia per l'extirpació de la peça quirúrgica.

ESTUDI 1

ESTUDI HISTOLÒGIC DEL GANGLI SENTINELLA COM A FACTOR PRONÒSTIC EN EL CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC.

INTRODUCCIÓ

Fins a un 30% dels pacients sense afectació neoplàsica dels ganglis limfàtics diagnosticada per tècniques convencionals, patiran una recidiva de la seva malaltia als 5 anys de seguiment. La tècnica del gangli sentinella aconsegueix identificar un número reduït de ganglis que es troben en la primera estació ganglionar i que per tant, permeten una estimació acurada de la possible afectació de tot el territori ganglionar per cèl·lules neoplàsiques. A més, al treballar amb un número inferior de ganglis, ens permet realitzar tècniques addicionals com la microsecció o la immunohistoquímica, amb un estalvi de recursos sanitaris i de personal del servei d'anatomia patològica.

L'aplicació sistemàtica de la tècnica del gangli sentinella en els pacients intervinguts de càncer de còlon no metastàtic, permetria identificar un grup reduït de ganglis amb les més altes probabilitats de patir afectació per cèl·lules neoplàsiques, identificant

fins hi tot les micrometàstasis i la presència de cèl·lules aïllades.

Aquest capítol descriu els elements quirúrgics i el procediments bàsics utilitzats en aquest estudi per a realitzar la tècnica d'identificació del gangli sentinella. A més, es descriuen els procediments histològics de microsecció i de immunohistoquímica utilitzats en aquesta tesi.

També inclou un resum del protocol emprat per realitzar el seguiment posterior a la cirurgia dels pacients amb neoplàsia de còlon sense disseminació a distància.

L'objectiu d'aquest estudi ha estat avaluar l'efecte d'aplicació de la tècnica del gangli sentinella en pacients amb càncer de còlon metastàtic al permetre identificar aquells amb més possibilitats de patir una recurrència o morir a causa de la progressió de la malaltia. Aquest anàlisi addicional dels ganglis limfàtics, ens podria ajudar a seleccionar els pacients més adequats per a la quimioteràpia adjuvant.

PACIENTS I MÈTODES

Disseny de l'estudi i població.

Es tracta d'un estudi observacional i prospectiu que inclou els pacients sotmesos a cirurgia curativa per al càncer de còlon no metastàtic i amb indicació per a realitzar la tècnica de gangli sentinella. Els criteris d'inclusió van ser: pacients amb tumors diagnosticats mitjançant colonoscòpia i confirmats per histologia, situats al còlon per sobre de la reflexió peritoneal, i sense sospita prèvia de malaltia a distància. Els criteris d'exclusió van ser: cirurgia urgent, tumors T4 (degut a les limitacions de la tècnica descrita en aquests pacients[137]), tumors per sota de la reflexió peritoneal, pacients amb malaltia disseminada en la cavitat peritoneal o metàstasis detectades durant el procediment quirúrgic.

Des de gener 2008 fins a setembre 2009 es van pre-seleccionar 105 pacients que complien els criteris d'inclusió preoperatoris. El 82% dels pacients van ser operats per laparoscòpia. En els malalts on es van detectar contraindicacions anestèsiques, es va procedir a través de laparotomia. Després de la cirurgia, 27 pacients van ser exclosos de l'estudi pel fet de

no complir amb tots els criteris de selecció (n=12) o a causa de dificultats tècniques que van fer impossible obtenir ganglis sentinelles (n=15). Finalment, 78 pacients van complir els criteris d'inclusió i van ser reclutats en l'estudi.

El seguiment del malalts es va realitzar d'acord amb el protocol d'oncologia de l'hospital fins a maig 2013 (mitjana de 49 mesos). L'estudi va ser aprovat pel comitè d'ètica institucional al juny de 2009 amb codi CEIC número 09/09.

Mètodes

Tècnica quirúrgica

Es va realitzar la resecció amb intenció curativa de les neoplàsies de còlon segons el protocol establert per la unitat de cirurgia colorectal (preferentment per laparoscòpia, amb lligadura a l'arrel vascular i excisió completa del mesenteri i del territori de drenatge limfàtic) [138]. En els casos de cirurgia laparoscòpica, es va realitzar el pneumoperitoneu amb agulla de Veress a la regió umbilical i es van col·locar entre quatre i cinc tròcars segons les característiques del pacient. El primer pas de la tècnica en tots els casos va ser una exploració de

la cavitat abdominal per descartar la presència de lesions metastàsiques

que haguessin passat inadvertides en l'estudi preoperatori.

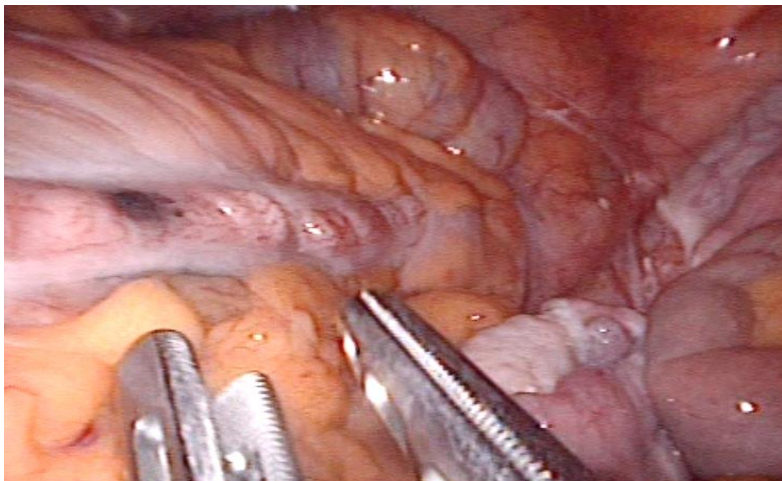


Figura 9. Localització de la neoplàsia per via laparoscòpica. **Font:** Elaboració pròpia.

Posteriorment, amb l'ajut d'una endo-clipadora es procedeix a la secció del paquet vascular corresponent al territori de drenatge limfàtic de la neoplàsia. Sempre es realitzà el més proximal possible de la base (artèria ileo-apendico-còlica en el cas de còlon

dret i mesentèrica inferior en el cas de còlon esquerra i sigma). Les estructures venoses poden ser seccionades amb sistema de coagulació bipolar controlada amb microprocessador (LigaSure™, Covidien, USA).



Figura 10. Secció a la base del pedicle vascular amb Endo-Clips. **Font:** Elaboració pròpia

Després de la mobilització de còlon i l'alliberament de les seves adherències peritoneals, es procedí a la secció de la llum colònica amb endograpadora (Endo GIA Covidien™, USA). En els pacients amb neoplàsies de còlon

dret, la secció es realitzà de forma extracorpòrea. En el còlon esquerra i sigma la secció es realitza intracorpòrea amb control laparoscòpic.

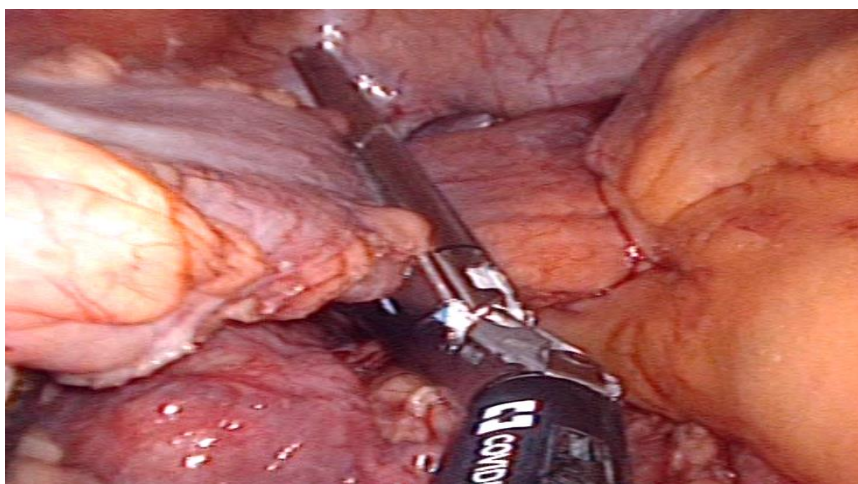


Figura 11. Secció distal del recte amb Endo GIA 60™ (Covidien). **Font:** Elaboració pròpia

Un cop extreta la peça quirúrgica, es reconstruirà el trànsit intestinal amb anastomosi extracorpòrea en el còlon dret i intracorpòrea en còlon esquerra i sigma.

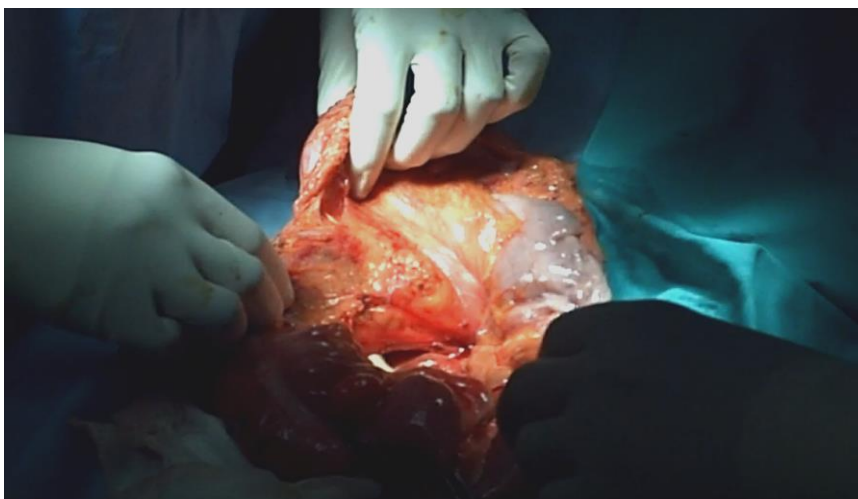


Figura 12. Extracció de peça quirúrgica per realitzar l'extirpació del tumor amb marges quirúrgics adients incloent el territori de drenatge ganglionar. **Font:** elaboració pròpia.

En els pacients on es realitzava la tècnica per laparotomia, només va existir

un canvi en la via d'abordatge. La sistemàtica de la tècnica quirúrgica va

ser la mateixa descrita prèviament. En els dos tipus de procediments, després de l'extracció de la peça quirúrgica on s' inclou la tumoració, un equip de cirurgians continuà amb la intervenció com estava previst, i un altre equip de cirurgians preparà un camp quirúrgic independent per iniciar l'estudi del gangli sentinella.

Tècnica del Gangli Sentinella
ex vivo.

Es va seguir la tècnica descrita per Wong l'any 2001 [89].

En la peça de còlon extirpada, s' injectaren entre 1 i 2 cc de Blau de Metilè (0.1 cc /cm² de teixit tumoral) a la submucosa de la regió tumoral. Posteriorment es procedí a realitzar un suau massatge sobre la tumoració durant 5 minuts [90].



Figura 13. Neoplàsia de sigma. Tinció amb infiltració a nivell de la submucosa amb blau de Metilè. **Font:** elaboració pròpia.

Immediatament s'aprecia l'existència d'un trajecte limfàtic mesentèric amb captació d'un o diversos ganglis. Es van extreure un màxim de tres ganglis per peça quirúrgica, escollint en cas

de dubte, els més propers a la tumoració. Aquest ganglis s'enviaren a part de la peça quirúrgica al servei d'anatomia patològica pel seu estudi posterior.

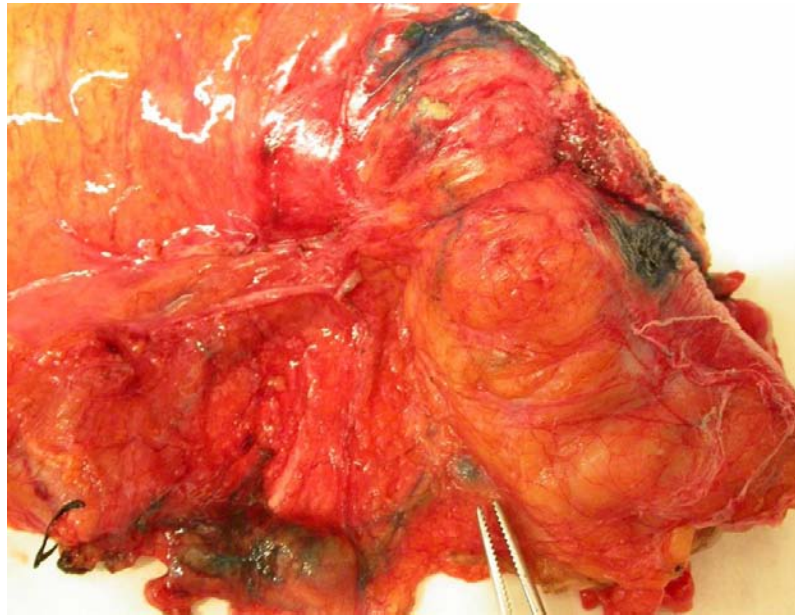


Figura 14. Després de realitzar massatge sobre la tumoració, apareix un canalicle limfàtic tenyit, assenyalat per la pinça de dissecció. **Font:** elaboració pròpia.

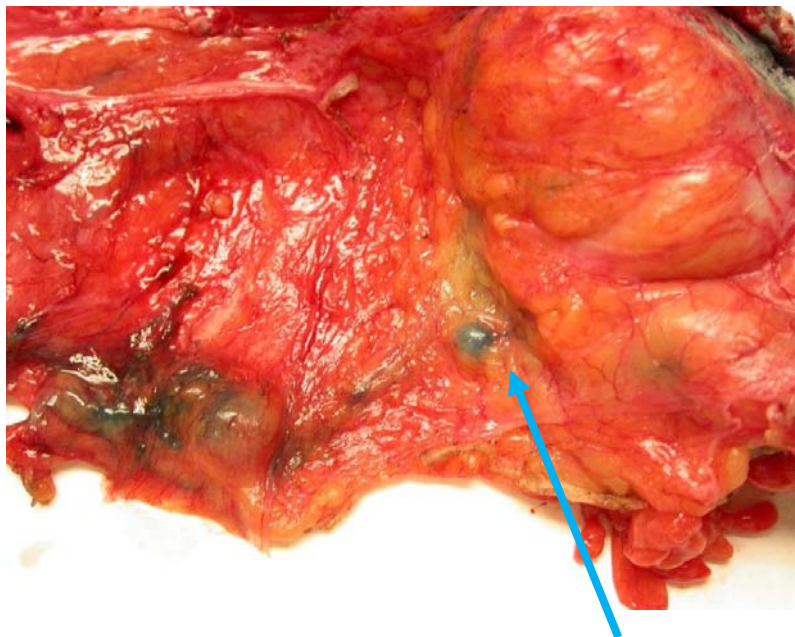


Figura 15. Identificació d'un Gangli Sentinella amb tinció tanmateix del seu canalicle de drenatge. **Font:** elaboració pròpia.

Estudi Anatomopatològic

La tècnica emprada en el nostre estudi és la tècnica *ex vivo* que es va aplicar amb èxit a un total de 78 pacients. Les mostres es van remetre al servei d'anatomia patològica perquè es po-

gués realitzar, en el cas que fora necessari, la microsecció dels ganglis i l'aplicació de tinció immunohistoquímica amb Citoqueratina 20 per identificar implants tumorals. El o els ganglis sentinella es van enviar al Servei

d'Anatomia Patològica de forma diferenciada de la peça quirúrgica.

El fixador que s'utilitzà pel ganglis dissecats va ser és el formaldehid al 4% tamponat a pH 7,4 (formalina) .

El període ideal de fixació no va ser inferior a 24 hores.

Estudi convencional del
Ganglis Limfàtics no
sentinelles

Els ganglis limfàtics del mesenteri no sentinelles, s'extreuen per tècnics de laboratori del servei d'anatomia patològica de l'Hospital de Mataró amb procediments de dissecció habituals.

Es seccionen els ganglis pel seu eix longitudinal i es fan seccions d' aproximadament 2 mm depenent de la mida. Posteriorment es realitza inclusió en bloc de parafina de no més de 2 seccions de gangli.

La tècnica d'estudi emprada va ser la següent:

1. Inclusió en parafina de les mostres histològiques per a la seva posterior secció.
2. Desparafinació i hidratació de la làmina obtinguda.
3. Tinció amb Hematoxilina Harris durant 2 minuts
4. Rentat de la mostra amb aigua corrent
5. Diferenciació en alcohol-àcid al 1% entre 5-30 segons, controlant l'aspecte de la preparació al microscopi òptic
6. Afegir agent enblavidor durant 5 minuts i rentar posteriorment.
7. Aplicar eosina alcohòlica entre 20-60 segons
8. Rentar i diferenciar amb etanol 70% fins obtenir la coloració desitjada
9. Finalment, deshidratar, aclarir i preparar per exploració al microscopi.

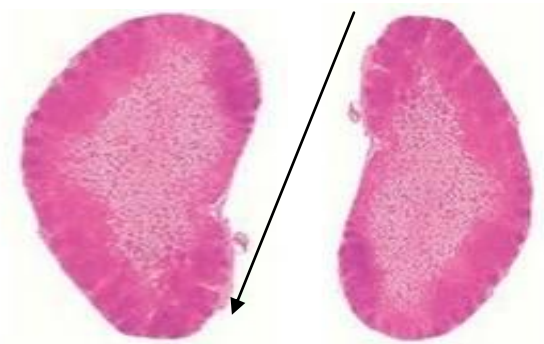


Figura 16. Gangli limfàtic íntegre, seccionat pel seu eix longitudinal. No s'aprecia afectació neoplàsica en el teixit analitzat H-E x 20. **Font:** Elaboració pròpia.

Si en algun gangli mesentèric es detectà la presència de malaltia neoplàsica, el gangli o ganglis sentinelles s'estudien de forma convencional, ja que el malalt s'inclourà en el grup N1 i el resultat obtingut en els ganglis sentinelles no modificaria en cap cas el seu estadiatge.

Si no es detecta malaltia neoplàsica en els ganglis mesentèrics per la tècnica de hematoxilina/eosina, es procedirà a aplicar microsecció i immunohistoquímica del gangli sentinella.

Estudi per Microsecció i Immunohistoquímica dels Ganglis Limfàtics Sentinelles

La tècnica d'estudi emprada va ser la següent:

1. Fixació de la peça amb parafina durant un mínim de 24h i secció de la mateixa amb mi-

cròtom a làmines de 3 micres de gruix a intervals de 250 micres.

2. Preparacions amb 3 seccions consecutives de 3 micres de gruix (2 amb tinció d'H&E i 1 per immunohistoquímica —Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20, Clone K_s20.8, Dako Denmark A/S—..) (H&E, H&E, CK 20), a 3 nivells diferents de cada bloc, amb intervals de 250 micres. (És a dir, per cada bloc de parafina surten 9 preparacions histològiques)
3. Aclarir amb solució tampó
4. Aplicar 150 µl de Envision Flex Peroxidase-Blocking Reagent (20012418 2015-07-31 Dako Denmark A/S)
5. Aclarir amb solució tampó

6. Aplicar 150 µl de FLEX Mono-clonal Mouse Anti-Human Cy-tokeratin 20, Clone K_s20.8, Dako Denmark A/S)
7. Aclarir amb solució tampó
8. Aplicar 150 µl de Envision Flex FLEX /HRP (20012615 2015-07-31 Dako Denmark A/S)
9. Aclarir amb solució tampó
10. Aplicar 300 µl de Envision FLEX Working Solution (20012467 2015-08-31 Dako Denmark A/S)
11. Aclarir amb solució tampó
12. Aplicar 150 µl de Envision Flex Hematoxylin (20012484 2015-06-30 Dako Denmark A/S)

13. Aclarir amb solució tampó

14. Aclarir amb aigua corrent

Mètode general immunohistoquímic , descrit per Hsu *et al.*,1981 [139].

Definicions

En relació amb les troballes durant l'estudi anatomo-patològic del ganglis limfàtics, podem establir una sèrie de definicions:¹⁴⁰

- Es defineix com a Gangli negatiu, aquell on no es detecta cap tipus de presència de cèl·lules neoplàsiques, independentment de la tècnica histològica emprada.



Figura 17. Secció longitudinal de gangli limfàtic sense afectació neoplàsica. H-E x 20. **Font:** Elaboració pròpia.

- Es defineix com a Gangli positiu, aquell on es detecta la presència de cèl·lules neoplàsiques, independent de la tècnica histològica emprada i en la gradació que s'especifica a continuació:

Es defineix com a **Macrometàstasi** la presència de cúmuls de cèl·lules tumorals majors de 2 mm

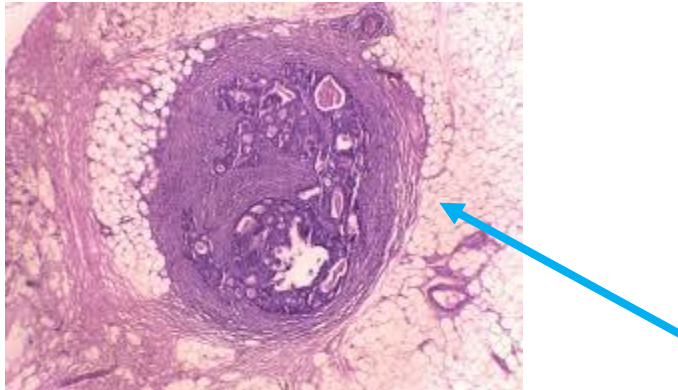


Figura 18. Gangli limfàtic amb presentació de macrometàstasi. H-E x 40. **Font:** elaboració pròpia.

Es defineix com a **Micrometàstasi** la presència de cúmuls de cèl·lules tumorals entre 2 mm i 0.2mm

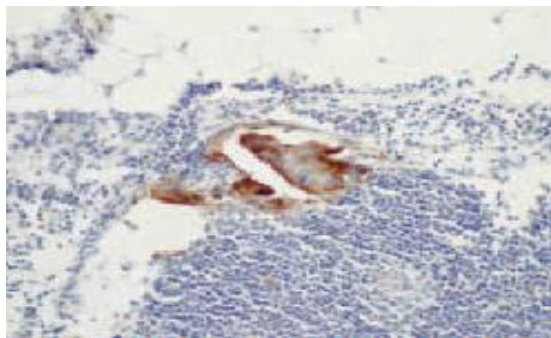


Figura 19. Gangli limfàtic amb micrometàstasi menor de 2mm. CK-20 x 100. **Font:** Elaboració pròpia.

Es defineix com a **Cúmuls Cel·lulars Metastàsics** aïllats la presència de cúmuls de cèl·lules tumorals menors de 0.2 mm sense contacte amb la paret dels sinus i sense reacció estromal al voltant.

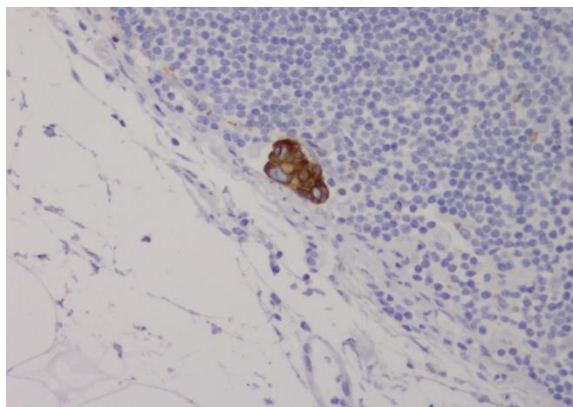


Figura 20. Gangli limfàtic amb un clúster de cèl·lules neoplàsiques menor de 2mm. CK-20 x 200. **Font:** Elaboració pròpia.

Es defineix com **Cèl·lules Aïllades** la detecció de cèl·lules neoplàsiques sense formar agrupacions.

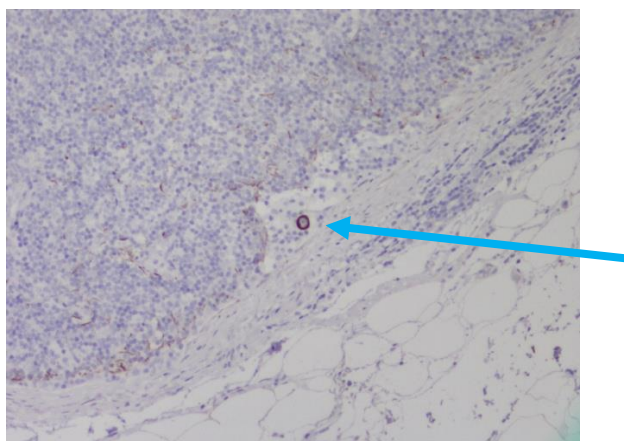


Figura 21. Gangli limfàtic amb presència de cèl·lules aïllades marcades amb la fletxa . CK-20 x 200. **Font:** Elaboració pròpia.

Classificació dels pacients

En relació als resultats de l' estudi anatomopatològic realitzat i d'acord amb la "7a American Joint Committee on Cancer / Union Internationale Contre le Cancer (AJCC / UICC) TNM classification" [141], i amb la Classificació de Hermanek del 1999 [140], els

malalts es van incloure dins la següent classificació:

GRUP N0: Pacients amb el següent estudi histològic

- **pN0:** No detecció de ganglis limfàtics metastàsics per mètodes convencionals
- **pN0 (i-):** No detecció de ganglis limfàtics metastàsics per

mètodes convencionals. No detecció de cèl·lules aïllades ni cúmuls per immunohistoquímica

GRUP N1: Pacients amb el següent estudi histològic

- **pN1:** 1-3 Ganglis amb macrometàstasis
- **pN2:** >4 Ganglis amb macrometàstasis

- **pN0 (i+):** No detecció de ganglis limfàtics metastàsics per mètodes convencionals. Detecció de cèl·lules aïllades metastàtiques o cúmuls per immunohistoquímica.
- **pN1 (mi):** Detecció de micro-metàstasis per immunohistoquímica.

GRUP UP-STAGE:

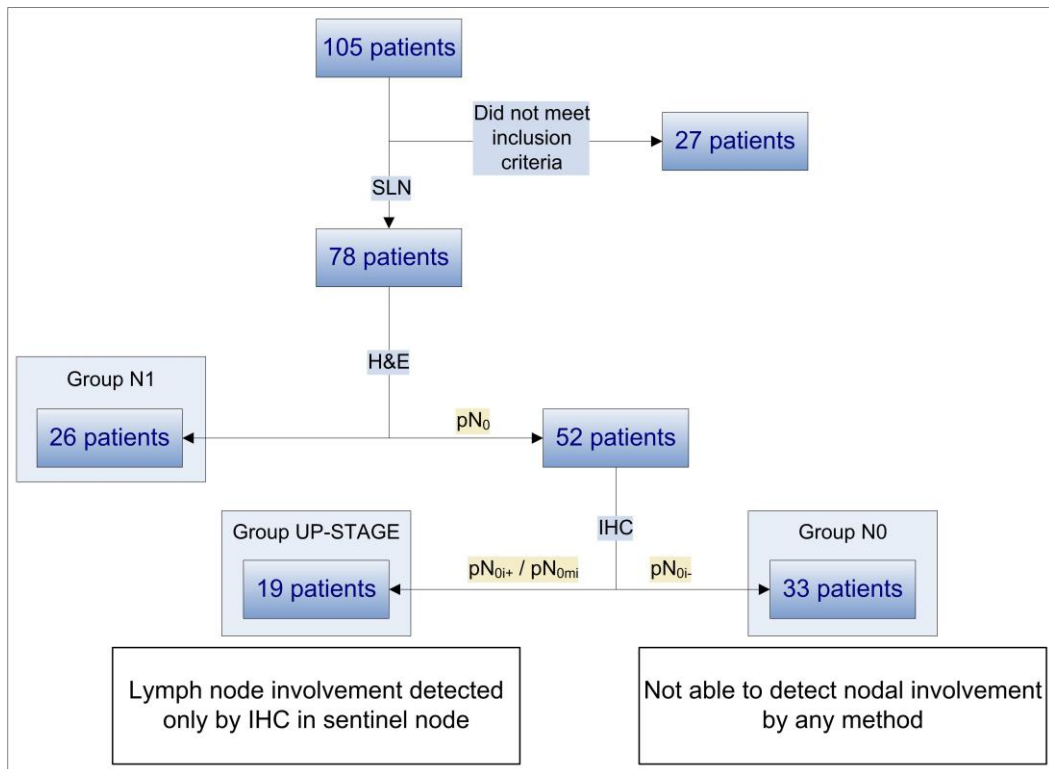


Figura 22. Classificació dels pacients en relació al seu grau d'afectació ganglionar. **Font:** Elaboració pròpia.

SLN (Tècnica del gangli sentinella) H&E (Tècnica convencional amb Hematoxilina-Eosina); IHC (immunohistoquímica i multisecció).

Definicions en relació als resultats obtinguts per la tècnica del gangli sentinella *Ex vivo* [96].

- **Falsos positius:** Per definició, els hem considerat com a zero.
- **Falsos negatius:** Aquells casos en que el gangli sentinella obtingut no presenta infiltració neoplàsica detectada per qualsevol tècnica, però si que existeix afectació tumoral en un altre gangli dissecat.
- **Taxa de detecció:** Número de procediments on es detecta com a mínim un gangli sentinella dividit pel número total de procediments.
- **Sensibilitat del procediment:** Nombre de ganglis sentinelles positius dividit per aquesta xifra més els falsos negatius. (veritables positius / [veritable positius + falsos negatius])

Seguiment clínic i radiològic dels pacients amb neoplàsia de còlon no metastàsica a l'Hospital de Mataró

Dins del primer mes del període postoperatori, es valorà per un equip multidisciplinari la necessitat de rea-

litzar quimioteràpia adjuvant en cada cas.

Els criteris que es van seguir per indicar adjuvència van ser:

- Pacients pN1 o pN2
- Pacients amb neoplàsies T2 o T3 i amb factors de mal pronòstic com elevació preparatòria del CEA, invasió vascular, perineural o angiolímfàtica, cèl·lules en anell de segell, inestabilitat dels microsatèl·lits d'alt grau, fibrosis peritumoral (desmoplàsia) o patir focus de diferenciació neuroendocrina

Els criteris que es van seguir per realitzar només seguiment sense adjuvència van ser:

- Pacients pN0
- Pacients amb neoplàsies T1
- Pacients amb neoplàsies T2 o T3 sense els factors de mal pronòstic prèviament descrits.
- Pacients amb un status performance baix que contraindiqués la quimioteràpia
- Pacients amb detecció de cèl·lules aïllades metastàsiques o cúmuls per immunohisto-

química en els ganglis sentinel·les pN0(i+)

- Pacients amb detecció de micrometàstasis pN1(mi)

Donada la controvèrsia encara existent a l'inici de l'estudi en relació al valor pronòstic de les micrometastasis, es va optar per una actitud conservadora en aquest sentit, no indicant en aquests casos teràpia adjuvant i només realitzant un seguiment exhaustiu.

El protocol de seguiment dels pacients es va perllongar com a mínim durant cinc anys després de la data de la intervenció quirúrgica.

Durant el primer any el seguiment era com a mínim cada 3 mesos i els anys posteriors cada 6 mesos. Si es va establir indicació de realitzar quimioteràpia adjuvant, els pacients van ser controlats com a mínim un cop al mes durant els primers sis mesos.

El seguiment va consistir en anamnesi i exploració física en cada visita, analítica completa amb CEA cada 6 mesos, Ecografia abdominal i TAC Toraco-Abdominal de forma alterna cada any i Fibrocolonoscòpia cada dos anys.

Els controls mèdics es van realitzar pel servei d'oncologia mèdica i pel servei de cirurgia. L'aparició de qualsevol signe clínic o radiològic que fes pensar en progressió de la malaltia neoplàsica, va ser anotada a la història clínica comuna i posteriorment les dades obtingudes, van ser registrades de forma prospectiva en una base de dades tipus ACCES, controlada pel servei de cirurgia.

PRINCIPALS VARIABLES ESTUDIADAES.

Les principals variables analitzades inclouen la supervivència global i la lliure de malaltia als 5 anys. Els pacients van ser seguits d'acord amb la pràctica clínica habitual fins al mes de maig del 2013. Altres factors pronòstics estudiats van ser: la comorbiditat en el moment de la cirurgia (ASA i l'índex de Charlson), transfusió de sang dins dels 3 dies de la cirurgia, les complicacions postoperatòries greus (fuites anastomòtiques), l'estadificació del tumor T (T1, T2, T3) i altres factors pronòstics histològics (com la invasió venosa, perineural i angio-limfàtica) [142]. L'administració de quimioteràpia adjuvant en el període postoperatòri també va ser registrada.

ANÀLISI ESTADÍSTIC

Les variables contínues van ser descrites per les mitges i les desviacions estàndard i les variables categòriques, en percentatges. La prova de Chi quadrat o la prova exacta de Fisher van ser emprades per comparar les variables categòriques entre dos dels tres grups. Es va utilitzar la prova de Kruskal-Wallis per comparar les variables numèriques entre els tres grups de l'estudi i la T-test o la prova de Mann Whitney es van utilitzar per comparar les variables numèriques entre els dos grups (*up-stage* vs N0).

Taules de supervivència han estat calculades utilitzant el mètode de Kaplan-Meier i les corbes de supervivència es van comparar entre grups mitjançant la prova de *log rank*. Per ajustar l'efecte de la tècnica del gangli sentinella en la supervivència per a altres factors pronòstics possibles (com ara l'edat, sexe, comorbiditats, gravetat de la malaltia, etc.) es va realitzar una anàlisi de regressió de Cox multivariat. Els valors de $p < 0,05$ van ser considerats estadísticament significatius.

ESTUDI 2

EFFECTE DE LA TRANSFUSIÓ DE CONCENTRATS D'HEMATIES DURANT EL PERIODE PERIOPERATORI EN LA SUPERVIVÈNCIA DELS PACIENTS AMB CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC.

INTRODUCCIÓ

Les possibles conseqüències de la transfusió d'hematies en les taxes de supervivència general i recurrència dels malalts amb càncer de còlon segueix sent avui en dia motiu de controvèrsia. Alguns autors sostenen que l'administració d'aquest concentrats provocaria trastorns immunològics que afectarien la resposta de l'organisme en front la neoplàsia i en última instància, es traduiria en una pitjor evolució a llarg termini [111]. No obstant això, publicacions recents indiquen que la transfusió de sang sempre està associada a pacients amb anèmia preoperatòria, alts índex de morbiditat, neoplàsies amb més infiltració local i majors dificultats quirúrgiques i per tant, no seria una causa independent d'una pitjor supervivència, i si un factor circumstancial associat als anteriors [143]. L'objectiu de aquest estudi és avaluar l'efecte de la transfusió de sang al·logènica durant el període perioperatori en la supervivència i recurrència a llarg termini

dels pacients operats de càncer de còlon no metastàtic en la nostra institució. També vàrem analitzar l'efecte de les variables associades a la transfusió que podrien haver jugat algun paper en l'aparició de recidives i la supervivència global d'aquests pacients.

PACIENTS I MÈTODES

Es va realitzar una anàlisi retrospectiva d'una base de dades recollida de forma prospectiva dels pacients intervinguts per una resecció electiva d'un càncer de còlon no metastàtic. L'estudi es va iniciar al desembre del 2002, en el nostre hospital universitari de 400 llits amb una població d'influència de 264,021 habitants. L'abordatge laparoscòpic va ser el preferit si no es van detectar contraindicacions anestèsiques, a excepció dels dos primer anys on es va combinar laparoscòpia amb cirurgia oberta. L'estudi va incloure a pacients electius operats durant un període de 5 anys entre desembre de 2002 i gener de 2007. La mitjana de seguiment va ser de 100

mesos (rang 75-125 mesos). El seguiment dels pacients va durar almenys cinc anys després de la data de la cirurgia. Durant el primer any, els pacients van ser examinats com a mínim cada tres mesos i cada 6 mesos en els anys següents. Si va existir criteris per administrar quimioteràpia adjuvant, els pacients van ser controlats almenys una vegada al mes durant els primers sis mesos. Els controls clínics van consistir en l'anamnesi i l'examen físic en cada visita, completats amb els nivells de CEA d'anàlisi cada sis mesos, ecografia abdominal i la TC abdominal toràcica alternativament cada any i colonoscòpia cada dos anys.

Els criteris d'exclusió van ser la presència de malaltia disseminada en la cavitat peritoneal, les metàstasis hepàtiques no detectades en estudis previs o tumors per sota de la flexió peritoneal.

DISSENY

Les principals variables de l'estudi van ser la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia avaluada en relació amb la transfusió perioperatòria (72 h. abans o després de l'operació). La supervivència global va ser

definida en aquest estudi com el període durant el qual el pacient està viu després de la cirurgia curativa. La supervivència lliure de malaltia es defineix com el període després de la cirurgia curativa durant el qual no es va detectar presència de malaltia neoplàsica per qualsevol mètode diagnòstic.

Les comorbiditats van ser avaluades utilitzant l'índex de Charlson [144] i l'ASA[145].

Les característiques histològiques del tumor van ser classificades seguint consensos anteriors [146]. Els pacients van ser dividits de la mateixa manera que en estudis previs [120], en grup A (no havien rebut cap unitat de sang), Grup B (una o dues unitats de sang) i Grup C (transfusió de 3 o més unitats de sang). Les indicacions per a la transfusió de sang es van realitzar per l'anestesiòleg durant el temps operator i pel cirurgià durant els altres períodes. La decisió va ser presa d'acord amb el nivell d'hemoglobina (indicat si menys de 8 g/dl), la quantitat de pèrdua de sang durant la cirurgia i la prevalença i severitat de les comorbiditats. Es va tenir una especial atenció en pacients amb antecedents de cardiopatia isquèmica, indicant en

aquests casos la transfusió quan l'hemoglobina es va detectar per sota de 10 g / dL. En pacients amb patologia cardíaca estable, la transfusió es va indicar si els nivells d'hemoglobina es van detectar entre 8 i 10 g / dL [147].

ANÀLISI ESTADÍSTIC

Per a l'anàlisi estadística, es van analitzar les variables contínues mitjançant la prova de khi-quadrat. Les corbes de supervivència es van realitzar utilitzant el mètode de Kaplan-Meier i es van comparar amb la prova de *log-rank*. Es va realitzar una anàlisi univa-

riant dels factors relacionats amb la supervivència. Es van incloure sexe, edat, índex de Charlson comorbiditat, índex de massa corporal, la classificació ASA, els nivells de CEA, l'estadi T, l'estadi de N, la invasió venosa o limfàtica, els nivells d'hemoglobina preoperatoris, i la transfusió de sang perioperatòria. Qualsevol variable que arribés a la significació en l'anàlisi univariada es va utilitzar per a l'anàlisi multivariat mitjançant un model de Cox. Per aquest motiu, la transfusió de sang, l'edat, l'índex de Charlson, la invasió limfàtica, l'estadi T i l'estadi N es van incloure en l'anàlisi multivariat.

ESTUDI 3

SUPERVIVÈNCIA A LLARG TERMINI DELS PACIENTS INTERVINGUTS PER PATIR UN CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC. ESTUDI PROSPECTIU COMPARANT L'ABORDATGE LAPAROSCÒPIC I LA LAPAROTOMIA

INTRODUCCIÓ

La cirurgia laparoscòpica aporta uns avantatges evidents respecte la cirurgia convencional, en especial durant el període postoperatori immediat. Entre aquests han estat descrits l'atenuació de la disfunció d'orgànica després de l'agressió quirúrgica, una millor recuperació de la funció respiratòria, un menor temps d'ili postoperatori i una menor estada hospitalària. No hi ha consens en afirmar que aquests millors resultats a curt termini puguin condicionar una millor supervivència a llarg termini. Només algunes publicacions han demostrat una millor supervivència en pacients operats per laparoscòpia en comparació amb la laparotomia.

L'objectiu d'aquest estudi és avaluar la supervivència a llarg termini i la supervivència lliure de malaltia dels pacients amb càncer de còlon no metastàtic operats en els primers anys de les tècniques laparoscòpiques al nostre hospital universitari.

Es va prestar especial atenció a analitzar si l'abordatge laparoscòpic es podria considerar com a factor pronòstic en els pacients operats al nostre centre. Per aquest motiu es va incidir de forma especial en l'anàlisi de la història natural de la malaltia entre els pacients operats per laparoscòpia, per laparotomia i els que van requerir conversió d'un procediment a l'altre.

MÈTODES

Població i disseny

Es va realitzar una anàlisi retrospectiva d'una base de dades recollida de forma prospectiva dels pacients intervinguts per una resecció d'un càncer de còlon no metastàtic. L'estudi va incloure a pacients electius operats entre desembre 2002 a gener 2007. Es va realitzar una segona anàlisi exclouent els dos primers anys de l'estudi, per minimitzar el biaix de selecció existent en aquest període inicial de la nostra corba d'aprenentatge. La cirurgia d'emergència, la presència

de malaltia disseminada en la cavitat peritoneal, les metàstasis hepàtiques no detectades en estudis previs i els tumors per sota de la reflexió peritoneal es van considerar com factors per excloure els pacients.

Grups de l'estudi

Els pacients van ser dividits en grup A (laparoscòpia), Grup B (laparotomia) i Grup C (conversió de laparoscòpia a laparotomia).

La indicació per dur a terme un abordatge quirúrgic particular va variar durant el període d'estudi. Entre desembre de 2002 i desembre de 2004), dos cirurgians del nostre equip van intervenir pacients seleccionats per l'abordatge laparoscòpic, intentant evitar dificultats tècniques (preferentment dones amb IMC baix i tumors menors de 5 cm). Els altres dos cirurgians de la unitat van realitzar intervencions únicament per laparotomia. Des de gener de 2005 a gener de 2007, la laparoscòpia es va convertir en la tècnica d'elecció i la laparotomia es realitzà només si es va detectar una cirurgia abdominal prèvia o es va establir una contraindicació anestèsica [148].

Finalment es van incloure 177 pacients consecutius en l'estudi.

Variables de l'estudi

Les principals variables de l'estudi analitzades, inclouen la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia. Els pacients van ser seguits d'acord amb la pràctica clínica habitual fins a gener de 2012. La mitjana de seguiment va ser de 84 mesos (rang de 60-108 mesos).

Altres possibles factors pronòstics associats van ser analitzats com ara la comorbiditat en el moment de la cirurgia (ASA i índex de Charlson), IMC, nivells de CEA, la transfusió durant els 3 dies de la cirurgia, les complicacions postoperatòries greus (fuites anastomòtiques), l'estadificació del tumor T (T1 T2, T3, T4) l'estadificació N (N0, N1) i factors pronòstics patològics (invasió venosa, perineural i angiolímfatica).

Anàlisi estadístic

Per a l'anàlisi estadística, es van analitzar les variables contínues mitjançant la prova de chi-quadrat. Les corbes de supervivència es van realitzar utilitzant el mètode de Kaplan-Meier i es van comparar grà-

cies al log-rank test. Es va realitzar una anàlisi univariant dels factors relacionats amb la supervivència. Es van incloure sexe, edat, índex de morbiditat de Charlson, índex de massa corporal, la classificació ASA, els nivells de CEA, l'estat T, l'estat de N, la invasió venosa o limfàtica, els nivells d'hemoglobina preoperatoris, i la transfusió de sang perioperatòria.

Qualsevol variable que arribés a la significació estadística en l'anàlisi univariat es va utilitzar per a l'anàlisi multivariat mitjançant el model de Cox. Per tant, la transfusió de sang, l'edat, índex de Charlson, la invasió limfàtica, l'estadi T , l'estadi N , i la via d'abordatge es van incloure en l'anàlisi multivariat.

RESULTATS

RESULTATS ESTUDI 1. ESTUDI HISTOLÒGIC DEL GANGLI SENTINELLA COM A FACTOR PRONÒSTIC EN EL CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC

CARACTERÍSTIQUES DE LA MOSTRA.

Inicialment es van seleccionar 105 pacients, 12 d'aquests van ser exclosos causa de la detecció intraoperatòria d'un criteri d'exclusió: 6 per infiltració local d'altres òrgans, 2 per una localització del tumor per sota del nivell de la reflexió peritoneal, 3 per la detecció intraoperatòria de malaltia a distància i 1 a causa d'una mort postoperatoria immediata a causa de complicacions quirúrgiques. Dels 93 pacients restants, la tècnica de gangli sentinella no va ser efectiva en 15 casos per dificultats tècniques impedien la difusió del contrast. La taxa de detecció del gangli sentinella va ser, per tant, del 83,9%. Finalment, 78 pacients van ser inclosos en l'estudi, 42 dones i 36 homes, amb una edat mitja de 69,7 anys (\pm 11,8 anys). Van ser identificats una mitja de 24,1 (\pm 9,2) ganglis limfàtics. El seguiment mitjà per pacient va ser de 42,5 (\pm 14,2) mesos. La sensibilitat de la tècnica (nombre de vegades que les cèl·lules tumorals es van detectar no-

més en els ganglis sentinella) va ser del 65%.

Grups de l'estudi.

Després de l'estudi convencional dels ganglis limfàtics, 26 pacients (33,3%) van mostrar infiltració neoplàsica del gangli i van ser classificats com a N1, 19 pacients (24,3%) van ser considerats negatius per tècniques convencionals, però positius al analitzar els seus ganglis sentinelles i es van classificar com Up-Stage, i 33 pacients (42,3 %) van ser considerats negatius per a les dues tècniques i van ser classificats com N0 (veure **Taula 4**). Entre els pacients sense afectació neoplàsica dels ganglis per tècniques convencionals, el 36,5% (19/52) van ser reestadiats gràcies a la tècnica de gangli sentinella. (vegeu **Figura 22**)

La **Taula 4** mostra les principals característiques clíniques i histopatològiques de la mostra general i compara aquestes característiques entre els tres grups d'estudi. Índex de Charlson va ser major en el grup N1, però no

es van observar diferències entre els grups en relació a l'edat, risc ASA i el nombre de ganglis dissecats. La invasió angiolímfàtica i venosa també va ser més freqüent en el grup N1. La quimioteràpia es va administrar en 5

pacients (26,3%) del grup Up-Stage i 4 pacients (12,1%) en el grup N0 ($p=0,260$). Les taxes de dehiscència de l'anastomosi, i la transfusió de sang no van diferir entre els grups

Taula 4. Descripció de les principals característiques clíniques, histològiques i supervivència de cada grup de pacients. **Font:** Elaboració pròpia

	Overall sample N=78	N0 N=33	Up-Stage N=19	N1 N=26	P
Age (years)	69.7 (11.8)	67.6 (11.6)	72.7 (13.6)	70.3 (10.6)	0.191
Charlson index	3.2 (1.2)	3.2 (1.2)	2.6 (0.7)	3.7 (1.4)	0.018
ASA risk	2.3 (0.71)	2.4 (0.7)	2.1 (0.5)	2.5 (0.9)	0.131
Nº dissected nodes	24.1 (9.2)	22.1 (9.8)	26.3 (9.9)	25.2 (7.6)	0.175
Follow-up (months)	42.5 (14.2)	44.2 (12.5)	44.1 (12.7)	39.2 (16.9)	0.428
Tumor localization					
• Right	38 (50%)	13 (39.4%)	12 (63.2%)	14 (53.8%)	0.220
• Left	38 (50%)	20 (60.6%)	7 (36.8%)	11 (46.2%)	
T stage					
• Tis	5 (6.4%)	4 (12.1%)	0	1 (3.8%)	0.138
• T1	4 (5.1%)	3 (9.1%)	0	1 (3.8%)	
• T2	21 (26.9%)	11 (33.3%)	6 (31.6%)	4 (15.4%)	
• T3	48 (61.5%)	15 (45.5%)	13 (68.4%)	20 (76.9%)	
N stage					
• N0	52 (66.7%)	33 (100%)	19 (100%)	0	<0.001
• N1	18 (23.1%)	0	0	18 (69.2%)	
• N2	8 (10.3%)	0	0	8 (30.8%)	
Angiolymphatic invasion	25 (32.1%)	7 (21.2%)	4 (21.1%)	14 (53.8%)	0.014
Venous invasion	8 (10.3%)	1 (3.0%)	0	7 (26.9%)	0.003
Anastomotic leakage	6 (7.7%)	2 (6.1%)	1 (5.8%)	3 (11.5%)	0.663
Adjuvant chemotherapy	25 (32.1%)	4 (12.1%)	5 (26.3%)	16 (61.5%)	<0.001
5 year-Death					
Yes	16 (20.5%)	4 (12.1%)	3 (15.8%)	9 (34.6%)	0.041
No	62 (79.5%)	29 (87.9%)	16 (84.2%)	17 (65.4%)	
5 year-Disease free survival					
	65 (83.3%)	31 (90.9%)	16 (89.5%)	18 (69.2%)	0.071

Supervivència global i supervivència lliure de malaltia.

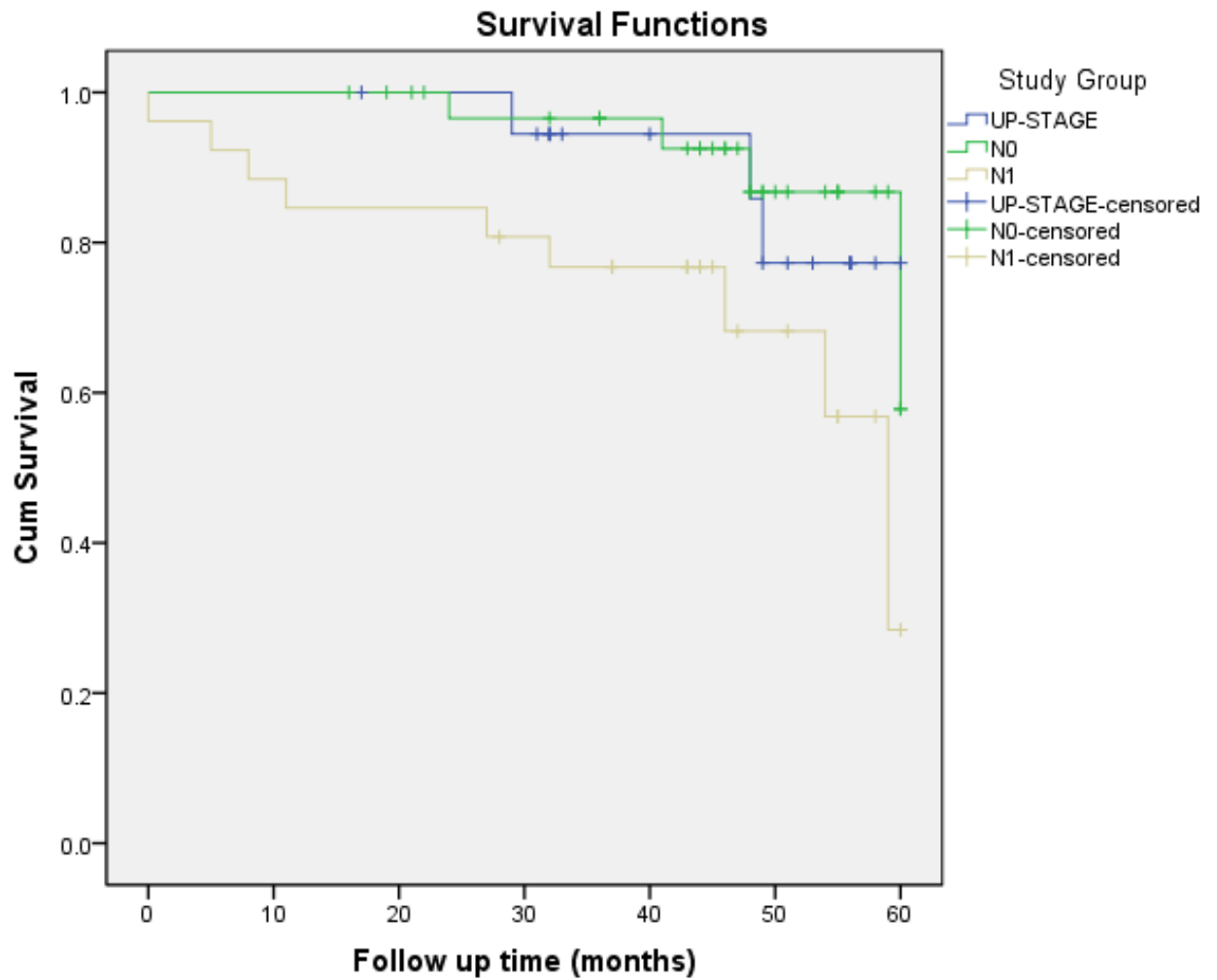
Es van detectar diferències significatives entre els grups N0 i N1 en relació a la supervivència global als 5 anys, essent del 87,9% per N0 i 65,4% per a N1 ($p = 0,022$); i que gairebé van arribar significació estadística en relació amb la supervivència lliure de malaltia als 5 anys objectivant-se del 90,9% per N0 i 69,9% per a N1 ($p = 0,071$). Per contra, no es va trobar cap diferència entre l'Up-stage i els grups N0 en la supervivència lliure de malaltia als 5 anys (89,5% vs 90,9%, $p = 0,332$) i la supervivència global als 5 anys (84,2% vs 87,9%, $p = 0,744$).

Els pacients amb invasió angiolimfàtica o venosa van mostrar una pitjor supervivència global a 5 anys, amb diferències molt properes a la significació ($p = 0,057$), però no es van observar diferències pel que fa a la supervivència lliure de malaltia ($p = 0,520$).

Altres factors com la dehiscència de l'anastomosi, la teràpia adjuvant, la classificació ASA o l'índex de morbiditat de Charlson no van influir en la supervivència a llarg termini.

A: Supervivència global comparant N0, Up-stage i N1

Overall Comparisons			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	6.390	2	.041



B: Supervivència lliure de malaltia comparant N0, Up-stage i N1

Overall Comparisons			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3.222	2	.200

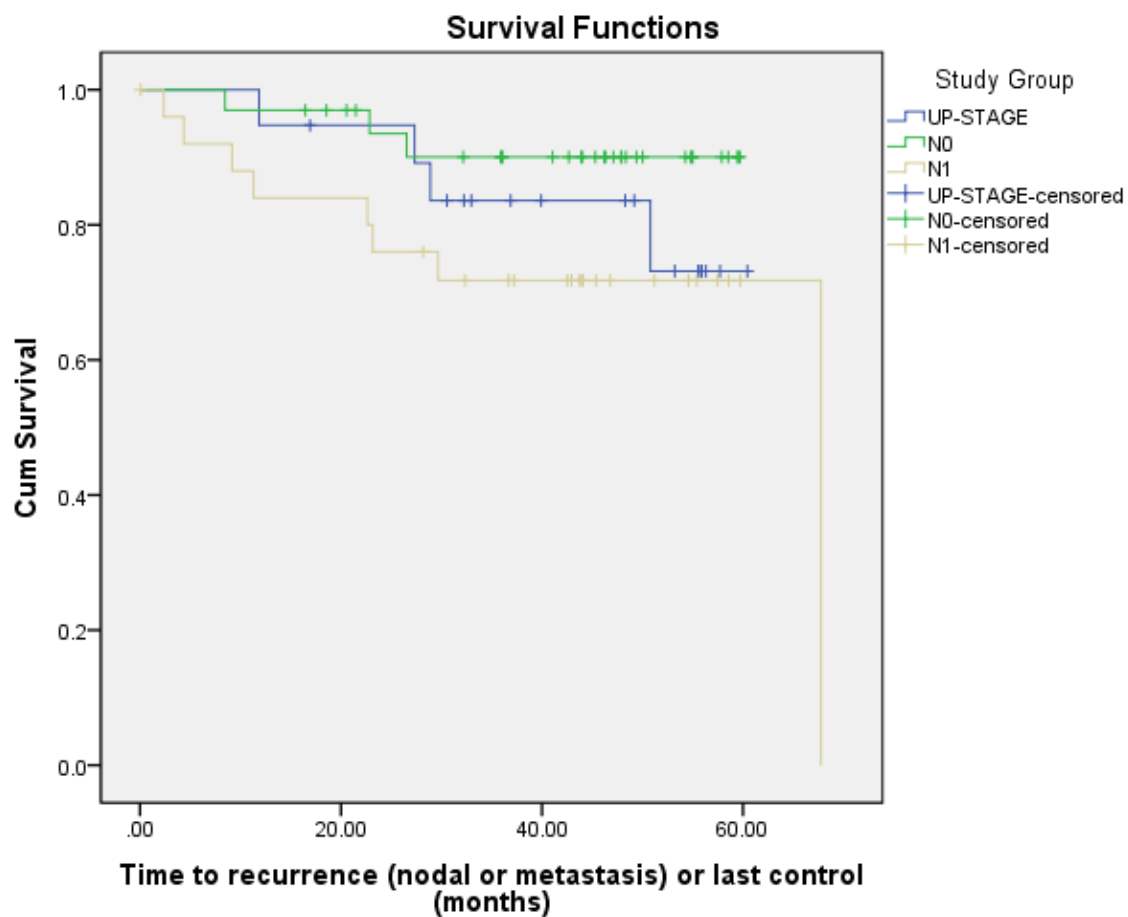


Figura 23. Corbes de supervivència tipus Kaplan-Meier comparant els grups.

Taula 5. Estudi bivariant i multivariant amb regressió de COX entre els factors amb significació estadística per a la supervivència global. **Font:** Elaboració pròpia

	Bivariate		Multivariate	
	HR*	95%CI	HR	95%CI
Charlson	1.28	0.88-1.86	1.09	0.73-1.64
Angiolymphatic or venous invasion	2.53	0.93-6.88	1.47	0.48-4.55
T3 (vs T1-T2)	2.08	0.66-6.53	1.47	0.44-4.87
Up-Stage (vs N0)	1.33	0.29-5.99	1.27	0.27-5.99
N1 (vs N0)	3.72	1.14-12.2	2.59	0.68-9.94

*:HR: Hazard Rati

RESULTATS ESTUDI 2. EFECTE DE LA TRANSFUSIÓ DE CONCENTRATS D'HEMATIES DURANT EL PERIODE PERIOPERATORI EN LA SUPERVIVÈNCIA DELS PACIENTS AMB CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC.

Es van incloure 177 pacients consecutius en l'estudi que van complir els criteris de selecció. D'aquests, 132 no van rebre cap transfusió de sang (75% del total) i es van incloure en el grup A. En 26 pacients (14,8%) 1 o 2 unitats de sang van ser administrades i es van classificar com a Grup B. Finalment 18 pacients (10,2%) van rebre 3 o més unitats de sang i van ser inclosos en el Grup C. Un pacient es va perdre durant el seguiment.

CARACTERÍSTIQUES DELS PACIENTS

Les característiques demogràfiques dels pacients, l'IMC, la comorbiditat (Charlson i ASA), i les característiques clíniques es mostren a la **Taula 6**. De forma general, no es van detectar diferències significatives entre les característiques clíniques i demogràfiques dels pacients entre els grups. Només l'edat i els nivells de CEA van ser significativament majors en el grup B. Òbviament, els nivells d'he-

moglobina van ser menors en els grups B i C.

En referència a les característiques histològiques, els grups B i C tenien un major percentatge de tumors T4. A més, els factors pronòstics histològics com la invasió neural i la invasió angiolímfàtica es van detectar amb més freqüència en pacients que van requerir transfusió de sang. La supervivència global de tota la sèrie després de 7 anys de seguiment va ser del 76,3% i la supervivència lliure de malaltia del 81,4%.

Per grups, en el grup A es va observar un 80,2% de supervivència global i un 84,1% la supervivència lliure de malaltia. En els pacients amb transfusió el grup B va mostrar un 61,5% de supervivència global, i un 65,4% de lliure de malaltia i el grup C el 62,5% de supervivència global i un 63,3% de supervivència lliure de malaltia.

Taula 6. Característiques clíniques i epidemiològiques dels grups de l'estudi. **Font:** Elaboració pròpia

	GROUP A n=132 (No blood transfusion)	GROUP B n=26 (1 or 2 blood units)	GROUP C n=18 (3 or more blood units)	
Male	61 (46.2%)	15 (57.7%)	7 (38.9%)	
Female	71 (53.8%)	11 (42.3%)	11 (61.1%)	P =0.428
Age (mean)	68.9	75.5	70.6	P=0.039
BMI	28.2	26.3	27	P=0.12
Charlson Index	2.8	3	2.8	P=0.16
Preoperative Hglo	11.9	9.6	9	P<0.00
Preoperative CEA	5.2	20	4.8	P=0.041
ASA 1	8 (6.25%)	0	0	
ASA 2	74 (56%)	13 (50%)	10 (55.6%)	
ASA 3	49 (37%)	11 (42%)	8 (44.4%)	
ASA 4	1 (0.75%)	2 (8%)	0	P=0.142
Laparoscopy	75 (57%)	10 (38.5%)	8 (44.5%)	
Open	55 (41.5%)	14 (54%)	10 (55.5%)	
Conversion	2 (1.5%)	2 (7.5%)	0	P=0.137
T1	22 (16.7%)	1 (4%)	0	
T2	32 (24.5%)	4 (15 %)	4 (22%)	
T3	65 (49.5%)	12 (46%)	7 (39%)	
T4	13 (9.3%)	9 (35%)	7 (39%)	P=0.002
N0	84 (63.5%)	17(65%)	7 (39%)	
N1	36 (27.5 %)	7 (27%)	6 (33%)	
N2	12 (9%)	2 (8%)	5 (28%)	P= 0.122
Venous invasion	6 (4.5%)	2 (7.7%)	3 (16.6%)	P=0.130
Neural invasion	5 (3.8%)	4 (15%)	4 (22%)	P=0.055
Angiolymphatic invasion	21 (16%)	11 (42%)	6 (33%)	P=0.005

Univariate analysis

Quan s'aplica l'estudi de Khi-quadrat en relació als factors que poden afectar la supervivència lliure de malaltia, l'abordatge quirúrgic per laparotomia ($p= 0,032$), la invasió perineural ($p= 0,04$), estadi T ($p= 0,014$), afectació tumoral dels ganglis limfàtics ($p < 0,001$) i els nivells d'hemoglobina

preoperatòria ($p= 0,05$) van assolir significació com a factors de mal pronòstic en l'anàlisi univariada. La transfusió de sang no va aconseguir significació estadística, tot i que hi va haver un alt percentatge de recidiva tumoral en el grup B (**Taula 7**)

Taula 7. Anàlisi de la recidiva entre els grups de l'estudi. **Font:** Elaboració pròpia

		Recidiva (si/no)		Total	
		No	Si		
Transfusions (cat.)	No	Count	111	21	132
		% within Transfusions (cat.)	84.1%	15.9%	100.0%
		% within Recidiva (si/no)	77.6%	63.6%	75.0%
<=2		Count	17	9	26
		% within Transfusions (cat.)	65.4%	34.6%	100.0%
		% within Recidiva (si/no)	11.9%	27.3%	14.8%
>2		Count	15	3	18
		% within Transfusions (cat.)	83.3%	16.7%	100.0%
		% within Recidiva (si/no)	10.5%	9.1%	10.2%
Total		Count	143	33	176
		% within Transfusions (cat.)	81.3%	18.8%	100.0%
		% within Recidiva (si/no)	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.046 ^a	2	.080
Likelihood Ratio	4.431	2	.109
Linear-by-Linear Association	.976	1	.323
N of Valid Cases	176		

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.38.

En canvi, les corbes de Kaplan-Meier en relació al temps lliure de malaltia, mostren diferències significatives en-

tre els malalts no transfosos (grup A) i aquells que han rebut algun tipus de transfusió (grups B i C estudiats con-

juntament). El nombre d'unitats de sang administrats no va influir en el supervivència lliure de malaltia. A

nivell global, els pacients transfosos mostraven la supervivència lliure de tumor més curta.

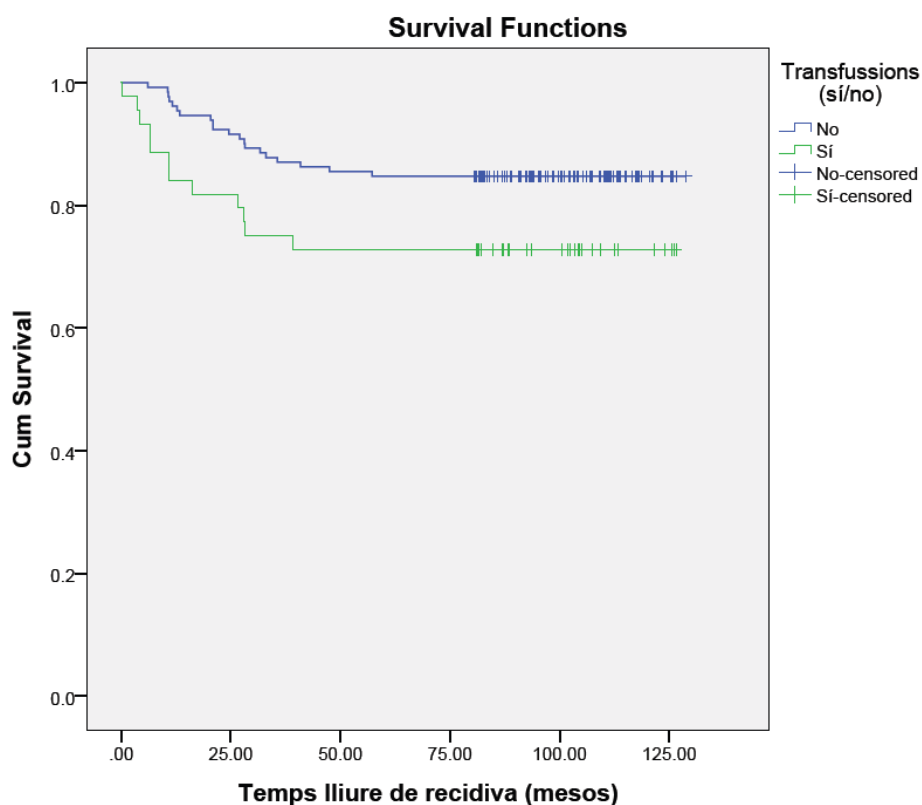


Figura 24. Corbes tipus Kaplan-Meier en relació al temps lliure de malaltia, analitzant els grups B i C conjuntament. **Font:** Elaboració pròpia.

Com s'observa en la figura 25, es van detectar diferències significatives en el les corbes Kaplan-Meier de supervivència global quan es va comparar el grups A, amb el grup B i C conjun-

tament ($p = 0,029$). Les transfusions de sang van afectar la supervivència global, però no es a observar cap influència en relació al número d'unitats administrades.

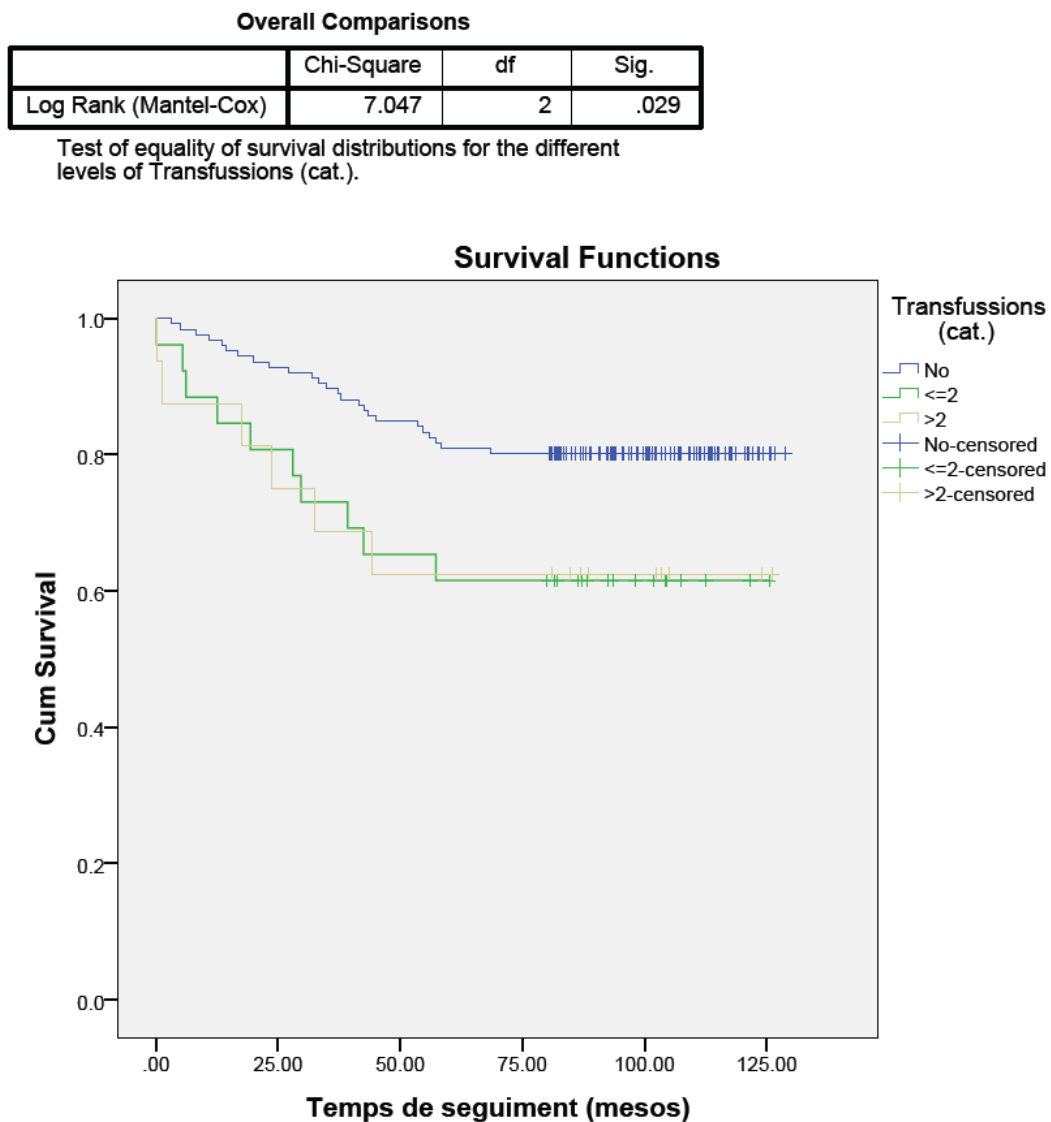


Figura 25. Supervivència global comparant pacients sense transfusió (grup A) amb pacients als que se'ls ha administrat algun concentrat d'hematies (grups B i C). **Font:** Elaboració pròpia.

Anàlisi multivariat

Quan vàrem analitzar els factors que podien afectar la supervivència global, les transfusions, incloent els grups B i C junts ($p = 0,026$), l'índex de comorbiditat de Charlson ($p < 0,00$), l'ASA ($p = 0,031$), l'abordatge quirúrgic

per laparotomia ($p < 0,001$) i la invasió angio-limfàtica ($p = 0,005$), van aconseguir significació com a factors de mal pronòstic. La regressió de Cox va servir per realitzar un anàlisi multivariant per comparar la possible influència entre les variables que

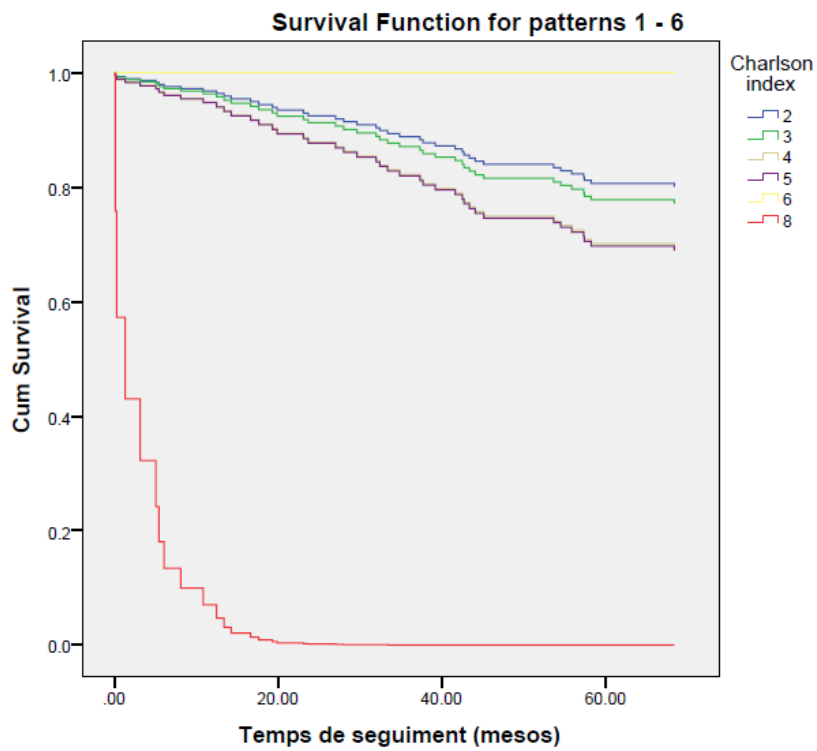
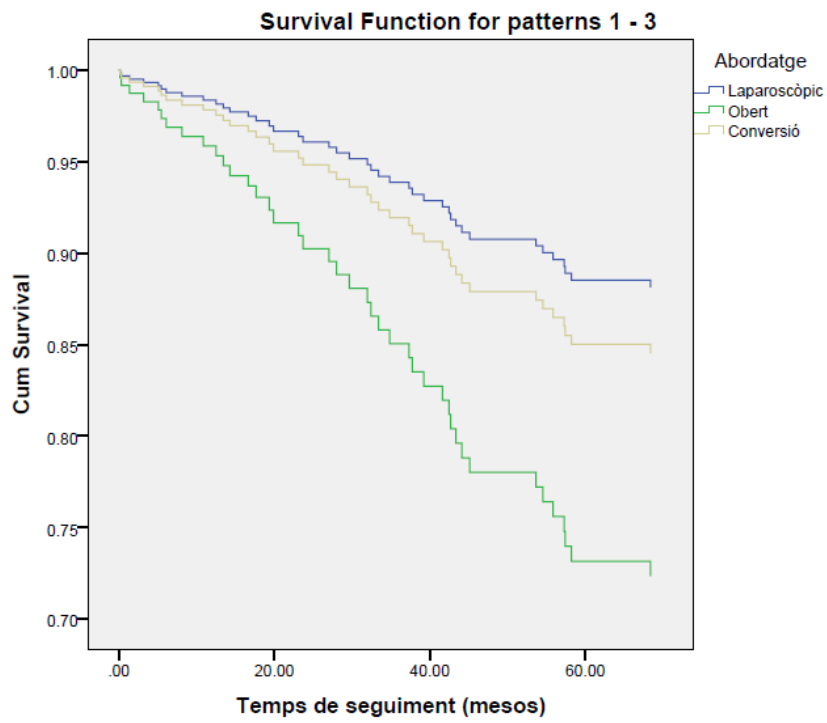
van ser estadísticament significatives en l'estudi de Khi-quadrat. A la supervivència global, només l'edat, l'índex de Charlson, l'afectació dels ganglis limfàtics i l'abordatge quirúrgic van aconseguir significació estadística

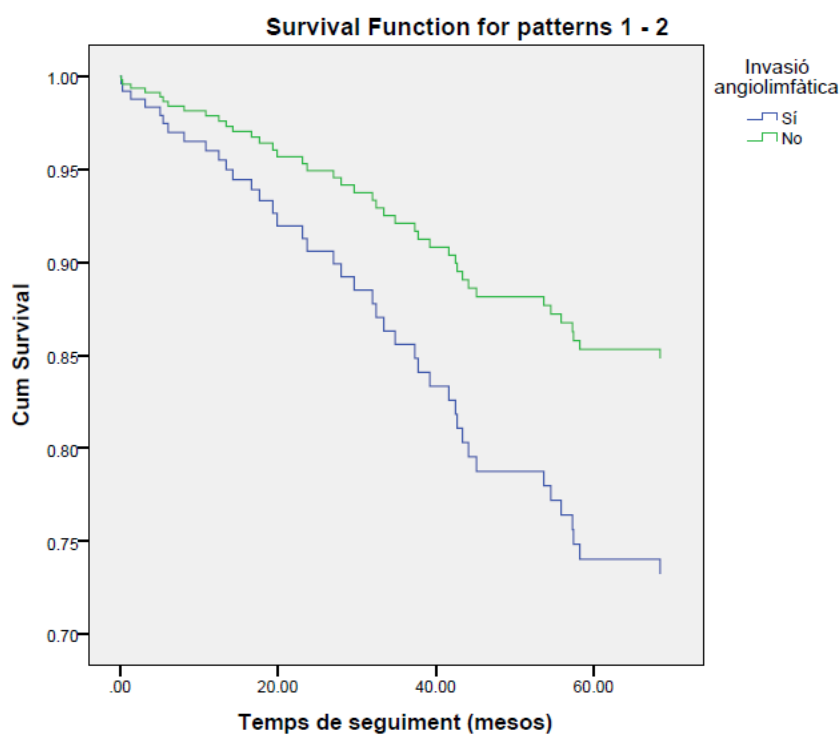
com a factors de risc independents per a la supervivència (vegeu la taula 8) . És important assenyalar que la transfusió de sang no va aconseguir influència estadística per se en l'anàlisi multivariant amb una $p = 0,906$

Taula 8. Estudi multivariant dels factors amb possible influència en la supervivència global. **Font:** Elaboració pròpia.

Variables in the Equation						
	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Transfusions1	.048	.408	.014	1	.906	1.049
Charlson_index	.546	.148	13.568	1	.000	1.726
edat	.054	.015	12.345	1	.000	1.056
Invasi__Angiolinf_tica	.637	.420	2.297	1	.130	1.891
T	.238	.223	1.143	1	.285	1.269
N	.640	.235	7.401	1	.007	1.897
Abordatge			7.529	2	.023	
Abordatge(1)	.940	.350	7.235	1	.007	2.561
Abordatge(2)	.286	.790	.131	1	.718	1.331

Variables in the Equation





Si ens centrem en la temps lliure de malaltia, l'estudi multivariat mostra que les variables que exerceixen una influència negativa i que per tan són factors de risc independents per a la recidiva són: l'estadiatge T del tumor,

l'afectació neoplàsica ganglionar i l'abordatge quirúrgic per laparotomia. La transfusió sanguínia tampoc aconseguix tenir una influència estadísticament significativa en l'estudi multivariat amb una $p=0.547$ (Taula 9).

Taula 9. Estudi multivariant dels factors amb possible influència en la temps lliure de malaltia. **Font:** Elaboració pròpia.

Variables in the Equation						
	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Transfusions1	.251	.417	.363	1	.547	1.285
Invasi__Angiolinf_tica	.085	.437	.038	1	.846	1.088
T	.512	.246	4.323	1	.038	1.669
N	.763	.234	10.630	1	.001	2.144
Abordatge			4.018	2	.134	
Abordatge(1)	.756	.381	3.943	1	.047	2.129
Abordatge(2)	.210	1.051	.040	1	.841	1.234

RESULTATS ESTUDI 3. SUPERVIVÈNCIA A LLARG TERMINI DELS PACIENTS INTERVINGUTS PER PATIR UN CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀTIC. ESTUDI PROSPECTIU COMPARANT L'ABORDATGE LAPAROSCÒPIC I LA LAPAROTOMÍA.

Després d'excloure a 9 pacients, finalment, 177 pacients van ser analitzats en l'estudi. Els criteris d'exclusió van ser la localització per sota del nivell de la reflexió peritoneal en 2 pacients, la detecció de la malaltia a distància en el moment de la cirurgia en 6 ocasions i una mort postoperatòria degut a un infart de miocardi en 1 cas. 1 pacient es va perdre durant el període de seguiment

CARACTERÍSTIQUES DELS PACIENTS

La **Taula 10** exposa les diferents característiques epidemiològiques, histològiques i la supervivència entre els grups de l'estudi.

Es van analitzar les possibles diferències entre els grups per tal de determinar si eren comparables per a

l'estudi. No es van observar diferències significatives en relació a les variables tècniques dels diferents abordatges, com s'evidencia al detectar la mateixa quantitat de ganglis limfàtics en les peces quirúrgiques (una mitja de 26 ganglis limfàtics amb un interval entre 6 i 94). Els diferents estadis del càncer de còlon (I, II, III) van estar distribuïts de forma homogènia entre els grups. De la mateixa manera, les característiques patològiques van ser comparables entre els grups, no detectant-se diferències estadísticament significatives i ($p= 0,4$). Factors pronòstics de tipus histològic com la invasió angiolímfàtica, la invasió venosa i la invasió perineural es van observar en la mateixa proporció en els tres grups.

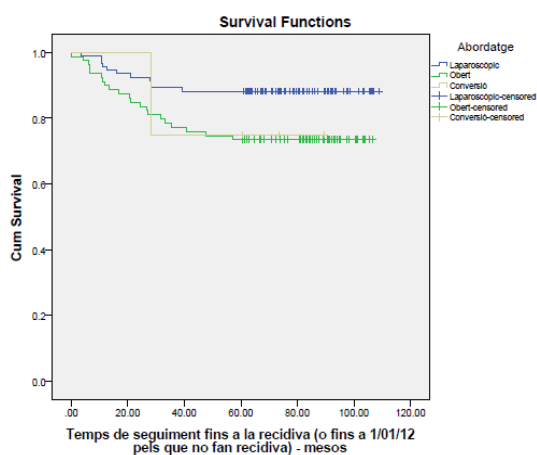
Taula 10. Característiques epidemiològiques, histològiques i de supervivència entre els pacients intervinguts per laparoscòpia, laparotomia i les conversions. **Font:** Elaboració pròpia

	Overall		Laparoscopy		Laparotomy		Conversion		p
Tumor Localizati- on	n		n		n		n		
Right colon	89	50.3%							
Left colon	36	20%							
Sigmoid colon	52	29.7%							
ASA									0.19
I	8	4.5%	7	7.5%	1	1.3%	0	0%	
II	98	55.4%	54	58.1%	42	52.5%	2	50%	
III	68	38.4%	32	34.4%	34	42.5%	2	50%	
IV	3	1.7%	0	0%	3	3.7%	0	0%	
IMC									0.27
Mean			26.9		28.6		32.9		
± Standard devia- tion			±3.9		±5.2		±3.2		
N1	49	27.7%							
N2	20	11.3%							
TNM stage									0.4
I	50	28.2%	29	31.2%	21	26.3%	0	0%	
II	58	32.8%	27	29%	30	37.5%	1	25%	
III	69	39%	37	39.8%	29	36.3%	3	75%	
Mean lymph nodes									0.3
	26		22		23		34		
Angiolimfatic Invasion									0.9
Yes	39	22%	20	21.5%	18	22.5%	1	25%	
No	138	78%	73	78.5 %	62	77.5%	3	75%	
Perineural Invasion									0.34
Yes	12	6.8%	6	6.5%	5	6.3%	1	25%	
No	165	93.2%	87	93.5%	75	93.7%	3	75%	
Venous invasion									0.87
Yes	11	6.2%	6	6.5%	5	6.3%	0	0%	
No	166	93.8%	87	93.5%	75	93.7%	4	100%	
Anastomotic leakage									
Yes	6	7.7%		%		%		%	

No	72	92.3%		%	%	%		
Blood tranfusion								0.1
Yes	45	25.4%	18	19.4%	25	31.2%	2	50%
No	132	74.6%	75	80.6%	55	68.8%	2	50%
7 years relapse								0.047
Yes	34	19.2%	11	12%	21	26.2%	2	50%
No	143	80.8%	82	88%	59	73.8%	2	50%
7 years death								0.001
No	127	71.2%	80	86%	53	66.2%	2	50%
Cancer related	31	18.5%	13	14%	27	33.8%	2	50%
Not related	19	10.3%						

Quan analitzem els factors que poden empitjorar la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia, no-més l'afectació ganglionar metastàsica, els tumors en estadi III i la invasió angiolímfàtica aconseguen significació estadística. És important desta-

car que l'abordatge per laparotomia i la conversió a laparotomia van condicionar una pitjor supervivència global ($p=0,001$) i un menor temps per a la recaiguda del càncer ($p=0,047$) com podem observar en la Figura 26.



Overall Comparisons			
	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	8.108	2	.047

Test of equality of survival distributions for the different levels of Abordatge.

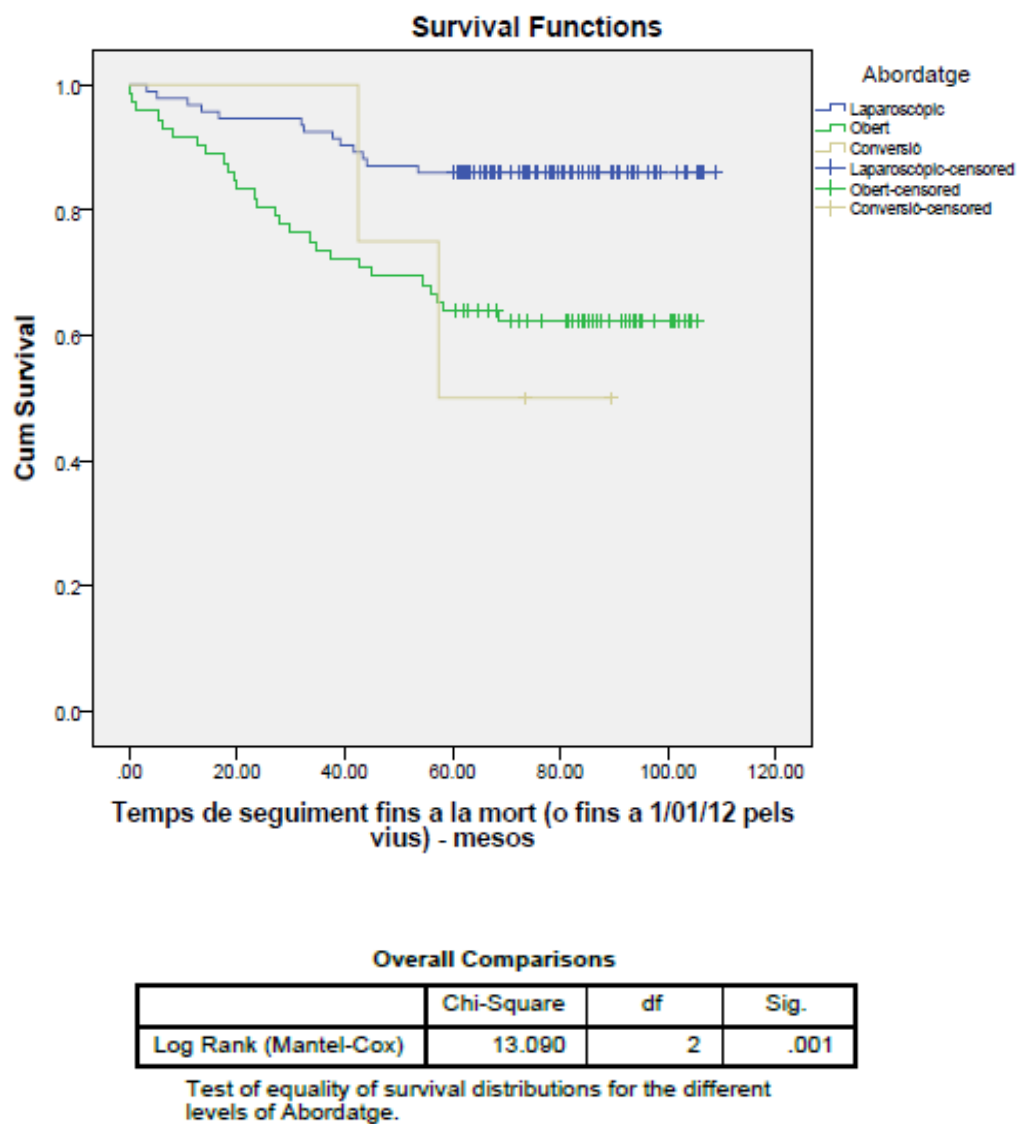


Figura 26. Corbes Kaplan-Meier de supervivència lliure de malaltia i supervivència global per als diferents grups. **Font:** Elaboració pròpia.

En la **Taula 11** s'aprecia com en l'estudi multivariat amb la regressió de Cox, els factors que afecten la supervivència global i la lliure de malaltia són l'edat, l'estadi tumoral T3 i l'abordatge quirúrgic.

Taula 11. Estudi multivariat dels factors que influeixen de forma independent en la supervivència dels pacients. **Font:** Elaboració pròpia

Variables in the Equation								
	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% CI for Exp(B)	
							Lower	Upper
edat	.063	.016	16.485	1	.000	1.065	1.033	1.099
Abordatge	1.127	.343	10.799	1	.001	3.086	1.576	6.043
estad			7.608	2	.022			
estad(1)	.217	.454	.228	1	.633	1.242	.511	3.021
estad(2)	1.018	.419	5.916	1	.015	2.768	1.219	6.288

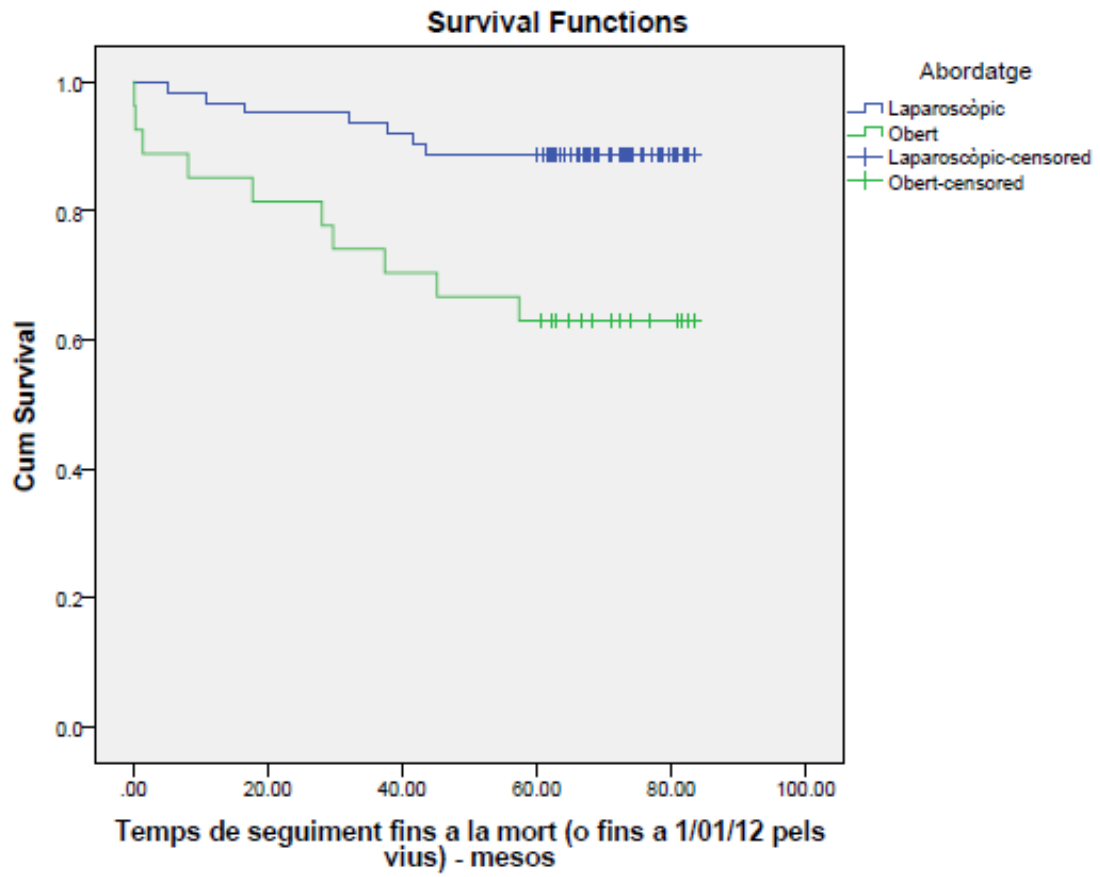
Després excloure els dos primers anys de la nostra sèrie (quan el biaix de selecció va ser més pronunciat degut a l'inici de la nostra corba d'aprenentatge) 94 pacients van ser analitzats de nou. Al tornar a comparar els nous grups obtinguts, només la transfusió de sang va ser més comú en el grup de laparotomia en comparació amb els altres. No hi van haver diferències estadísticament significatives entre els grups en la resta de factors analitzats, de manera que també es va considerar que eren comparables per a l'es-

tudi. La supervivència global va ser millor per al grup laparoscòpic ($p = 0,03$), però la supervivència lliure de malaltia no va aconseguir diferències estadístiques significatives entre els grups ($p = 0,116$). Quan es aplica la regressió de Cox per l'anàlisi multivariada, l'edat i l'abordatge quirúrgic arriben a la significació estadística per a la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia. L'estadi T3 només té una influència independent en la supervivència lliure de malaltia (**Taula 12**).

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	8.810	1	.003

Test of equality of survival distributions for the different levels of Abordatge.



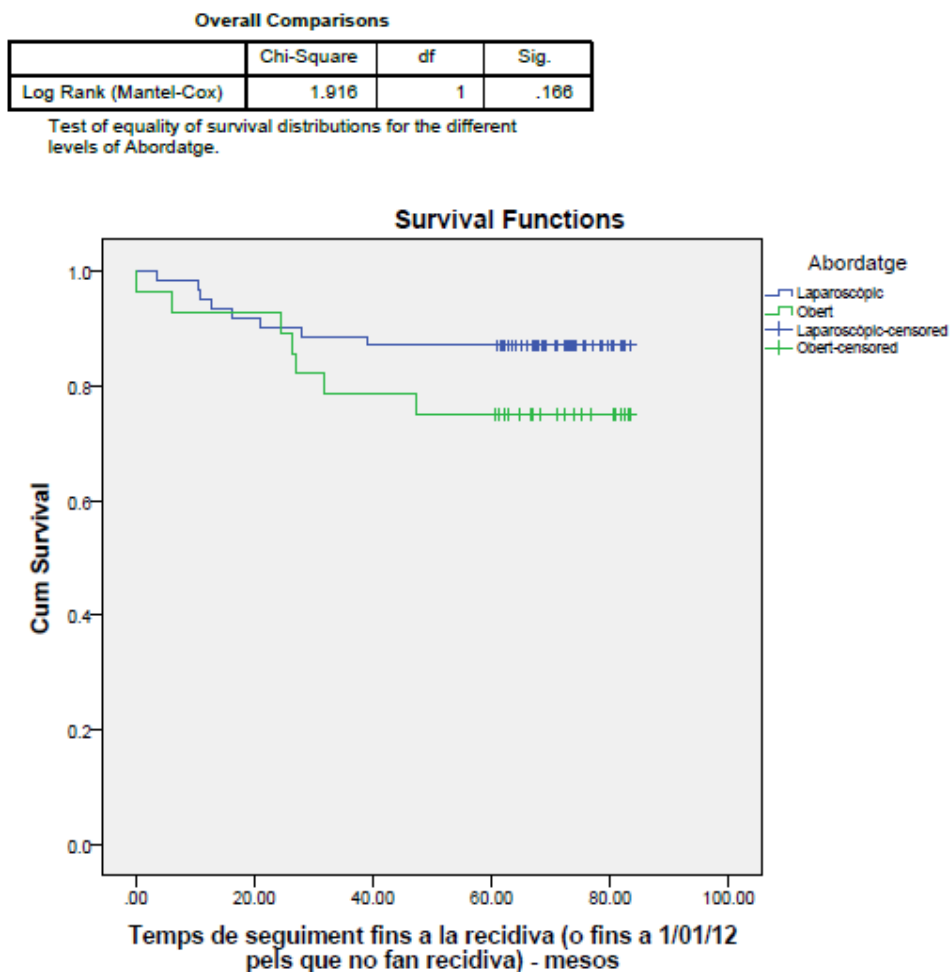


Figura 27. Corbes Kaplan-Meier de supervivència lliure de malaltia i supervivència global per als diferents grups. **Font:** elaboració pròpia.

Taula 12. Estudi multivariat dels factors que influeixen de forma independent en la supervivència dels pacients al excloure els 2 primers anys de l'estudi. **Font:** Elaboració pròpia.

Variables in the Equation

	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% CI for Exp(B)	
							Lower	Upper
edat	.073	.023	10.391	1	.001	1.076	1.029	1.125
Abordatge	1.481	.552	7.205	1	.007	4.397	1.491	12.968
estad			6.056	2	.048			
estad(1)	1.197	.809	2.187	1	.139	3.309	.678	16.159
estad(2)	2.059	.854	5.814	1	.016	7.838	1.470	41.794

DISCUSSIÓ GENERAL

1. DISCUSSIÓ GENERAL

Factors pronòstics en el càncer de còlon no metastàtic.

El càncer de còlon s'ha convertit en les últimes dècades en problema de salut a escala global. L'Organització Mundial de la Salut mitjançant la seva base de dades Globocan, ens permet conèixer la incidència, prevalença i mortalitat d'aquesta patologia a nivell de 185 països diferents dels cinc continents. I les dades que es poden extreure a un primer cop d'ull no són afalagadores. Durant l'any 2012, el càncer colorectal va ser el tercer càncer més comú en els homes (746.000 casos, 10,0% del total dels càncers) i el segon en dones (614.000 casos, 9,2% del total dels càncers) a tot el món. A més, gairebé el 55% dels casos van ocórrer en el primer món. No obstant, més de la meitat dels morts per culpa de la malaltia la van patir en països subdesenvolupats [4].

Tenint en compte l'enorme influència que pot exercir el tractament d'aquesta patologia en la salut a nivell mundial, des de la comunitat científica s'han multiplicat esforços per millorar les tècniques quirúrgiques (opció terapèutica en els estadis inicials

de la malaltia) i les teràpies antineoplàsiques per estadis metastàsics o en forma d'adjuvència. Per arribar a aquest punt es fonamental aconseguir un correcte estadiatge dels pacients per poder discernir quina és la teràpia més adient en cada cas. L'eina més poderosa per avaluar el pronòstic en els estadis I, II i III és l'anàlisi anatomopatològic de la peça quirúrgica ressecada i en especial els seus ganglis limfàtics. Tot i que els paràmetres anatomopatològics són els més potents predictors de supervivència a llarg termini, altres característiques de tipus clínic, moleculars, i histològiques poden influir en el pronòstic, independentment de l'estadiatge tumoral.

Aquest fet es fa clarament evident quan observem que els índex de supervivència de pacients amb estadis amb afectació ganglionar inicial (estadi IIIA) són significativament millors que en algun subgrups sense infiltració de ganglis limfàtics (estadi IIC).

Aquests resultats paradoxals poden tenir dues explicacions diferents:

1. L'estudi ganglionar no ha estat prou exhaustiu i han estat infravalorades afectacions neoplàsiques mi-

croscòpiques o han passat per alt implants metastàsics en regions del gangli limfàtic no processades pel seu estudi.

2. O bé, existeixen altres factors pronòstics que no han estat tinguts en compte fins al moment que poden condicionar una pitjor supervivència dels pacients amb càncer de còlon. La no detecció d'aquest possibles factors, restaria als malalts el benefici de l'aplicació de quimioteràpia adjuvant en el període postquirúrgic.

Un dels objectius d'aquesta Tesi ha estat respondre a la qüestió, utilitzant en el primer estudi la tècnica del gangli sentinella per millorar la detecció d'implants neoplàsics en els ganglis limfàtics i així permetre identificar a pacients amb més possibilitats de recidiva de la seva malaltia o de morir per causes relacionades amb la mateixa.

A més, també han estat estudiats factors clínics i quirúrgics com la transfusió de sang heteròloga perioperatoria (estudi 2) i la via d'abordatge quirúrgic per laparoscòpia o laparotomia (estudi 3). Aquests condicionats també podrien jugar un paper en els índex de recidiva i de supervivència als cinc anys del pacient afectes de neo-

plàsica de còlon amb indicació quirúrgica. El coneixement més acurat d'aquest factors podria permetre millorar la nostra pràctica clínica en aquests pacients i fins i tot ens obligaria a plantejar-nos canvis els protocols de tractament multidisciplinari d'aquesta malaltia.

2. GANGLI SENTINELLA EN EL CÀNCER DE CÒLON

2.1 Importància de l'estudi ganglionar el càncer de còlon

Hi ha un ampli consens a considerar l'afectació ganglionar com el factor pronòstic més important en els pacients amb càncer de còlon no metastàtic. Per aquesta raó, la principal indicació per administrar la teràpia adjuvant en el postoperatori és la presència d'aquest factor en espècimens quirúrgics. Es considera que els beneficis de supervivència d'aquests tractaments podrien arribar a una reducció del 41% en el risc de recurrència i una reducció del 33% en la mortalitat⁴⁸. Durant dècades els investigadors han tractat de perfeccionar els mètodes per diagnosticar possibles afectacions dels ganglis limfàtics així millorar l'estadificació del càncer i

redefinir possibles teràpies postoperatòries.

L'anàlisi de l'afectació neoplàsica dels ganglis limfàtics ha estat repetidament validada com un dels principals factors pronòstics en pacients amb càncer de còlon. En particular, el nombre absolut de ganglis limfàtics positius ha estat associat com a predictor d'evolució adversa de la malaltia. Aquest fet queda demostrat amb l'augment de la mortalitat als cinc anys que es detecta a mesura que augmenten de nombre de ganglis limfàtics amb afectació neoplàsica [141].

Per poder determinar que l'estudi de l'afectació ganglionar ha estat prou acurat, des de principis dels anys 90 s'ha establert en 12 el número mínim de ganglis limfàtics que cal analitzar en qualsevol peça quirúrgica de colectomia. La detecció d'un número menor de ganglis comporta per tant, una infraestadificació del pacient i es considera directament com un factor de mal pronòstic [74]. En la nostra sèrie, només 17 pacients (9.5 % del total) es podrien considerar en aquesta situació. La resta van obtenir peces quirúrgiques amb un número de

ganglis igual o superior a 12, amb un rang que va des de 12 fins a 73 ganglis identificats, el que indica la elevada exigència quirúrgica i metodològica del nostre estudi.

Amb tot, un nombre important de publicacions han demostrat que la ratio entre ganglis afectats i ganglis identificats, pot tenir una importància pronòstica major que el nombre absolut dels ganglis limfàtics afectats [149].

Hom es planteja que en un escenari ideal, el més adient seria realitzar un anàlisi exhaustiu de cadascun dels ganglis limfàtics identificats de a la peça quirúrgica, aplicant totes les tècniques a la nostra disposició per poder identificar malaltia metastàsica en forma microscòpica.

Els recursos econòmics limitats que disposem en el nostre sistema sanitari, fan molt difícil plantejar aquesta possibilitat en tots els pacients afectes de la malaltia. Com hem descrit prèviament, la tècnica del Gangli Sentinella en el càncer de còlon intenta aconseguir una més acurada estadificació dels pacients, incidint en l'estudi més exhaustiu d'un número limitat de ganglis però que permetrà predir

l'afectació general de tot el territori ganglionar.

Aquesta tècnica ofereix un estalvi de recursos i de temps d'implicació del personal del laboratori d'anatomia patològica, ja que focalitza tots els nostre esforços diagnòstics en un número reduït de ganglis sentinelles identificats.

2.2 Tècnica quirúrgica

Per realitzar la detecció del gangli sentinella en el territori limfàtic de drenatge de la neoplàsia de còlon, estan descrites en la literatura diferents variants tècniques. Aquestes es poden classificar en relació a l'etapa de la cirurgia en que es realitzen i al tipus de marcadors emprats. Els diferents procediments han estat avalats en diversos estudis comparatius [4], [5, 6].

Les tècniques *in vivo* (amb aplicació directa en el camp quirúrgic de traçadors sobre la tumoració) i la tècnica laparoscòpica (amb l'aplicació durant la cirurgia de contrast a través d'un fibrocolonoscopi), permeten una identificació acurada de les adenopaties del territori ganglionar i en especial la detecció de possibles skip metàstasis.

Existeix algun estudi on s'identifica les tècniques *in vivo* amb una major taxa de detecció del gangli sentinella respecte les tècniques *ex vivo* [101], encara que aquest fet no es confirma en els diferents metanàlisis.

L'expansió de la cirurgia laparoscòpica en el càncer de còlon en detriment de la cirurgia oberta, i la dificultat organitzativa que suposa realitzar una fibrocolonoscòpia intraoperatòria, fan que aquestes variants tècniques es realitzin en pocs centres. Per aquesta raó, la tècnica més utilitzada pels diferents grups és la tècnica *ex vivo*, per la seva senzillesa i per la menor interferència en la pràctica quirúrgica habitual.

Aquesta ha estat la tècnica utilitzada en el nostre estudi, permeten que un cirurgià no implicat directament en l'equip quirúrgic realitzés la injecció del contrast sobre la peça quirúrgica ja ressecada, mentre el procediment quirúrgic continuava de forma habitual. Pensem que d'aquesta manera la interferència amb el procediment quirúrgic és mínima i per altra banda assegurem la realització de la tècnica de forma més acurada.

2.3 Taxa de detecció, Sensibilitat i índex de Falsos Negatius

Segons Van der Zaag [101], el percentatge de detecció del gangli sentinella pot oscil·lar entre 58 i 100%, encara que la majoria d'estudis demostren una taxa d'identificació superior al 90%. En el seu metanàlisi, la taxa de detecció en pacients amb càncer de còlon va ser significativament major que en els estudis on també s'inclouïen neoplàsies de recte. El número total de procediments realitzats també influïa de forma positiva, amb una taxa al voltant de 95% en els grups on es realitzava el procediment en més de 100 ocasions. Aquesta corba d'aprenentatge també ha estat descrita per altres autors [150], considerant-se que pot estar al voltant de 20 procediments per cirurgia[96].

En el nostre grup, tan la injecció de contrast com la dissecció *ex vivo* de gangli sentinella va ser realitzada només per dos cirurgians de la unitat específicament implicats en l'estudi, sobrepasant amb escreix els 20 casos. Els índex de detecció del gangli sentinella en relació al traçador no demostren diferències significatives

en relació al tipus de producte injectat. Per a la Tinta està al voltant del 94% [92– 96%]; amb radioisòtop traçador 88% [80–97%]; combinant tinta i radioisòtop 88% [79–98%]; amb verd d'indocianina 88% [77–99%]; i blau de metilè 84% [66–100%]. Tampoc la sensibilitat de la tècnica va mostrar diferències significatives en relació al tipus de colorant emprat. En estudis amb un número elevat de pacients i en grups amb una alta experiència en gangli sentinella, la sensibilitat està la voltant de 90%, encara que sovint estan descrites sensibilitats inferiors a 50% [96].

Ha estat postulat que el volum total de contrast injectat en relació a la mida del tumor, podria tenir influència en el índex de detecció del gangli sentinella. Viehl *et al.* afirmen la administració de menys de 1cc pot ser insuficient en la majoria de tumors [151]. El procediment utilitzat a la nostra sèrie definia de forma estàndard l'aplicació de 2cc de colorant en cada peça quirúrgica (0.5cc en cada quadrant) tal com es va descriure de forma original per Wong [89].

La substància utilitzada com a traçador pel nostre grup va ser el blau de

metilè, ja que és el producte del que es disposa una millor experiència clínica i amb uns baixos costos. El nostre índex de detecció va ser del 83.9%. La tinció del ganglis i dels canalicles limfàtics no va interferir en cap cas els posteriors estudis anatomopatològics. La sensibilitat de la tècnica en les nostres mans va ser del 65.4% amb un índex de falsos negatius del 34.6%.

La presència de malaltia neoplàsica en ganglis no sentinella, es considera com a un Fals negatiu de la tècnica del SLN. Els diferents estudis publicats poden arribar a reportar xifres superiors al 30% i en alguna ocasió fins al 50 % [102]. Els principals factors associats a aquest problema de la tècnica són la localització rectal de la neoplàsia, la presència de diferenciació mucinosa del tumor, els estadis tumorals T3,T4 i la mida del tumor > 6 cm [137].

Sembla evident que la localització rectal pot alterar la circulació limfàtica per la presència de fibrosi després de radioteràpia i per la pròpia distribució més complexa del mesorecte que dificulta la seva dissecció. Està descrita fins i tot la disminució de la detec-

ció global de ganglis en el mesorecte posterior a la neoadjuvència [152].

Per altra banda, neoplàsies amb una major penetració en la paret del còlon i amb diferenciació mucinosa, podrien tenir més possibilitats d'afectació dels canalicles limfàtics i provocar ocupació dels mateixos per cúmuls de cèl·lules tumorals. Aquest fenomen faria impossible la difusió del traçador després de la seva injecció sobre el tumor primari i impossibilitaria la detecció del gangli sentinella [153].

Aquest dos fets van ser comprovats pel nostre grup en estudis preliminars a l'actual, i van ser la causa que excloguéssim els pacients amb neoplàsies per sota la reflexió peritoneal i pacients amb invasió d'òrgans veïns.

Les xifres abans exposades obliguen a considerar el gangli sentinella en el càncer de còlon amb afectació important de la paret intestinal (T3 i T4) com un predictor poc acurat de l'estadi ganglionar de tot el territori de drenatge limfàtic. Sembla tanmateix raonable pensar que la realització sistemàtica de la tècnica en especial en estadis precoços de la malaltia permet millorar de forma significativa la seva taxa de detecció i sensibilitat.

Aquest procediment aportaria un benefici addicional a aquests pacients amb menys possibilitats de patir falsos negatius de la tècnica.

2.4 Skip Metastases

La presència de ganglis limfàtics sentinella en territoris de drenatge aberrants segons les disposicions anatòmiques clàssiques, és un problema descrit en ocasions en grups de treball que realitzen la tècnica "in vivo". Aquestes troballes poden ser detectades en un 4% de mitjana, amb un percentatge màxim descrit del 15%-22% [101].

L'estudi més interessant al respecte ha estat publicat pel l'iniciador de tècnica del gangli sentinella en còlon, el Professor Saha de la Michigan State University. Es tracta d'una sèrie prospectiva de 192 pacients on s'aplicà de forma sistemàtica la tècnica "in vivo". El 22% d'aquests malalts van requerir una cirurgia de còlon més extensa degut a la presència de ganglis limfàtics tenyits fora del territori esperat. A més, en 19 pacients (el 9.8%) van aparèixer metàstasis en aquests ganglis addicionals identificats, en dos casos de forma exclusiva [94].

D'aquests resultats es pot deduir que sense la detecció d'aquests ganglis aberrants, podria persistir malaltia ganglionar neoplàsica després d'una cirurgia reglada quasi en el 10% del casos. No existeix no obstant, prou evidència científica per valorar l'impacte real que aquestes skip metastasis poden tenir sobre la supervivència global dels pacients. La tècnica emprada pel nostre grup, no ha permès valorar aquesta possibilitat.

2.5 Tècnica histològica en el Gangli Sentinella

Un cop identificats els ganglis sentinelles, l'estudi exhaustiu dels mateixos es converteix en una part fonamental del procés diagnòstic. L'aplicació de tècniques amb la màxima sensibilitat i especificitat podrà determinar la presència d'implants tumorals en aquest ganglis i condicionarà un possible canvi de estadificació (up-stage) dels pacients.

En algunes publicacions aquestes tècniques s'han pogut aplicar en tots i cadascun dels ganglis dissecats de la peça quirúrgica, evitant per tant el percentatge de falsos negatius inherents a la tècnica del SLN [154]. No obstant certs equips han suggerit que

la probabilitat de trobar metàstasi addicionals amb l'anàlisi de tots els ganglis és força baixa i que per tan té poc benefici clínic [155]. Un alt percentatge dels grups i el nostre entre ells, aplica les tècniques addicionals només sobre aquells ganglis amb les majors possibilitats de patir afectació tumoral i sempre i quan la resta no presentin afectació neoplàsica per mètodes convencionals.

La majoria d'estudis utilitzen la immunohistoquímica, usant anticossos dirigits contra panqueratines o d'altres més específics com per la Citoqueratina CK19 o la CK20 emprada en el nostre estudi i que es localitza en més del 90% del tumors de còlon [156]. No s'han demostrat diferències significatives en la taxa de detecció de cèl·lules neoplàsiques en relació als diferents tipus de citoqueratines, encara que si han estat descrits falsos positius amb la utilització de Panqueratines [157].

Alguns autors han descrit la utilització de marcadors de glicoproteïnes de la membrana cel·lular o proteïnes secretades específicament pels tumors [158].

Habitualment associat a la immuno-histoquímica, es realitzen múltiples seccions del gangli a estudi. Estan referits múltiples procediments de secció amb diferents tincions de les mateixes i a diferents distàncies entre elles, amb una variabilitat que va des de 20 a 500 μm [159]. Determinats estudis indiquen que la detecció d'implants neoplàsics augmenta de forma significativa en proporció a al nombre de seccions de tall examinades. Els estudis que examinen 2 o més seccions consecutives de cada gangli van mostrar una major taxa de pacients amb micrometàstasi, amb un rang entre el 16% [160] i 100% [161].

Fins i tot hi ha autors que suggereixen que la multisecció pugui tenir un paper més destacat en la detecció tumoral que la pròpia immunohistoquímica [162].

La nostra experiència ens permet afirmar que les dues tècniques és complementen i que són fonamentals. Com hem descrit prèviament, la gran majoria dels nostres pacients amb presència de cèl·lules tumorals al gangli sentinella ho van fer en forma de cèl·lules aïllades. Entenem que la identificació d'aquestes lesions no

hagués estat possible sense el marcatge amb Citqueratina 20 i tampoc sense la multisecció que va permetre localitzar implantacions tumoral que en circumstàncies normals haguéssim passat desapercibudes.

En una altra línia de treball, en els últims anys han guanyat adeptes les tècniques moleculars d'anàlisi dels ganglis limfàtics. Aquets procediments es poden realitzar en ganglis sentinelles o en la totalitat dels ganglis extrets en les peces quirúrgiques.

La reacció en cadena de la Polimerasa en temps real (RT-PCR) per a la detecció de mRNA CK20 en els ganglis limfàtics regionals de pacients amb càncer ha estat investigada per diversos grups, principalment en ganglis sentinelles [163, 164].

Altres marcadors han estat emprats com la guanidil ciclasa (marcador expressat únicament en les cèl·lules apicals del tracte intestinal i per tumors colorectals) que poden ajudar a la detecció de metàstasi de càncer colorectal en els ganglis limfàtics classificats com a negatius per l'examen histopatològic de rutina [165].

En general, aquests estudis van demostrar una major sensibilitat de l'anàlisi molecular en comparació amb avaluació estàndard basat en la tinció amb H/E i també en comparació amb l'aplicació d'immunohistoquímica sobre els ganglis.

Més recentment, l'anomenada amplificació d'àcid nucleic d'una etapa (OSNA) s'ha introduït com un mètode semi-automàtic per detectar el mRNA de la citoqueratina 19 en els ganglis limfàtics metastàtics. L'estudi més important publicat fins a data d'avui, ha estat realitzat de forma multicèntrica a Europa. Es van incloure un total de 103 pacients on les tècniques convencionals no mostraven signes d'afectació neoplàsica en els ganglis analitzats [166]. L'aplicació de la tècnica d'OSNA en aquests casos, va permetre detectar en 26 casos presència d'un número superior a 250 còpies de mRNA de CK 19 (un quart del total). Aquest fet va establir la presència de micro metàstasis ganglionars que no havien estat detectades pels mètodes convencionals.

Totes aquestes tècniques permeten l'examen de la totalitat del gangli limfàtic, superant així el possible biaix

causat per l' anàlisi insuficient de no-més una part de la totalitat del material histològic.

Amb tot, tan en la RT-PCR per a la detecció de cèl·lules tumorals ocultes en els ganglis limfàtics com amb el mètode OSNA han estat descrits falsos positius, ja que cap dels marcadors testats té una especificitat del 100%.

Ja l'any 1996, Gunn *et al* van observar que alguns ganglis limfàtics de pacients amb reseccions intestinal per patologia benigna podien expressar CK 19 [84]. Altres autors han detectat presència de CK20 i antigen carcinoembrionari (CEA) en ganglis limfàtics de pacients intervinguts per malaltia benigna [100].

Les raons per a la taxa de falsos positius observats no són del tot clares. La contaminació per material de dissecció o la difusió de les cèl·lules tumorals a través dels limfàtics durant el procediment de dissecció de la peça quirúrgica podrien aportar una explicació. Altres teories parlen de l'amplificació errònia de pseudogens similars a la CK19 que podrien jugar un paper en l'aparició de falsos positius en pacients sense malaltia neoplàsica [167].

2.6 Troballes

Anatomopatològiques

Les tècniques complementàries aplicades sobre la totalitat dels ganglis limfàtics o sobre els ganglis sentinelles, ens permetran detectar la presència de malaltia metastàsica en diferents formes de presentació. La classificació d'aquests implants metastàsics es fa bàsicament en relació a la seva mida, ja que s'entén que aquesta condicionarà la viabilitat de la lesió neoplàsica i la seva capacitat per crear neovascularització i expandir-se [140]. Sembla demostrat que la presència d'una macrometàstasi (implant major de 2mm de diàmetre) tindrà capacitat per provocar malaltia metastàsica en forma sistèmica. Les lesions menors d'aquesta mida (micrometàstasi, submicrometàstasi i cúmuls de cèl·lules aïllades) es comptabilitzen habitualment com a implants tumorals, encara que la AJCC recomana diferenciar en l'estadiatge entre micrometàstasi i la resta [141].

Els múltiples estudis publicats en relació al SLN, aporten diferents xifres de milloria en l'estadificació del pacients amb càncer de còlon, l' anomenat "up-Stage".

Així, en el metanàlisis de Van der Pas, en el 15% (interval entre 12%-19%) dels pacients amb ganglis negatius per tècniques convencionals, la utilització de tècniques histopatològiques addicionals, van permetre mostrar la presència de micrometàstasi [96]. Si també afegim a aquest recompte la presència de cèl·lules aïllades en l'espessor del gangli, les xifres d'up-stage pugen de mitja fins al 18.9% segons Van der Zaag [101]., descrivint-se en series puntuals percentatges superiors al 50% [168, 169]. Si només considerem la identificació de micrometàstasis, aquest últim meta-anàlisis redueix la xifra mitja d'Up-Stage al 7.7% dels estudis analitzats. Els nostres resultats mostren un índex de sobre estadificació (up-Stage) del 24.5% (19 pacients de 78) si considerem la presència tan de malaltia neoplàsica microscòpica com de cèl·lules aïllades. Aquest resultat ens fa estar per sobre de la mitja dels estudis publicats, encara que el nostre baix percentatge de diagnòstic de micrometàstasis, fa disminuir fins al 1.3% l'Up-Stage si només tenim en compte aquesta forma d'expressió del càncer de còlon a nivell ganglionar. Aquestes xifres modestes de detecció han estat

descrites en especial al realitzar SLN en neoplàsies de recte [170, 171] i en experiències inicials de la tècnica en d'altres grups [172].

Una explicació possible a aquesta característica del nostre estudi, vindria donada per l'alt número de ganglis identificats en les nostres peces quirúrgiques. Els tècnics del servei d'anatomia patològica van aconseguir una mitja de 24 ganglis per pacient amb una desviació estàndard de ± 9 ganglis. Aquestes xifres son clarament superiors a les publicades en la literatura [78] i van permetre la detecció de nombroses lesions tumorals amb tècniques convencionals. Per tan la tècnica del SLN es va aplicar després d'un estudi exhaustiu amb tècniques convencionals del territori ganglionar. Així la possibilitat de detectar malaltia ganglionar només en les fases més inicials (cèl·lules aïllades) va augmentar de forma considerable en la nostra sèrie.

Una altra possible explicació podria estar en relació a l'ús de l'anticòs anti-CK20. La expressió sembla estar limitada a les cèl·lules epitelials d'origen gastrointestinal a diferència d'altres queratines, com ara les queratines 8,

18 i 19 presents en cèl·lules mesoteli-als peritoneals. Per tan es tracta d'un marcador més específic i podria evitar possibles falsos positius. Messerini *et al* van obtenir menys d'un 10% de micrometastasis utilitzant aquesta citoqueratina, resultat força similar al nostre [173].

2.7 Significat clínic de la presència de micrometastasis i de cèl·lules aïllades en els ganglis limfàtics

Es podria considerar que en aquest apartat és on es suporta tota la hipòtesi sobre la tècnica del gangli sentinella en el càncer de còlon i la justificació per decidir la seva aplicació de forma sistemàtica.

És ben cert que l'efecte que pot provocar en la supervivència dels pacients la presència de micrometastasis o de cèl·lules aïllades en els seus ganglis limfàtics no ha quedat encara aclarit de forma definitiva. Existeixen múltiples estudis que indiquen una influència d'aquestes troballes com ha factors pronòstics, si bé d'altres no poden demostrar cap canvi en les taxes de supervivència. Molts d'aquest estudis estan realitzats amb

un número de pacients limitat i a més, les tècniques de detecció són diverses i no estandarditzades, el que fa que es puguin produir tan falsos negatius com falsos positius per detecció de cèl·lules epitelials sense capacitat de proliferació.

Amb tot, en una enquesta realitzada recentment a membres de la ASCO (American Society of Clinical Oncology) la majoria dels metges s'aventuraven a proposar tractament adjuvant a pacients en estadi II de la malaltia amb presència de micrometastasis ganglionars [174].

No està definida encara una tècnica Gold Standard per a la detecció de cèl·lules tumorals ocultes en els ganglis limfàtics [175]. Les tècniques immunohistoquímiques amb anticossos monoclonals són les més freqüentment utilitzades. S'ha posat en dubte la utilització d' anticossos policlonals, a causa del major risc de falsos positius. A més, segons alguns autors, l'ús de la molt específica CK20 podria donar lloc a una subestimació de la presència de cèl·lules tumorals ocultes amb una possible desdiferenciació. Paradoxalment, aquest fet no ha estat detectat en el nostre estudi.

D'altres recomanen l'ús d'anticossos monoclonals genèrics anti-citoqueratina com el Cam5.2. [176], encara que podria comportar un augment dels falsos positius. Addicionalment, es fonamental no confondre la presència de cúmuls de cèl·lules neoplàsiques a l'interior de ganglis limfàtics amb la identificació de dipòsits cel·lulars fora del teixit limfàtic, al greix pericòlic o al mesorecte. En aquesta segona situació, ha quedat demostrada la seva implicació com factor de mal pronòstic en l'evolució de la malaltia [177], i així queda ja reflectit com a estadi N1c en la setena versió de l'AJCC [141].

Les descripcions amb percentatges variables en la literatura de les micrometàstasis i de les cèl·lules neoplàsiques aïllades en els ganglis limfàtics, fa pensar que els criteris histològics utilitzats no han estat uniformes. En ocasions puntuals la seva detecció es pot realitzar per mètodes convencionals, i en la majoria de les ocasions per diverses tècniques (Imunohistoquímica, RT-PCR, ONSA) sense una clara estandardització [178, 179].

A més, les descripcions realitzades estan fetes sovint amb sèries curtes

de malalts, retrospectives i en ocasions sense diferenciar entre cèl·lules aïllades i micrometastasis [180].

L'aparició d'una metàstasi després de l'extirpació d'un tumor primari de còlon és un procés prou complex per poder considerar que la presència solament de cèl·lules neoplàsiques en els ganglis limfàtics pugui assegurar una recaiguda de la malaltia. En aquest sentit, es conegut que només un molt baix percentatge de cèl·lules tumorals presents al torrent sanguini, podran sobreviure i tenir capacitat d'implantació [181].

Per tan no podem assegurar que la identificació de malaltia neoplàsica en els ganglis dissecats comporti una seguretat per a la progressió de la malaltia, possiblement caldria considerar-ho només com a un factor a tenir en compte perquè pugui aparèixer el procés.

En el metanàlisi de Rahbari del 2011 [107] on inclou més de 4000 pacients extrets de 39 estudis, es conclou que la presència de malaltia neoplàsica ganglionar diagnosticada gràcies a immunohistoquímica o a RT-PCR comporta un augment del risc de recurrència del tumor. Amb tot, exis-

teix una disparitat de resultats observats en els diferents estudis. Una possible explicació podria ser justificada en part pel concepte de "Heterogeneïtat intratumoral". Hi ha evidència que la inestabilitat genòmica individual de les cèl·lules tumorals persisteix després de la disseminació metastàsica des del tumor primari, i que les alteracions genòmiques en aquestes cèl·lules tenen un major impacte pronòstic en comparació amb els de les cèl·lules del tumor primari [182]. Aquestes diferències genòmiques entre cèl·lules podrien fer variar la seva detecció segons la tècnica aplicada, i per tant modificar els resultats de diferents publicacions.

Segons els autors, els resultats d'aquest estudi animen a realitzar més esforços per identificar les possibles subpoblacions de cèl·lules tumorals presents als ganglis, que realment posin als pacients en risc de patir una recurrència de la malaltia.

Les crítiques a aquest estudi es fonamenten en que la majoria dels treballs analitzats no fan una clara diferenciació entre els diagnòstic de cèl·lules aïllades i el de micrometàstasi,

dificultat el seu anàlisi com factors pronòstics diferenciats.

Sloothaak va publicar l'any 2014 una nova revisió on només va incloure els estudis on es pogués diferenciar de forma clara entre micrometastasis i cèl·lules aïllades. Per complir aquest criteri, es van obviar estudis que no estiguessin basats en tècniques histològiques. Es va considerar que la utilització de RT-PCR comportava una alta sensibilitat per a la detecció de cèl·lules tumorals, però no podia discriminar entre cèl·lules mortes, restes cel·lulars tenyides i falsos positius. Els autors van seleccionar de la literatura 8 articles que complien aquests criteris. A més, només en 5 d'aquest és podia deduir la recurrència del càncer i la mortalitat global i la relacionada amb la malaltia neoplàsica. Per tant van basar les seves conclusions en només 5 publicacions [183], [184], [179], [185, 186]. En aquestes s'afirma que la presència de micrometastasis té una clara implicació en l'aparició de recidiva de la malaltia i en la mortalitat global dels pacients. En canvi, la identificació de cèl·lules aïllades no va mostrar cap canvi en la supervivència dels pacients.

Els resultats del nostre estudi mostren diferències significatives entre els pacients sense afectació neoplàsica macroscòpica dels ganglis i aquells on aquesta afectació ja es va detectar inicialment per tècniques convencionals. Respecte la supervivència global als 5 anys els pacients amb afectació ganglionar van tenir un 22.5% menys possibilitats de sobreviure i un 21% més de patir una recidiva de la malaltia. Aquests resultats segueixen la tendència descrita en la gran majoria dels estudis publicats fins a data d'avui [78]. Per contra, no es va trobar cap diferència entre els 19 pacients amb afectació microscòpica dels ganglis (quasi exclusivament per cèl·lules aïllades) i els que no tenien demostració de malaltia per cap de les tècniques. Com a dada addicional, l'única pacient amb presència de malaltia microscòpica en forma de micrometàstasis en el gangli sentinella del nostre estudi, va morir arrel d'una progressió limfàtica de la neoplàsia als dos anys de la cirurgia.

Les diferències en la supervivència van aparèixer només quan vam analitzar pacients afectats per macro-metàstasis en els ganglis limfàtics detectades per tècniques convencionals

(N1). Aquest subgrup de pacients va patir la pitjor evolució de la malaltia, comparant amb els altres grups.

Les nostres troballes han estat també descrites per estudis similars, on tampoc s'han demostrat cap impacte en la supervivència dels pacients amb afectació per cèl·lules aïllades en els seus ganglis [187, 173]. De forma oposada, Mescoli *et al.* van publicar un sèrie de 312 pacients on es va realitzar immunohistoquímica en tots els ganglis dissecats, sense procedir a multisecció. La presència de cèl·lules neoplàsiques aïllades en el si dels ganglis va ser un factor pronòstic de recidiva de la malaltia [169].

Existeix per tan en la literatura disparitat d'opinions, en relació a la significació pronòstica de les cèl·lules aïllades. Per desgràcia, l'únic estudi aleatori multicèntric dissenyat per analitzar l'impacte en la supervivència de la quimioteràpia adjuvant en pacients amb presència de les cèl·lules tumorals ocultes ha estat aturat recentment a causa de problemes en la inclusió dels pacients (En Route; NCT01097265) [188]. En canvi, es podria considerar que la tendència general va a favor de considerar les mi-

crometàstasis com a una forma de malaltia metastàsica i per tant, obliga a actuar clínicament en conseqüència. El nostre estudi aniria en la línia d'aquesta tendència.

2.8 Invasió venosa i angiolímfàtica

La invasió tumoral dels vasos limfàtics i els vasos sanguinis s'ha demostrat com a un factor pronòstic independent en els anàlisis multivariats, augmentant el risc de metàstasi ganglionars i de metàstasi a distància. En un estudi amb 703 pacients afectats per càncer colorectal es va indicar que la taxa de supervivència a 5 anys va ser significativament pitjor quan la invasió venosa va ser present. La invasió de les venes extramurals i les de mida major van tenir un pitjor pronòstic que la invasió venosa intramural i de les venes de menor calibre [142].

La identificació de cèl·lules neoplàsiques en les parets dels canalicles limfàtics, també ha estat descrita com a un dels factors pronòstics de mala evolució de la malaltia als 5 anys de seguiment. L'estudi d'aquesta característica histològica té especial interès en els estadis inicials d'afectació de la paret colònica (T1,T2) on la detecció

d'aquesta troballa és un factor clau per predir l'afectació neoplàsica del territori ganglionar [189, 190].

En la nostra sèrie de pacients la invasió venosa o la presència d'afectació neoplàsica angiolímfàtica, ha estat un factor de mal pronòstic en relació a la supervivència global. Les diferències no arriben per un escàs marge a la significació estadística, ben segur per falta de potencia estadística de la mostra. De la mateixa manera, el temps fins a la recidiva és menor en els pacients amb afectació dels seus vasos sanguinis o limfàtics, però les diferències són força menors i no arriben a ser significatives. Es obvi pensar que la presència de cúmuls cel·lulars en les parets dels vasos sanguinis, pot representar un primer pas perquè algunes formacions surtin a la circulació general i tinguin capacitat per implantar-se en òrgans a distància. Es per aquest motiu que la "American Society of Clinical Oncology" va incloure en les recomanacions per tractar amb teràpia adjuvant els pacients sense afectació ganglionar, la invasió venosa i la invasió angiolímfàtica [191].

2.9 Supervivència global i lliure de malalties dels diferents grups. Resultats bivariants i multivariants. Regressió de Cox

Un cop determinades les relacions entre l'afectació ganglionar i la supervivència dels pacients de la nostra sèrie, es imprescindible analitzar altres factors clínics associats a aquests malalts que hagin pogut influir en aquests resultats.

En aquest sentit es va valorar la comorbiditat present en el moment de la intervenció quirúrgica a través del càlcul de l'índex de Charlson [192]. Aquest índex de comorbiditat prediu la mortalitat als deu anys per a un pacient en relació a una sèrie de patologies associades, com ara malalties cardíques, la SIDA o les neoplàsies (un total de 22 condicions). Diferents equips han validat aquesta classificació i la seva utilització es descriu en múltiples estudis [144].

En el grup amb afectació ganglionar (N1) es van observar un valors significativament superiors d'índex de comorbiditat (3.7 punts) respecte als N0

(3.2) i als Up-Stage (2.6). En canvi no es van detectar diferències entre l'edat dels pacients ni en els risc Anestèsic ASA dels diferents grups.

Aquestes diferències podrien justificar en part la pitjor supervivència del grup N1, encara que evidentment els factors associats a la neoplàsia van jugar també un paper destacat. De fet les màximes diferències es troben entre els N1 i els Up-Stage i no entre els N1 i els N0, que van ser els grups amb la major discrepància entre la supervivència global als 5 anys (65.4% i 87.9% respectivament)

Si analitzem el percentatge de pacients lliures de malaltia als 5 anys, aquest és clarament major en els grup N0 i Up-Stage, atribuït un clar efecte als factors associats a la neoplàsia molt més que a les comorbiditats. Aquestes diferències es troben fregant la significació estadística amb només un percentatge lliure de tumor del 69% en el grup N1, mentre que a la resta de grups es troba al voltant del 90%.(veure resultats a la pàgina 90).

Si compararem les característiques histològiques de les neoplàsies dels pacients, només s'objectiven obvies

diferències en l'afectació ganglionar i en el percentatge d'afectació angio-limfàtica i venosa del grup N1. Aquesta factor pot representar una característica de les neoplàsies amb una major capacitat per metastatitzar als ganglis limfàtics o fins i tot per via hematògena.

No van existir diferències significatives entre els estadiatge T dels diferents grups.

Complicacions greus com la dehiscència de sutura en el període postoperatori, han estat descrites com a factors que podem empitjorar el pronòstic a llarg termini per augment de la recidiva local al afavorir l'angiogènesi neoplàsica en el llit quirúrgic [193]. En el nostre estudi, es va observar un nombre baix de complicacions aparegudes en els grups N1 i Up-Stage, amb una tendència a l'augment en el grup N1. Amb tot no es van poder demostrar diferències significatives entre els grups.

El tractament quimioteràpic adjuvant és un altre factor estudiat per avaluar la seva possible incidència en la supervivència dels malalts amb càncer de còlon [194].

Els nostres resultats indiquen que la tendència d'aquest subgrup de pacients és a patir més recidiva tumoral però sense diferències significatives respecte els que no han rebut tractament. No existeixen diferències en quan a supervivència dels dos grups de pacients, interpretant-se com que el tractament amb quimioteràpia aplicat a pacients que patien factors coneguts de mal pronòstic, permet equiparar la supervivència amb aquells que no els patien en el moment de la cirurgia.

En conclusió, el nostre estudi mostra que l'anàlisi *ex vivo* dels ganglis limfàtics sentinella en el càncer de còlon és una tècnica factible, fàcil de realitzar i que augmenta només moderadament la necessitat de procediments per al processament i l'estudi ganglionar respecte als mètodes tradicionals. Aquesta tècnica, permet sobre estadificar al voltant d'un terç dels pacients N0 on l'afectació ganglionar ha estat passat per alt per tècniques convencionals. No obstant això, el pronòstic per als pacients amb cèl·lules aïllades detectades per aquesta tècnica no és pitjor en comparació amb els pacients sense afectació dels ganglis limfàtics sentinella(N0).

La presència de cèl·lules tumorals aïllades només en els ganglis limfàtics sentinella no és de rellevància clínica per a la supervivència a llarg termini i per tant no ha de ser un factor en la decisió d'un possible tractament postoperatori. Tot i això, la tècnica pot ser útil en la detecció de grups de cèl·lules neoplàsiques amb un possible impacte negatiu en la supervivència global. És per aquest motiu que caldria plantejar la seva implantació de forma rutinària en el protocols de tractament quirúrgic de la malaltia.

3. TRANSFUSIÓ PERIOPERATÒRIA EN LA CIRURGIA DEL CÀNCER DE CÒLON

El possible efecte de la transfusió d'hemoderivats en els pacients intervinguts per patir algun tipus de neoplàsia, ha estat estudiat des de fa més de tres dècades.

Els primers indicis van aparèixer en models animals [110] i posteriorment va ser Gantt l'any 1981 [195] el primer a relacionar un empitjorament del pronòstic dels pacients amb neoplàsies sòlides amb l'antecedent de la transfusió sanguínia. La seva tesi estava basada en dos possibles mecanismes. En aquell moment s'especulava sobre l'efecte de la immunosupressió

induïda per la transfusió i la presència de freqüents reaccions post-transfusionals (fins a un 20% del casos) que podrien comportar conseqüències en forma de transmissió d'infeccions i de reaccions immunològiques [196]. Aquest dos processos podrien influir en l'evolució de la malaltia tumoral.

Actualment existeixen dues tendències força clares per respondre al fet que els pacients afectes de neoplàsia de còlon que hagin rebut una transfusió sanguínia, tinguin més possibilitats de patir una recidiva de la malaltia que aquells sense transfusions prèvies [120].

La primera hipòtesis (majoritària en la literatura) basa l'efecte perjudicial de la transfusió per les alteracions immunològiques que aquesta pot provocar en les pacients afectes de càncer de còlon.

Avui en dia coneixem que la resposta immunitària als tumors té força similituds amb la que apareix en front a l'exposició a patògens o a antígens externs a l'organisme. Si analitzem amb deteniment un tumor sòlid, una gran multitud de cèl·lules immunitàries diferents poden ser detectades en

funció de diversos factors de l'hoste i del propi tumor. Moltes d'aquestes cèl·lules poden tenir tant efecte anti-tumoral com afavoridor de la progressió de la malaltia, depenent del context en què es troben. Fins i tot diversos grups han definit la presència d'alguns tipus cel·lular a l'interior de les peces tumorals com a factor pronòstic. En concret la identificació de cèl·lules T de memòria (CD3 + CD45RO +) i de cèl·lules T CD8 + han demostrat predir millors supervivències en pacients amb càncer colorectal [197].

La existència d'aquesta reacció immunològica en contra del càncer de còlon, faria més plausible la premissa que una alteració deguda a la transfusió sanguínia podria també provocar una alteració en la història natural del tumor.

Existeix per altra banda, la hipòtesi que emfatitza en els condicions associades a la transfusió de sang com els factors que realment poden empitjorar la supervivència global i els índex de recidiva neoplàsica. En aquest sentit, tan les malalties de base dels pacients que puguin alterar el seu estat hemodinàmic (en especial d'origen

cardio-vascular) o les dificultats apargudes durant la cirurgia per la presència de tumors amb una major agressivitat, podrien fer que la transfusió es convertís en un factor associat més que un factor causal per se [113].

3.1 Percentatge de transfusions durant el període perioperatori.

Estan descrits percentatges molt variables de transfusions en pacients afectes de càncer colorectal, arribant fins als 73% en sèries on existia una alta proporció de pacients amb malaltia localment avançada [198]. Amb tot, la mitjana de transfusió segons el metanàlisi d'Amato està al voltant del 62% [120]. Un altre estudi analitzant 29 publicacions on es reportava l'efecte de la transfusió en pacients amb càncer de còlon i recte, va observar una gran disparitat en la proporció de transfusions, detectant percentatges que anaven del 17.4% fins al 82.2% [199]. Aquesta gran disparitat en la indicació de transfusió també s'observa en altres patologies com en la cirurgia cardíaca [200] o en la cirurgia ortopèdica de recanvi de maluc i de genoll [201], demostrant la falta

d'un consens internacional per a la indicació d'administració d'hemoderivats.

En el nostre estudi, el percentatge de transfusió va ser significativament inferior als descrits en la literatura, ja que es van transfondre només 44 pacients del 177 estudiats. Això significa que el percentatge global de transfusió va ser del 24.8%. A més, només en un 10% es va requerir la transfusió de més de 2 concentrats d'hematies.

Les possibles explicacions a aquestes diferències poden ser diverses.

Un dels principals factors ha tenir en compte és el moment de realització dels estudis. Una gran majoria dels analitzats per Amato es van publicar als anys '90, quan els mètodes de diagnòstic precoç estaven encara en fase inicial i el percentatge de tumors amb més agressivitat local era superior. A més, es evident que amb els anys la política de transfusió s'ha fet cada cop més racional i restrictiva al conèixer les possibles complicacions que es poden derivar de la mateixa [202].

Tanmateix, alguns autors han postulat la possibilitat que les tècniques míni-

mament invasives permetin una cirurgia menys agressiva amb unes menors necessitats de transfusió. Dos estudis han analitzat les diferències en la transfusions comparant la cirurgia oberta i la laparoscòpia en el càncer de còlon [203, 204]. En el primer les diferències van ser mínimes a favor de la laparoscòpia (5,4% vs 6%) mentre que en el segon sí que es van detectar majors diferències però sense significació estadística (11,6% vs 17,6%). En la nostra sèrie, el percentatge de cirurgia laparoscòpica és superior al d'altres grups, realitzant-se el 60.5% dels casos per via laparoscòpica. Aquest fet podria condicionar de forma parcial una menor transfusió dels pacients.

Per altra banda, el protocol del nostre centre va incloure un estudi preoperatori exhaustiu dels pacients que requerien cirurgia electiva de càncer de còlon. La detecció de xifres d'hemoglobina per sota de 10 g/L, va determinar l'administració de teràpia amb ferro oral i en algunes ocasions per via endovenosa. Aquests tractaments precoços podrien haver evitat la transfusió dels malalts durant la intervenció.

Fins i tot en ocasions puntuals, va ser necessària la transfusió sanguínia setmanes prèvies a la cirurgia. Aquests casos no han estat recollits en el nostre estudi com a transfusions perioperatòries i poden provocar que els percentatges de transfusió reportats siguin lleugerament inferiors als detectats per altres publicacions.

3.2 Possibles alteracions immunològiques provocades per la transfusió

Dins de l'estudi dels factors que poden afavorir el creixement tumoral, recentment s'ha posat el punt d'atenció en l'anàlisi de la matriu extracel·lular tumoral.

Un component crític d'aquest microambient extern a la cèl·lula neoplàsica és el sistema immunològic, atorgant-se cada cop amb més força un paper destacat en la prevenció o l'afavoriment en el desenvolupament tumoral [205].

El que quedaria per definir seria quina repercussió real podria provocar en la història natural del càncer de còlon les alteracions immunològiques que provoca tota transfusió sanguínia.

3.3 Possible efecte de la transfusió sobre el creixement tumoral

L'administració de productes derivats de la sang causa efectes negatius sobre el sistema immunitari humà, una condició anomenada modulació immune relacionada amb la transfusió. Aquest fet té un efecte tan evident, que en ocasions va ser utilitzat per evitar el rebuig després del transplantament renal, quan encara no estaven desenvolupades teràpies immunomoduladores prou eficients [206].

En primer lloc, l'emmagatzematge dels productes sanguinis pot provocar canvis a nivell cel·lular amb un possible efecte negatiu sobre l'organisme. Encara que la reducció de leucòcits prèvia a la conservació de la sang, aconsegueix avui en dia una reducció quasi total dels glòbuls blancs que es poden detectar en els concentrats d'hematies, una mínima persistència d'aquestes cèl·lules pot modular la resposta immune del receptor. A més dels leucòcits residuals, les unitats de sang també contenen lípids no polars i una barreja de subs-

tàncies pro-inflamatòries com les lisofosfatidilcolines que modulen l'activitat dels limfòcits T i de les Natural Killer [166].

Sembla ser que el temps d'emmagatzematge també pot jugar un paper destacat. En un estudi amb animals, es va demostrar com la transfusions de sang extreta feia més de 9 dies, augmentava la progressió tumoral, mentre que la sang fresca, no va provocar cap efecte. Les hipòtesis proposades per justificar aquestes observacions estan en relació a diverses respostes immunològiques (activitat de les cèl·lules Natural killer), l'alliberament dels lípids de membrana per degradació d'aquesta i altres mecanismes com la hipòxia local que provocaria l'aparició de factors angiogènics en els concentrats d'hematies [207]. És per tant plausible pensar que la transfusió de eritròcits emmagatzemats, poden crear un entorn favorable per a la progressió tumoral a través d'una resposta immunològica i també per l'efecte angiogènic tumoral de la hipòxia tissular.

Paradoxalment, no existeixen assajos clínics que puguin corroborar aquestes hipòtesis. En un estudi amb 740

pacients intervinguts per patir càncer de colon i recte, es va comparar la supervivència d'aquells que havien estat transfosos amb sang emmagatzemada més o menys de 21 dies. Es van detectar diferències en la recurrència del tumor entre l'administració o no de sang, però no en relació al temps d'emmagatzematge de la mateixa [208].

Altres estudis identifiquen els eritròcits més que els leucòcits com els implicats en els possibles efectes negatius en la progressió tumoral. En un estudi prospectiu randomitzat, Van de Watering no va trobar cap diferència si s'administrava concentrats d'hematies sense leucòcits o amb la presència d'aquest en la supervivència global als 5 anys o la recurrència de pacients amb càncer colorectal [209]. Aquestes troballes han estat corroborades per altres estudis de tipus retrospectiu que van trobar una associació entre la transfusió de sang perioperatòria i la pitjor evolució en pacients amb càncer colorectal, encara que el temps d'emmagatzematge de la sang no va ser un factor pronòstic [210].

Per tant, encara que existeix una base teòrica per justificar el possible efecte afavoridor de la transfusió en el creixement tumoral, només estudis experimentals en animals han aconseguit demostrar aquesta hipòtesi i no hem identificat cap estudi conclouent realitzat en pacients.

3.4 Possibles diferències entre la autotransfusió i la transfusió al·logènica

Existeixen tres tipus de autotransfusió autòloga, el dipòsit previ a la intervenció, l'hemodilució pre-operatòria aguda, i el rescat cel·lular; essent els dos últims procediments de reposició immediata poc utilitzats en cirurgia de còlon. Els beneficis de la transfusió autòloga són evidents ja que disminueixen la probabilitat d'adquirir una malaltia infecciosa, s'elimina la possibilitat que existeixi incompatibilitat per al·loanticossos, i s'eviten les reaccions immunes a sang al·logènica, com l'anafilaxi i sensibilització a anti-cossos. A més redueix la dependència a les donacions de sang i aquest concentrats poden ser utilitzats per altres pacients si finalment no és necessària la transfusió [199].

Les suposades alteracions immunològiques que provoca la transfusió de concentrats d'hematies heteròlegs, poden ser teòricament eliminades si es realitza un programa d'autotransfusió sanguínia en pacients amb altes probabilitats de rebre una transfusió durant l'acte quirúrgic. Amb aquesta base es podria deduir que l'efecte afavoridor del creixement tumoral quedaria eliminat al realitzar transfusions autòlogues.

Per intentar demostrar aquesta suposició, Harlaar i col·laboradors es va plantejar un estudi multicèntric prospectiu randomitzat amb pacients afectes de neoplàsia de còlon i recte [211, 212]. Els resultats obtinguts van demostrar que la transfusió de sang autòloga no va fer millorar la supervivència ni va reduir la taxa de recurrència en pacients amb càncer colorectal.

Si que es va detectar que el risc de recidiva local es va associar a la necessitat de transfusió, independentment del tipus de sang emparada. Per tant, la possible associació entre transfusions sanguínies i el pronòstic del càncer colorectal és el mateix per

transfusions al·logèniques com per sang autòloga.

A les conclusions de l'estudi, es plantejaven que no era la pròpia transfusió, sinó més aviat les circumstàncies que requereixin la mateixa els determinants reals del pronòstic dels pacients. L'augment de la recidiva local es podria explicar per les dificultats tècniques presents en el moment de la cirurgia, que podrien provocar una major hemorràgia i necessitat de transfusió.

Heiss i col·laboradors van plantejar també un estudi randomitzat amb pacients afectes de neoplàsies de còlon i recte. De la mateixa manera, el grup control es considerava als pacients que durant l'acte quirúrgic se'ls hi va realitzar una autotransfusió de com a màxim dos concentrats d'hematies [213]. Després d'una mitjana de seguiment de 22 mesos, la recurrència del tumor es va observar en el 28,9% del grup de sang al·logènica i el 16,7% del grup de sang autòloga. Amb tot, quan s'analitzà la necessitat de transfusió dels grups, el 60% del grup amb sang heteròloga van requerir transfusió, mentre que només el 33% de grups

amb autotransfusions. A més, es va detectar un alt percentatge de pacients d'aquest últim grup que van necessitar transfusions addicionals de sang heteròloga. Tot fa pensar un cop més, que els pacients amb cirurgies més complexes i tumors més avançats van ser els que van rebre un major número de transfusions i van evolucionar amb una pitjor supervivència.

El mateix grup uns anys després van plantejar la possibilitat que la pròpia sang autòloga també provoques algun tipus d'alteracions immunològiques que pogués influir amb la història natural de les neoplàsies, però aquest fet no ha estat corroborat per altres estudis [214].

Es podria considerar que malgrat una reducció en l'administració de sang al·logènica pot tenir diversos beneficis, no hi ha cap raó des del punt de vista oncològic per utilitzar sang autòloga en els pacients amb càncer de còlon. El nostre estudi confirma que la transfusió al·logènica no provoca un efecte independent que influènci en la supervivència ni recurrència de les neoplàsies de còlon.

3.5 Efecte del número de concentrats sobre la

supervivència global i la recidiva.

Diferents estudis han postulat la possibilitat que els efectes deleteris de la transfusió de concentrats d'hematies segueixin una relació proporcional amb el número d'unitats administrades. L'evidència més forta en aquest sentit la va aportar Amato en el seu metanàlisi, indicant que el risc de recurrència del càncer augmentava en 40%, 69% i 102% després de 1-2 [OR, 1,40], 3-4 [OR, 1,69] i més de 5 [OR, 2,02] unitats de concentrats d'hematies, respectivament[120]. En contrast, grans quantitats de sang transfosa (més de 8 unitats) han estat associades amb una menor supervivència global després de cirurgia per càncer d'esòfag, però no amb un major risc de recurrència [215].

En el nostre estudi, al realitzar l'anàlisi univariant de supervivència lliure de malaltia, vàrem detectar diferències estadísticament significatives entre els pacients transfosos i els pacients que no van rebre cap transfusió. Els pacients transfosos van mostrar una supervivència lliure de malaltia més curta, encara que el nombre d'unitats de sang administrades no va influir en la

recidiva de malaltia. També es van observar diferències significatives en la supervivència global quan es van comparar els grups, detectant que les transfusions de sang van afectar la supervivència global, però no es va trobar cap influència en el nombre d'unitats administrades. Aquestes dades permeten especular que el nombre d'unitats transfoses pot dependre de la complexitat de la cirurgia i de la agressivitat local del tumor. La possible penetració en capes més profundes de la paret colònica o l'invasió d'estructures veïnes, faria que els pacients amb estadis tumorals superiors tinguessin més probabilitats de tenir un mal pronòstic independentment el nombre d'unitats transfoses. Es probablement per aquest motiu, que al realitzar l'anàlisi multivariant ajustat per les variables amb significació estadística, la transfusió sanguínia no té cap efecte per si sola en la supervivència global i en la lliure de malaltia. Aquests resultats farien pensar que la transfusió sempre està associada a altres factors amb un efecte significatiu de forma independent (índex de Charlson elevat, invasió ganglionar, estadi T més avançat, CEA preoperatori elevat i necessitat

de laparotomia) i es per tan un factor associat a altres factors de mal pronòstic, però no condiciona una mala evolució per si sol. Els nostres resultats han estat corroborats per altres estudis similars publicats recentment. Concretament, en un estudi realitzat a Saint Gallen (Suïssa) l'any 2013 [216], es van analitzar 307 pacients intervinguts per neoplàsies de còlon en estadis I, II i III. En l'anàlisi univariant, la transfusió de sang es va associar amb un augment del 90% de risc en la mortalitat global. La taxa de supervivència global als 5 anys per als pacients que van rebre una transfusió de sang va ser 64,5%, en comparació amb el 80,1% en els pacients amb càncer de còlon que no van ser transfosos. Altres predictors de supervivència global van ser l'edat, el gènere, l'índex ASA, estadi TNM, i el tipus de cirurgia. Després d'ajustar els factors amb l'estudi multivariant, el risc de mortalitat global que es va associar amb la transfusió no va aconseguir significació estadística. Al realitzar l'anàlisi de supervivència associats a recidiva, les conclusions van ser les mateixes. Així doncs, de forma similar al nostre estudi, la transfusió tampoc es va considerar com un factor inde-

pendent associat a la supervivència o la recidiva tumoral dels pacients. Els mateixos autors en un estudi diferent van realitzar l'anàlisi en 401 pacients intervinguts per patir càncer de recte. També en aquesta ocasió van arribar a la mateixa conclusió, donant a la transfusió sanguínia un paper de factor associat a d'altres característiques dels pacients que realment eren les que provocaven un empitjorament del seu pronòstic [113]. Ja en la dècada dels 90, alguns estudis arribaven a les mateixes conclusions. Concretament, en un estudi retrospectiu realitzat a la Clínica Mayo amb més de 1000 pacients, conclouien que les transfusions a pacients amb càncer de còlon no van tenir impacte en la recurrència de la malaltia. L'impacte negatiu observat en la supervivència dels pacients va estar relacionat amb d'altres variables associades al tumor o a les malalties subjacents del pacients [217].

Altres autors han reportat resultats similars en diferents neoplàsies. En pacients intervinguts per colangiocarcinoma amb intenció curativa, després de realitzar l'ajust per diferents variables, l'administració de sang perioperatòria no va influir en la su-

pervivència global ni en la lliure de malaltia [143]. Els autors també conclouen que l'associació entre la transfusió de sang i els pitjors resultats oncològics no va ser deguda a la transfusió de sang en si, sinó més aviat amb les circumstàncies clíniques que van obligar a la transfusió.

Però, no tots els estudis més recents segueixen els mateixos postulats. Acheson i col·laboradors van realitzar una revisió sistemàtica de la literatura fins l'any 2012 en relació a l'efecte que provocava la transfusió en la supervivència del càncer de còlon i recte[199]. Van incloure 55 estudis, dels quals només 12 eren prospectius, classificant-se la resta com a retrospectius. La majoria d'aquest es van realitzar a la dècada dels 90, amb un alt percentatge d'estudis amb un número de pacients limitat (inferior a 150). D'aquest 55 estudis, només 29 (la gran majoria retrospectius) reportaven de forma clara un anàlisi de les causes de mortalitat i de recidiva i per tan van servir per extreure les conclusions. Analitzant totes aquestes publicacions, els autors dedueixen que és prudent suposar que fins i tot acceptant l'alta presència de factors adversos observats en els pacients transfo-

sos sotmesos a cirurgia colorectal, la transfusió de sang és pot considerar un d'aquests múltiples factors que contribueixen a una pitjor supervivència global i un pitjor índex de recidiva.

El major meta-anàlisi dut a terme a data d'avui es fa pel grup Cochrane en 2011 que va incloure assaigs controlats aleatoris, juntament amb els estudis observacionals prospectius i retrospectius [120]. El efecte de les transfusions de sang perioperatòria en la recurrència en els estudis aleatoris mostra una associació moderada entre la transfusió de sang perioperatòria i un major risc de recurrència en pacients amb càncer colorectal operats amb intenció curativa. Les anàlisis que impliquen factors relacionades amb la transfusió van mostrar que les recurrències van ser més freqüents amb les transfusions, independentment del tipus de producte de sang utilitzat. També van mostrar una relació dependent de la dosi, amb tres o més unitats de sang transfosa gairebé duplicant el risc observada amb una o dues unitats. Tot i això, l'heterogeneïtat dels estudis i la incapacitat per esbrinar l'efecte de la tècnica quirúrgica en els resultats, no va permetre

als autors determinar una relació causa – efecte definitiva.

Com a resum, es podria considerar que existeix una base teòrica per associar a la transfusió sanguínia amb alteracions immunològiques que puguin afavorir el desenvolupament de les neoplàsies. Amb tot, només estudis en animals i estudis humans retrospectius i de moderada qualitat han pogut demostrar aquesta relació. En la mateixa direcció que els nostres resultats, existeix una tendència en l'actualitat a relacionar la transfusió amb els factors de mal pronòstic que obliguen a la seva administració, atorgant-li un paper de factor associat no independent.

3.6 Xifres d'hemoglobina i complicacions perioperatòries

L'anèmia és una de les manifestacions extraintestinals més freqüents de càncer colorectal, i pot estar present entre 30% -75% dels pacients [218]. La deficiència de ferro preoperatòria ha estat associada amb la presència de la malaltia en fases més avançades i a una pitjor evolució dels pacients [219].

Nombroses publicacions suggereixen que les xifres baixes d'hemoglobina preoperatòria semblen ser un factor de risc per a l'aparició de resultats postoperatoris adversos. En un estudi retrospectiu obtenint les dades de 23.348 colectomies obertes i laparoscòpiques electives als Estats Units [220] es va analitzar l'aparició de complicacions com l'infart de miocardi, l' accident cerebrovascular, insuficiència renal aguda o la mortalitat en els 30 dies posteriors a la cirurgia. En comparació amb els pacients no anèmics, aquells amb anèmia greu o moderada eren més propensos a tenir majors complicacions i augmentar la seva estada hospitalària. Només l' infart de miocardi no es va associar de forma significativa amb l'anèmia pre-operatòria.

Els nostres resultats no aporten unes diferències estadísticament significatives en relació a les xifres d'hemoglobina en el moment de la intervenció i els índex de recidiva o supervivència global. Al realitzar l'estudi univariant, els resultats estan propers a la significació, en especial al estudiar la supervivència lliure de malaltia. Amb tot, aquestes diferències no apareixen quan realitzaren

l'estudi multivariant. Un cop més hem de penjar que les xifres d'hemoglobina, igualment que la transfusió, són un factor associat a la mala evolució dels malalts. No queda clar en la nostra sèrie si l'anèmia per se pot jugar algun paper per si sola en l'evolució dels pacients amb càncer de còlon.

Els resultats obtinguts pel nostre estudi posen en dubte l'efecte directe de la transfusió de sang al·logènica en la recaiguda del càncer i la supervivència global. La nostra població estava formada per pacients amb edats i malalties associades similars a altres estudis analitzats en el mateix període [129, 133]. Més del 50% dels pacients obtenien un índex ASA 1 o 2, amb una mitjana d'índex de Charlson de 2,9 punts. Un percentatge alt de l'abordatge quirúrgic va ser realitzat per laparoscòpia, especialment en el grup sense transfusió. Si analitzem factors de risc independents que van afectar la supervivència l'edat, l'índex de Charlson i els nivells de CEA van obtenir diferències significatives. Factors quirúrgics i histològics associats van ser el nombre de ganglis limfàtics afectats pel tumor, la invasió angio-limfàtic, l'abordatge per laparotomia i

la transfusió de sang perioperatòria. Si ens centrem en factors de risc independents que van afectar la recurrència, l'estadi tumoral, l'afectació ganglionar, la invasió angio-limfàtica, l'abordatge per laparotomia i la transfusió van mostrar diferències en l'estudi bivariant. Quan vàrem realitzar l'anàlisi multivariat ajustant per factors que afecten a la decisió de la transfusió, la transfusió durant el període perioperatori, no va obtenir significació estadística en l'anàlisi.

Els resultats del nostre estudi prospectiu posen en dubte la hipòtesi que la transfusió de glòbuls vermells sigui un factor de mal pronòstic en el càncer de còlon. Aquestes troballes poden ser interpretats en el sentit que els pacients que van requerir transfusió de sang (grups B i C), encara que mostren factors de comorbiditat similars, expressen diferències patològiques significatives amb els pacients no transfosos (grup A). En els grups B i C, es va detectar un nivells preoperatoris de CEA significativament més alts i un alt percentatge de tumors en estadi T4. A més, es va observar invasió neural i invasió angiolimfàtica més sovint en aquests grups. Tots aquests condicionats són factors de mal pro-

nòstic descrits prèviament en la literatura [33] i podrien influir per se en l'evolució del procés neoplàsic, i per tant determinar un biaix en els grups.

En resum, la transfusió al·logènica d'eritròcits s'associa en la nostra sèrie a pacients amb major edat amb comorbiditats i a tumors amb major invasió local amb característiques histopatològiques pitjors. Els resultats de l'estudi multivariant indiquen que la transfusió no es un factor independent de mal pronòstic. Això suggeriria que la transfusió podria ser considerat com un factor circumstancial més que un factor de mal pronòstic en el temps lliure de la malaltia i la supervivència a llarg termini de càncer de còlon. Aquesta conclusió és recolzada pels resultats similars exposats en altres estudis publicats prèviament en la literatura i d'alguna manera va en la direcció oposada als meta-anàlisis publicats fins a la data.

Per tant, la possibilitat d'empitjorament de la supervivència lliure de malaltia i la supervivència a llarg termini, no ha de ser un factor a tenir en compte quan es planteja la transfusió de sang al·logènica en un pacient amb càncer de còlon. No obstant

això, evitar les transfusions de sang innecessàries és essencial a causa d'altres factors no analitzats en aquest estudi, com el cost econòmic, la possible al·loimmunització i l'augment de la taxa d'infecció postoperatòria.

4. CIRURGIA LAPAROSCÒPICA COM A POSSIBLE FACTOR PRONÒSTIC EN EL CÀNCER DE CÒLON NO METASTÀSIC.

Jacobs i Verdeja van publicar l'any 1991 per primer cop una sèrie amb vint casos de reseccions laparoscòpiques en pacients amb patologies colòniques entre elles el càncer de còlon [122]. Aquest fet es va donar només 4 anys després de la descripció de la primera colecistectomia laparoscòpica [221]. Aquest auge de la cirurgia mínimament invasiva va provocar que molts cirurgians s'iniciessin amb un cert entusiasme a realitzar tècniques laparoscòpiques en pacients amb càncer de còlon, buscant els avantatges a curt termini descrits en la colecistectomia laparoscòpica. Però només tres anys més tard, Berends *et al.* van publicar una sèrie curta de malalts amb la presència en el 21% del casos (3 de 14) de metàstasi en cicatrius dels trócars de treball (les conegudes posteriorment com a "Port

Site Metastasis") [222]. A partir de llavors, es van activar totes les alarmes en relació als procediments per via laparoscòpica en pacients amb patologies neoplàsiques, i fins i tot es van replantejar mots programes engegats en aquesta direcció. En aquell moment es va valorar la possibilitat que la cirurgia laparoscòpica s'associés a una complicació greu pròpia de la tècnica, encara que estaven descrits implants ocasionals en laparotomies. La seguretat oncològica de la colectomia laparoscòpica per al càncer va ser objecte de debat i va obligar a posar en marxa estudis a gran escala per avaluar la seva seguretat i eficàcia a curt i llarg termini. Per aquest motiu als anys 90 es van iniciar quatre assajos clínics per comparar la cirurgia laparoscòpica i la cirurgia oberta per al càncer de còlon: als EUA l'estudi COST [223], al Regne Unit el MRC CLASICC [224], a l'Hospital Clínic de Barcelona el Barcelona Trial [225] i als Països Baixos el COLOR [129]. Un cop publicats aquests estudis, els que van informar de l'aparició de Port Site Metàstasis no van reportar taxes estadísticament diferent entre els grups per a la procediments laparoscòpics i oberts

[226]. En la nostra sèrie només es va detectar un cas d'implant en una cicatriu d'un tròcar (1/177 ; 0.56% dels casos), xifres semblants a les publicades per implants a les laparotomies [227].

4.1 Els estudis multicèntrics en relació al càncer de còlon per laparoscòpia

A les referències bibliogràfiques en relació als resultats a curt termini, les taxes de mobilitat global i mortalitat postoperatòries no difereixen de forma significativa entre els grups laparoscòpics i els pacients intervinguts per laparotomia. Tots els estudis publicats coincideixen a afirmar que encara que les reseccions laparoscòpiques requereix un major temps quirúrgic, de forma global s'associen amb una menor pèrdua de sang, una millor preservació de la funcionalitat respiratòria, amb una restauració més ràpida del trànsit intestinal, amb un millor control analgèsic i una menor estada hospitalària [131].

Amb tot, el que ens interessa més per a la nostra discussió, són els resultats obtinguts a llarg termini. El primer estudi prospectiu randomitzat publicat que va comparar la supervivència

entre laparoscòpia i laparotomia en la resecció del càncer de còlon va indicar que la supervivència relacionada amb el càncer s'estimava millor en els pacients intervinguts per laparoscòpia en l' estadi III de la malaltia [225].

Després d'aquests resultats de l'Hospital Clínic de Barcelona, que en certa forma es van considerar sorprenents, l'Associació Europea de Cirurgia Endoscòpica (EAES) va realitzar una conferència de consens on es van presentar una sèrie de conclusions basades en l'evidència:

- Es va establir que l'edat avançada, l'obesitat i les cirurgies prèvies no es consideraven contraindicacions absolutes per a la cirurgia de càncer de còlon laparoscòpic.
- Els temps quirúrgics de la laparoscòpia estan augmentats respecte a la cirurgia oberta,
- Els resultats són similars en termes de mida de la peça quirúrgica i l'examen patològic.
- La morbiditat postoperatòria és comparable entre la cirurgia laparoscòpica i oberta.
- Els pacients operats per via laparoscòpica van tenir menys dolor postoperatori, la funció pulmonar es va preservar millor, el trànsit intestinal es va restablir abans i les altes van ser més precoces.
- La resposta a l'estrès postoperatori va ser menor després de la colectomia laparoscòpica.
- La incidència de les Port Site Metastases es <1%.
- Els costos de la cirurgia laparoscòpica per al càncer de còlon van ser superiors als de la cirurgia oberta.
- La supervivència després de la resecció laparoscòpica de càncer de còlon sembla ser almenys igual a la supervivència després de la resecció oberta [127].

L'any 2004, els resultats obtinguts en diferents hospitals dels Estats Units (estudi COST) van ser publicats [228]. Es va considerar que els procediments per via laparoscòpica no eren inferiors a la cirurgia oberta ja que la incidència acumulada de recidiva no va mostrar diferències significatives entre els

2 procediments ($p = 0,32$). No es van detectar tampoc diferències en la supervivència global ni en la lliure de malaltia. ($p = 0,70$). Tres anys després es van publicar els resultats amb un seguiment als 5 anys, confirmant els resultats previs [223].

En aquest mateix any, Jayne van presentar els resultats a llarg termini de l'estudi multicèntric CLASICC [229]. L'objectiu va ser avaluar la supervivència global, la supervivència lliure de malaltia i recidiva local als 3 anys en pacients amb càncer de còlon tractats amb cirurgia laparoscòpica o oberta. En aquest estudi també es van incloure pacients amb neoplàsies de recte. En referència al càncer de còlon, les taxes de recidiva local van ser del 7,3% amb laparoscòpia i un 6% amb la cirurgia oberta ($p = 0,68$). Amb una supervivència global als 3 anys i lliure de malaltia sense diferències entre els grups.

L'any 2008 el grup del Dr Lacy a l'hospital Clínic va presentar els resultats a llarg termini del l'assaig Barcelona publicat feia 6 anys enrere. Després de 3,5 anys de seguiment, la mortalitat relacionada amb el càncer era del 9% amb laparoscòpia i el 21%

amb la cirurgia oberta ($p = 0,03$) i després d'una mitjana de seguiment de 8 anys, la taxa va ser de 16% i 27%, respectivament, ($p = 0,07$). Avaluant per estadiats tumorals, els pacients amb estadi III presentaven una mortalitat relacionada amb el càncer amb diferències estadísticament significatives entre els grups. La recurrència de la malaltia va ser major en el grup de laparotomia sense aconseguir significació estadística [133].

Encara que han estat plantejats una sèrie de possibles biaixos en el seu disseny (la definició de no inferioritat de la laparoscòpia amb diferències menors de 15% de supervivència o els diferents percentatges de tractament adjuvant entre els grups) [226], aquest estudi s'ha convertit en l'únic de les seves característiques que aporta una superioritat evident del grup de la laparoscòpia.

En els resultats definitius publicats de l'estudi Europeu (COLOR) [129] la supervivència lliure de malaltia als 3 anys, va ser 74,2% amb el procediment laparoscòpic i el 76,2% en la cirurgia oberta. La supervivència global ser 81,8% després de la laparos-

còpia i el 84,2% després d'obert cirurgia ($p=0,45$).

Un metanàlisi força interessant ha combinat les dades individuals de tots pacients inclosos als estudis COLOR, COST, CLASICC i l'assaig de Barcelona (amb un total de 1.536 malalts). La supervivència global als 3 anys (82,2% v. 83,5%, $p=0,56$) i la supervivència lliure de malaltia (75,8%v. 75,3%, $p=0,83$) van ser similars entre laparoscòpica i laparotomia. Un estudi de la Cochrane de l'any 2008 ²³⁰ va observar una recurrència a distància del 11,3% i 13,6% entre laparoscòpia i laparotomia (OR 0,82, $p =0,32$). La mortalitat relacionada amb el càncer va ser del 14,6% amb laparoscòpia i del 16,4% amb la cirurgia oberta sense que aquestes diferències fossin significatives. La mortalitat global va es va establir en el 20,4% amb laparoscòpia i 23,6% amb la cirurgia oberta (OR 0,82, $p=0,17$).

En resum, tots els estudis demostren la no inferioritat de la cirurgia laparoscòpica respecte a la cirurgia convencional en relació a la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia.

Mantenint tota la prudència necessària pel diferent disseny i el menor número de pacients inclosos, els nostres resultats estan més propers als reportats per l'assaig Barcelona, que els altres estudis multicèntrics. Als 7 anys de seguiment, la taxa de recidiva en el grup de laparoscòpia ha estat de 12% i en grup de laparotomia del 26.2%. En relació a la mortalitat en el mateix període de seguiment, aquesta es va observar en el 14% dels intervinguts per laparoscòpia i en el 33.8% del operats per laparotomia. Òbviament, aquestes diferències aconseguixen en els dos casos significació estadística ($P=0.001$)

4.2 Conversió com a possible factor de mal pronòstic

Les possibles conseqüències de la conversió a cirurgia oberta en un acte quirúrgic iniciat per laparoscòpia no han estat clarament definides. De fet els suposats efectes negatius de la conversió en els resultats oncològics segueixen sense estar clars, existint publicacions amb conclusions en diferents sentits [231, 232].

La interpretació d'aquests resultats contradictoris en la literatura és sovint complicada per la dificultat

d'identificar diferències en les característiques dels pacients, en relació a la seva comorbiditat, les complicacions durant l'acte quirúrgic i l'estadi tumoral. Com a norma general, la majoria d'estudis reporten pacients en el grup de conversió amb una major proporció de tumors en estadi T4 i amb índexs de comorbiditat superiors [233].

Les causes de la conversió s'han associat a diferents factors com ara el sexe masculí, índex de comorbiditats més elevats que poden afavorir complicacions anestèsiques, la mida del tumor i la seva localització en especial en els càncers de recte. També les complicacions aparegudes durant la cirurgia i la corba d'aprenentatge del cirurgià han estat descrites. [233]. La taxa de conversió és major en els pacients amb un índex de massa corporal superior al 30 a causa de l'augment de les dificultats tècniques que comporten aquests malalts [234].

El *Consensus of the European Association of Endoscopic Surgery* (E.A.E.S.) de l'any 2004 va indicar que l'índex de conversió de les sèries publicades era del 14% (amb un rang des del 0 fins 42%). Les causes més comunes de

conversió van ser la invasió tumoral d'estructures veïnes, la mida del tumor, la presència d'adherències i les dificultats tècniques [127].

Els estudis que han indicat un augment de la taxa de recidiva local quan s'ha procedit a la conversió a cirurgia oberta [231,235], descriuen una molt més alta proporció de tumors localment avançats i pacients amb ASA 3 o superior.

El nostre índex de conversió del 2.3% es pot considerar baix respecte els descrits a les diferents publicacions [223]. Aquesta xifra es pot justificar en part per la selecció inicial dels pacients durant els primer dos anys de l'estudi, quan s'estava implementant la tècnica laparoscòpica en la nostra unitat. Encara que el número total de pacients convertits és molt baix (4 en total), 3 d'aquets, el 75%, van presentar un estadi tumoral III del TNM. Els pacients amb cirurgia oberta el percentatge va ser del 36.3% i en el grup de laparoscòpia sense conversió del 39.8%. Tanmateix, el 50% dels pacients convertits, van estar classificats com a ASA 3. I seguint les descripcions de la literatura, en el 75% d'aquest pacients es va calcular un

IMC entre 30 i 40. El percentatge de transfusió va ser del 50%, traduint les dificultats relacionades amb el propi tumor i amb la tècnica quirúrgica. Tan l'índex de recidiva com la mortalitat del grup de conversió va ser del 50%, el doble que la resta de grups en números absoluts. Encara que el número baix de pacients en el grup de conversió només permet realitzar suposicions, tot semblaria indicar que aquests pitjors resultats oncològics podrien estar en relació a les característiques dels propis pacients i del tumor que patien, més que a la conversió en si mateixa. Es evident que es tractava de pacients més obesos amb majors comorbiditats. A més es van diagnosticar en fases més avançades de les seves neoplàsies, que van provocar majors dificultats en l'acte quirúrgic i majors requeriments transfusionals. Tots aquests factors han pogut jugar un paper fonamental en la mala evolució de la seva malaltia.

4.3 Publicacions que descriuen una millor supervivència dels pacients intervinguts per via laparoscòpica.

L'estudi que ha comportat una major repercussió en la comunitat mèdica

pels seus resultats ha estat el Barcelona Trial publicat per l'equip del Dr. Lacy [225]. Es tracta d'un estudi prospectiu randomitzat d'un únic centre on es van analitzar un total de 219 pacients amb neoplàsies per sobre de 15 cm del marge anal. Es procedí a una randomització 1:1 entre cirurgia per via laparoscòpica o per laparotomia entre els anys 1993 i 1998. L'any 2002, després d'una mitjana de seguiment dels pacients de 43 mesos, es van publicar els resultats de supervivència relacionada amb el càncer. La branca on s'havia realitzat cirurgia laparoscòpica, obtenia una millor supervivència i un menor índex de recidiva, gràcies en especial a les diferències aconseguides en l'estadi III de la malaltia. Amb posterioritat, el mateix grup va publicar el seguiment d'aquest mateixos pacients a 95 mesos de la cirurgia [133]. Es va confirmar la tendència a una major supervivència global i relacionada amb el càncer encara que sense aconseguir significació estadística. La probabilitat de supervivència relacionada amb el càncer si que va ser major en el grup de laparoscòpia ($p=0,02$) quan es comparà amb la laparotomia. Un cop més, en l'estadi III de la malaltia, les

diferències van assolir la significació estadística.

Després de la publicació dels seus resultats, es van realitzar una sèrie de crítiques a l'article per intentar rebatre les seves conclusions. Un dels principals comentaris que van aparèixer indicaven la existència de diferències significatives entre els grups quan s'analitzava l'aplicació de tractament amb quimioteràpia adjuvant. Encara que més pacients del grup laparoscòpic van rebre quimioteràpia, aquest fet no va ser examinat durant l'estudi com un factor pronòstic en l'anàlisi univariant o multivariant. També es va incidir en el número relativament baix de pacients inclosos en l'estudi i en el fet que la mitjana de ganglis identificats en les peces quirúrgiques era inferior a 12, dificultant així l'estadiatge real dels pacients [236].

Tot i aquestes crítiques, a data d'avui aquest és l'únic estudi prospectiu randomitzat que ha aportat resultats superiors de la cirurgia laparoscòpica en el tractament del càncer de còlon respecte la cirurgia convencional.

Amb tot, altres publicacions d'estudis retrospectius, van en la mateixa direcció d'aquests resultats [237], [238,

239], mostrant possibles beneficis en relació a la supervivència per als pacients sotmesos a cirurgia laparoscòpica.

Bilimoria va publicar un estudi fonamentat sobre la Base de Dades Nacional dels Estats Units fins l'any 2002 on s'analitzaven les intervencions realitzades per neoplàsies de còlon per via oberta o per via laparoscòpica[240]. Més de 11.000 pacients s'havien sotmès a una cirurgia per laparoscòpia i al voltant de 231.000 a cirurgia oberta. Després d'ajustar els seus resultats per les característiques dels pacients, el tipus de tumor, el tractament quimioteràpic i els factors hospitalaris, la supervivència als 5 anys va ser significativament millor després la laparoscòpia en comparació amb la cirurgia convencional, per als estadis I i II, però no per al càncer en estadi III.

L'estudi d'un únic centre amb un major número de pacients publicat fins a data d'avui, és el realitzat al servei de cirurgia de la Universitat de Hong Kong l'any 2012. Un total de 2011 pacients consecutius sotmesos a resecció electiva per càncer de còlon i recte (resecció oberta 1197; laparos-

còpica 814) van ser analitzats de forma retrospectiva. Els paràmetres demogràfics i de mobilitat van ser similars entre els grups. Amb un seguiment de 40,3 mesos, la supervivència global als 5 anys (74,1% de vs 65,5%, $p < 0,001$) i la supervivència específica de la malaltia (81,9% vs 75,2%, $p = 0,002$) van ser significativament millors en el grup laparoscòpic. L'abordatge quirúrgic va ser un factor pronòstic independent per a la supervivència en l'anàlisi multivariant. Quan es va analitzar de forma diferenciada entre tumors de còlon i recte, el benefici es va fer més evident amb als pacients que van patir neoplàsies de còlon. Les xifres de supervivències van ser superiors per als pacients sotmesos a resecció laparoscòpica, fins i tot per a aquells amb estadi II de la malaltia [132]. Com es evident, el principal problema de l' estudi recau en que es tracta d'un estudi no randomitzat, i per tan la decisió de incloure en una o altra branca als pacients, es va decidir segons s'exposa en l'estudi, "en relació a l'experiència dels cirurgians i les preferències dels pacients discutint amb aquest el risc de tots dos enfocaments quirúrgics".

Si comparem aquests resultats amb els obtinguts en la nostra mostra, el que més destaca és que la supervivència global en el nostre grup laparoscòpic és superior, estant en el 86% amb un percentatge lliure de malaltia del 88%. Les diferències en el grup de cirurgia oberta són menors, amb una supervivència global del 66.2% i una lliure de malaltia del 73.8%. És evident que en el nostre grups, els avantatges de la cirurgia laparoscòpica són molt més pronunciats.

Les justificacions per aquest resultat discordants entre els estudis retrospectius i els realitzats en un únic centre, amb els dels grans estudis multicèntrics són diverses. Existeixen diferents publicacions on el número de ganglis identificats en les peces operatòries és significativament superior en el grup laparoscòpic comparat amb l'obert [135, 132]. Aquest fet provocaria una millor estadificació dels pacients amb unes reseccions més acurades i amb majors beneficis dels de punt de vista oncològic. Aquesta explicació no es podria utilitzar en el nostre estudi, ja que la mitja de ganglis obtinguts en els tres grups (laparoscòpia, obert i conversió) és similar, de 25,24 i 31 respectivament,

sense diferències significatives. Una segona explicació podria estar en relació a una millor preservació de l'estat immunològic del pacient durant el període postoperatori gràcies a la menor resposta inflamatòria sistèmica de la cirurgia laparoscòpica. Aquesta possibilitat serà discutida en un proper capítol.

Per últim, les complicacions postoperatòries podrien jugar algun paper en l'evolució futura de la malaltia, com ha estat demostrat en el càncer de còlon i altres processos neoplàsics [241, 242]. Tot i la millora en els resultats de certs paràmetres postoperatoris dels pacients intervinguts per laparoscòpia, la majoria d'assajos multicèntrics no han pogut de demostrar una reducció en les taxes globals de complicacions o la mortalitat postoperatoria. No obstant això, una reducció significativa en la taxa de mortalitat i una tendència cap a una menor morbiditat han estat demostrades en estudis retrospectius que inclouen un gran nombre de pacients [234]. Una de les possibles explicacions per a la incapacitat per demostrar els beneficis immediats de la laparoscòpia en els estudis multicèntrics podria ser a causa de les altes taxes de conversió

publicades en aquest assajos. No existeixen en els nostres pacients diferències significatives en les complicacions postoperatòries que puguin justificar la diferent evolució dels grups, amb una xifra global de dehiscència anastomòtica del 7.7%. Es però ben cert, que la nostra xifra molt baixa de conversions pot accentuar els avantatges de la cirurgia mínima invasiva en el grup laparoscòpic.

Per altra banda, també s'ha postulat que els estudis multicèntrics han estat dissenyats per a demostrar la no inferioritat de la tècnica laparoscòpica i per tant no estan plenament capacitats per a demostrar diferències en les complicacions ni en la supervivència entre els grups.

4.4 Factors Immunològics associats a la cirurgia laparoscòpica. Resposta a l'estrès quirúrgic

L'agressió que significa l'abordatge per via laparoscòpica sobre l'homeòstasi de la cavitat peritoneal i del sistema immune en general, ha representat un dels punts d'investigació en relació a la cirurgia convencional.

Per una banda l'afectació peritoneal es principalment desencadenada per l'acció del CO₂ i la seva coneguda tendència a provocar acidosi local. Diversos estudis experimentals han relacionat la creació de pneumoperitoneu amb aquest tipus de gas amb alteracions en la producció de Factor de necrosi tumoral (TNF) dels macròfags. Aquests canvis també estarien en relació directa amb el grau de pressió intraabdominal aplicada durant l'acte operatori [244, 245].

En un model amb ratolins, Chekan va examinar la capacitat del peritoneu per controlar una infecció provocada de forma artificial després de crear pneumoperitoneu amb CO₂, amb heli o realitzar una laparotomia. Després del tercer dia, es va detectar un deteriorament significatiu de la immunitat intraperitoneal després de CO₂ respecte els altres grups [246]. També el grup de la Dra Balagué va investigar la funció dels macròfags peritoneals després de contaminar la cavitat abdominal amb *Escherichia coli*. En aquest estudi el pneumoperitoneu semblava preservar el sistema immune, tot i detectar nivells significativament més baixos de IL-1 i IL-6 en el líquid peritoneal [247].

Seria raonable pensar per tant, que la resposta del peritoneu després de la cirurgia laparoscòpica sembla estar caracteritzada per un breu període de supressió immune atribuïble a la insuflació de CO₂ i a l'acidosi local que aquest provoca. En aquesta fase el funcionament dels macròfags es veu afectada, també detectant-se una disminució en el funcionament intrínsec de cèl·lules fagocitàries. Aquest període es reverteix de forma ràpida al retirar el pneumoperitoneu, i no sembla tenir una transcendència clínica rellevant.

En segon lloc, ha estat investigat de forma molt més amplia la resposta sistèmica després dels procediments laparoscòpics. Les citocines més estudiades per valorar la resposta a l'estrès quirúrgic han estat la PCR i la IL-6. La PCR és una proteïna de fase aguda no específica de producció hepàtica que es secretada en resposta a estímuls inflamatoris. La interleuquina 6 (IL-6) es produeix per l'activat de monòcits, macròfags, i de cèl·lules endotelials sota condicions de trauma i l'estrès. El nivells de PCR i de IL-6 tenen una correlació positiva amb la severitat del trauma quirúrgic aplicat sobre els pacients [248, 249].

Les diferències entre la cirurgia laparoscòpica i oberta són especialment marcades durant el primer dia de la intervenció. Els nivells de PCR postoperatoris són significativament més baixos després laparoscòpia i els de IL-6 més elevats, suggerint una menor alteració sobre la immunitat sistèmica [250].

Després de qualsevol tipus de cirurgia, el percentatge entre CD4 i CD8 canvia significativament, degut a un augment de les cèl·lules CD4 + i una disminució en les CD8. Un estudi randomitzat va determinar que després de cirurgia laparoscòpia per a resecions de còlon, la relació CD4/CD8 va ser significativament més alta en comparació amb la cirurgia convencional. Els investigadors van concloure en base al quocient CD4/CD8 i dels nivells de PCR i de VSG a les 24 hores després de la cirurgia laparoscòpica, que aquest tipus d'abordatge va provocar una menor agressió quirúrgica sobre els malats[251]. Un estudi de característiques similars, va analitzar els nivells en sang de cortisol, prolactina, PCR i IL-6 en diferents moments abans i després de la cirurgia [252]. Els nivells plasmàtics de cortisol i prolactina van ser majors en el postope-

ratori tan després de laparotomia com després de laparoscòpia. Els nivells de IL-6 van arribar a un pic màxim a les 4 hores després de la cirurgia, amb diferències significatives a les 4, 12, i 24 hores respecte els pacients sotmesos a colectomia oberta. Els nivells plasmàtics de proteïna C reactiva van ser significativament menors a les 72 hores en el grup de colectomia laparoscòpica .Per tan es conclou que la cirurgia laparoscòpica permet atenuar els nivells de reactants de fase aguda generats en tota agressió quirúrgica.

Aquestes diferències descrites entre la cirurgia oberta i la laparoscòpia, podrien justificar en part els millors resultats a curt termini de la cirurgia laparoscòpia en el període postoperatori i és més agosarat justificar un millors resultats oncològics. En aquesta direcció, l'equip del Cancer Research Program de l'Hospital del Mar de Barcelona va analitzar quins factors amb potencial angiogènec estaven presents de forma diferenciada entre les intervencions laparoscòpiques i les laparotomies [134]. Van identificar diferències en els nivells sèrics postoperatòries d'IL-6 i VEGF, encara que no es van detectar dife-

rències en les concentracions locals d'aquestes citocines, les quals van ser significativament més grans que els nivells sistèmics. D'altra banda, la resposta angiogènica al trauma quirúrgic va ser similar independentment l'abordatge quirúrgic al realitzar un processament de les mostres in vitro. Altres estudis han confirmat la presència de nivells més elevats de VEGF després de cirurgies per laparotomia comparat amb laparoscòpia [253]. Per poder buscar una associació entre els resultats d'aquest estudis i una suposada milloria de la supervivència dels pacients intervinguts per laparoscòpia, es podria postular que la resposta inflammatòria sistèmica augmentada en els pacients intervinguts per laparotomia pot afavorir l'acció dels factors angiogènics, encara que no existeixen diferents concentracions dels mateixos en el llit quirúrgic. Aquest fet podria ser un factor que afavorís la reparació de la malaltia neoplàsica en un futur.

Per tant, les alteracions immunològiques i la diferent resposta a l'estrès quirúrgic de l'abordatge per laparoscòpia i per laparotomia podrien, en teoria, justificar parcialment la millor supervivència dels pacients intervin-

guts per laparoscòpia. A aquests factors s'hauria de sumar el biaix de selecció dels pacients, present en tot estudi que no ha estat randomitzat d'entrada, com és el nostre cas.

Els pacients que van patir càncer de còlon i van ser operats per laparoscòpia en el nostre centre, van mostrar una supervivència i una supervivència lliure de malaltia millor als cinc anys en comparació amb els operats per laparotomia i amb aquells que van requerir conversió. De fet, el grup de conversió va representar els pacients amb una pitjor evolució a llarg termini. Assumint que es tracta d' estudi no aleatoritzat, es va fer un esforç especial per identificar els factors pronòstics que podrien condicionar diferències significatives entre els grups. No es van detectar diferències en relació amb la morbiditat dels pacients, ni amb els factors pronòstics associats o amb factors perioperatoris que podrien condicionar l'evolució posterior de cada grup. Per tant, hem pressuposat que els tres grups van ser comparables per a l'estudi.

Els factors pronòstics detectats en els pacients del nostre estudi són similars als descrits prèviament en la literatura

[33]. En l'anàlisi bivariant, la presència de cèl·lules neoplàsiques en els ganglis limfàtics, la invasió angiolimfàtica i la invasió venosa van empitjorar de forma significativa la supervivència. En l'anàlisi multivariat, l'estadi III (tumors amb invasió ganglionar) és el principal factor que determina la supervivència lliure de malaltia i la supervivència global.

Sorprenentment, l'altre factor amb una gran influència en l'estudi bivariant i multivariat van ser l'abordatge quirúrgic. Els pacients operats per laparotomia o que van requerir conversió, van tenir la pitjor supervivència global. Les possibles diferències relacionades amb el càncer entre els grups es descarten en els nostres resultats. No es van trobar diferències en quant a l'estadi TNM, comorbiditats o troballes patològiques. De la mateixa manera, les complicacions perioperatòries van ser equivalents estadísticament en grup obert i la laparoscòpia.

Òbviament, un biaix de selecció es va observar al iniciar la nostra corba d'aprenentatge en la tècnica laparoscòpica en el càncer de còlon, l'any 2002. Durant els 2 anys inicials del període

de l'estudi, els pacients amb les millors característiques fenotípiques es van incloure en el grup laparoscòpic. Fins i tot exclouent aquests pacients, l'abordatge laparoscòpic va obtenir els millors resultats de supervivència global en comparació amb els altres grups. A diferència del que es va observar en l'anàlisi de tota la mostra, la supervivència lliure de malaltia no va aconseguir diferències estadísticament significatives entre els grups. De totes maneres, l'estudi multivariant mostra que l'abordatge quirúrgic és un dels factors que influeixen de forma independent tant en la supervivència lliure de malaltia com en la supervivència global.

En conclusió, en la nostra mostra de pacients amb càncer de còlon no metastàtic, aquells que van ser intervinguts amb un abordatge laparoscòpic va tenir una millor supervivència global i una millor supervivència lliure de malaltia en comparació amb els operats per laparotomia o aquells i pacients que van requerir conversió. Els motius d'aquest resultat poden ser diversos, podent jugar algun paper factors immunològics, inflamatoris, angiogènics o de selecció dels pacients.

EPÍLEG

EPÍLEG

Els factors pronòstics que condicionen la supervivència després de realitzar una resecció curativa per patir càncer de còlon són diversos. Encara que molts d'ells han estat estudiats amb anterioritat per la comunitat mèdica, no disposem encara dels coneixements suficients per determinar de forma exacta quina serà l'evolució dels pacients amb aquesta malaltia a llarg termini. L'anàlisi de les característiques específiques de cada tipus de neoplàsia, permetrà individualitzar cada cop més els tractaments aplicats per aprofitar d'aquesta manera els avantatges de les teràpies adjuvants i evitar tractament fútils en certs pacients.

En aquest sentit hem intentat aprofundir en l'estudi concret d'una sèrie de factors presents en els pacients intervinguts en el nostre centre, amb unes característiques que són similars a les d'un hospital general del nostre país per així poder extrapolar en un futur les conclusions obtingudes i permetre realitzar seguiments més exhaustius i tractaments amb un menor cost / benefici.

L'hemorràgia secundària a les neoplàsies de còlon i l'anèmia que se'n deriva és un dels signes clínics habituals de la malaltia [254]. Durant els dies que envolten a l'acte quirúrgic i just durant la intervenció, la transfusió de concentrats d'hematies és un procediment habitual en qualsevol unitat de cirurgia colorectal. El diagnòstic precoç de les neoplàsies gràcies als programes de cribratge poblacional i les millores en el maneig perioperatori, han permès reduir les necessitats de transfusió i les complicacions que es poden derivar. Un d'aquests possibles efectes adversos estaria en relació amb un empitjorament de la supervivència global i un augment de l'índex de recidiva de la malaltia. El que hem pogut comprovar al realitzar l'anàlisi del seguiment dels nostres pacients, és que si bé és certa aquesta relació entre transfusió i pitjor supervivència del càncer de còlon, aquesta està clarament condicionada als factors que provoquen la indicació de la transfusió i no en factors específics que siguin conseqüència de la mateixa. Els malalts que van requerir una transfusió sanguínia, patien neoplàsies més extenses amb presència de factors histològics que marcaven una major agressivitat del tumor. La majoria d'aquest malalts tenien malalties associades més greus que també van condicionar la seva evolució futura. Per tant, la

transfusió de concentrats d'hematies segons el nostre estudi no es capaç de provocar alteracions en la història natural del càncer colorectal per ella sola.

L'agressió sobre l'homeòstasi que representa qualsevol acte quirúrgic, és un fet demostrat de forma fefaent [255]. Així doncs, la cirurgia laparoscòpica aplicada al tractament quirúrgic del càncer de còlon ha aconseguit uns resultats molt satisfactoris amb uns menors canvis en relació a la resposta a l'estrès quirúrgic i a les alteracions immunològiques. Aquestes millores es podrien traduir hipotèticament en una més adient capacitat de l'organisme per afrontar-se a la neoplàsia i per tant a un augment de supervivència a llarg termini. Només alguns grups han pogut demostrar aquesta premissa, que ha estat rebutjada per la majoria dels estudis multicèntrics publicats a escala mundial. La nostra experiència ens permet afirmar que els pacients intervinguts a l'Hospital de Mataró per via laparoscòpica tenen una millor supervivència global i un menor índex de recidives que els intervinguts per laparotomia. Les causes d'aquestes diferències poden atribuir-se a la falta d'aleatorització en el mecanisme de selecció dels pacients per cada tècnica quirúrgica. Si bé aquesta afirmació és certa, existeixen dues dades que fan que sigui menys consistent. La primera és que en estudiar les característiques clíniques i histològiques de les neoplàsies, no s'han detectat diferències entre els grups. Això fa que aquests siguin comparables per a realitzar els anàlisis de supervivència. En segon lloc, en eliminar de l'estudi els dos primers anys (moment on la corba d'aprenentatge era més marcada i la discriminació positiva en relació a la laparoscòpia era més evident) segueixen existint diferències significatives en la supervivència global en favor de la laparoscòpia.

Altres factors no estudiats de forma específica en aquesta tesi com els canvis en la resposta cel·lular immune o la diferent producció de substàncies amb capacitat angiogènica, podrien també jugar un paper en l'evolució dels pacients. Es podria concloure que al nostre centre, completar per via laparoscòpica una resecció de còlon, és un factor de bon pronòstic per al pacient.

Un cop finalitzada la cirurgia, l'estudi dels ganglis sentinelles a les peces quirúrgiques, ens ha proporcionat una informació molt valuosa per preveure el comportament de les cèl·lules neoplàsiques que han estat capaces de migrar fora del tumor primari. La mida d'aquests implants condicionarà de forma evident les possibilitats reals d'aquests per aconseguir neovascularització i capacitat per metastatitzar a òrgans veïns.

El nostre estudi suggereix que les cèl·lules que es presenten en forma aïllada en l'espessor del gangli limfàtic no tindran en la majoria d'ocasions possibilitats de proliferar i de provocar malaltia a distància. És per aquest motiu que no hem detectat diferències significatives entre la supervivència dels pacients amb cèl·lules aïllades als ganglis sentinelles i aquells on no existeix cap rastre de malaltia neoplàsica a aquest nivell. Amb tot, encara que els nostres resultats no poden aportar molta llum al respecte, sembla ser que les acumulacions de neoplàsia menors de 2 mm sí que poden condicionar una pitjor supervivència a llarg termini. Qualsevol tècnica que millori la detecció d'aquests implants mil·limètrics en el territori ganglionar (multisecció, immunohistoquímica, RT-PCR, OSNA) podrà aconseguir un estadiatge més acurat per als pacients afectes de càncer de còlon. Per tant, el gangli sentinella permetrà acotar el número de ganglis a analitzar i d'aquesta forma, disminuirà els costos econòmics que se'n deriven.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

1. La presència de cèl·lules neoplàsiques aïllades en un gangli sentinella no es pot considerar com un factor de mal pronòstic en els pacients afectes d'un càncer de còlon no metastàtic. Ni la supervivència global ni la supervivència lliure de malaltia d'aquests pacients, difereixen de forma significativa amb aquells on no es detecta cap evidència de malaltia neoplàsica en els seus ganglis (N0).
2. L'existència de micrometàstasis en un gangli sentinella podria ser un factor pronòstic en els pacients afectes d'un càncer de còlon no metastàtic, encara que aquest estudi no permet arribar a conclusions evidents al respecte. És clar que la presència de metàstasis ganglionars N1, empitjora significativament el pronòstic dels pacients.
3. La transfusió de concentrats d'hematies en el període perioperatori en pacients afectes de càncer de còlon no metastàtic, no afecta de forma independent la seva supervivència i/o recidiva a llarg termini. Encara que existeix un augment de la recidiva tumoral i de la mortalitat global dels pacients transfosos, aquests fets estan en relació amb les característiques clíniques i histològiques dels tumors que fan indicar la transfusió, i no als efectes derivats de la mateixa.
4. A l'Hospital de Mataró, els pacients als que se'ls completa una l'extirpació curativa d'un càncer de còlon per via laparoscòpica, tenen una millor supervivència global i un menor índex de recidiva que aquells que requereixen una extirpació a través de laparotomia.

BIBLIOGRAFIA

1. Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg.* 2009;22(4):191-197. doi:10.1055/s-0029-1242458.
2. Binefa G, Rodríguez-Moranta F, Teule A, Medina-Hayas M. Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine. *World J Gastroenterol.* 2014;20(22):6786-6808. doi:10.3748/wjg.v20.i22.6786.
3. Cancerresearch uk. Consultada el 25 d'octubre de 2015 <http://www.cancerresearchuk.org>.
4. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. No. 11 [Internet]. Lyon, Fr Int Agency Res Cancer. 2013;11:<http://globocan.iarc.f>.
5. Cancer atlas. Consultat el 25 d'octubre de 2015. <http://canceratlas.cancer.org/data/#?view=compare>. Consultat a 25 d'octubre de 2015
6. Ribes J, Navarro M, Clèries R, et al. Colorectal cancer mortality in Spain: trends and projections for 1985-2019. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(1):92-100. doi:10.1097/MEG.0b013e32830b5f39.
7. Borràs J, Ameijide A, Vilardell L, Valls J, Marcos-Gragera R, Izquierdo A. Trends in cancer incidence in Catalonia, 1985-2002. *Med Clin (Barc).* 2008;131 Suppl :11-18. doi:13130124 [pii].
8. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2013;63(1):11-30. doi:10.3322/caac.21166.
9. Ellis CN. Colonic adenomatous polyposis syndromes: Clinical management. *Clin Colon Rectal Surg.* 2008;21(4):256-262. doi:10.1055/s-0028-1089940.
10. Potten CS, Kellett M, Roberts SA, Rew DA, Wilson GD. Measurement of in vivo proliferation in human colorectal mucosa using bromodeoxyuridine. *Gut.* 1992;33(1):71-78. doi:10.1136/gut.33.1.71.
11. Ahn J, Sinha R, Pei Z, et al. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(24):1907-1911. doi:10.1093/jnci/djt300.
12. Hill MJ, Taylor AJ, Thompson MH, Wait R. Fecal steroids and urinary volatile phenols in four Scandinavian populations. *Nutr Cancer.* 1982;4(1):67-73. doi:10.1080/01635588209513740.

13. Cross AJ, Leitzmann MF, Gail MH, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Sinha R. A prospective study of red and processed meat intake in relation to cancer risk. *PLoS Med.* 2007;4(12):1973-1984. doi:10.1371/journal.pmed.0040325.
14. Norat T, Riboli E. Meat consumption and colorectal cancer: a review of epidemiologic evidence. *Nutr Rev.* 2001;59:37-47.
15. Chan DSM, Lau R, Aune D, et al. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: Meta-analysis of prospective studies. *PLoS One.* 2011;6(6). doi:10.1371/journal.pone.0020456.
16. Anderson JW, Baird P, Davis RH, et al. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev.* 2009;67(4):188-205. doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x.
17. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, et al. Alcohol Intake and Colorectal Cancer: A Pooled Analysis of 8 Cohort Studies. *Ann Intern Med.* 2004;140(8).
18. Berlau J, Gleib M, Pool-Zobel BL. Colon cancer risk factors from nutrition. *Anal Bioanal Chem.* 2004;378(3):737-743. doi:10.1007/s00216-003-2284-4.
19. Giovannucci E. Modifiable risk factors for colon cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31(4):925-943. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12489270>.
20. Lu H, Ouyang W, Huang C. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res.* 2006;4(4):221-233. doi:10.1158/1541-7786.MCR-05-0261.
21. Jones MK, Wang H, Peskar BM, et al. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med.* 1999;5(12):1418-1423. doi:10.1038/70995.
22. Nolfo F, Rametta S, Marventano S, et al. Pharmacological and dietary prevention for colorectal cancer. *BMC Surg.* 2013;13 Suppl 2(Suppl 2):S16. doi:10.1186/1471-2482-13-S2-S16.
23. Arnold CN, Goel A, Blum HE, Boland CR. Molecular pathogenesis of colorectal cancer: implications for molecular diagnosis. *Cancer.* 2005;104(10):2035-2047. doi:10.1002/cncr.21462.
24. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(4):261-268. doi:10.1093/jnci/djh034.
25. Lynch HT. 030306 Hereditary Colorectal Cancer. *Color Cancer.* 2003;348(10):919-932. doi:10.1056/NEJMra012242.
26. De la Chapelle A. Microsatellite instability. *N Engl J Med.* 2003;349(3):209-210. doi:10.1056/NEJMp038099.

27. Boland CR, Goel A. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2073-2087.e3. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.064.
28. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*. 1993;260(5109):816-819. doi:10.1126/science.8484122.
29. Lanza G, Gafà R, Santini A, Maestri I, Guerzoni L, Cavazzini L. Immunohistochemical test for MLH1 and MSH2 expression predicts clinical outcome in stage II and III colorectal cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2359-2367. doi:10.1200/JCO.2005.03.2433.
30. Dobre M, Comănescu M, Arsene D, Iosif C, Bussolati G. K-ras gene mutation status in colorectal cancer: comparative analysis of pyrosequencing and PCR-RFLP. *Rom J Morphol Embryol*. 2013;54(3):567-574.
31. Bond CE, Nancarrow DJ, Wockner LF, et al. Microsatellite Stable Colorectal Cancers Stratified by the BRAF V600E Mutation Show Distinct Patterns of Chromosomal Instability. *PLoS One*. 2014;9(3):e91739. doi:10.1371/journal.pone.0091739.
32. Marzouk O, Schofield J. Review of histopathological and molecular prognostic features in colorectal cancer. *Cancers (Basel)*. 2011;3:2767-2810. doi:10.3390/cancers3022767.
33. De Divitiis C. Prognostic and predictive response factors in colorectal cancer patients: Between hope and reality. *World J Gastroenterol*. 2014;20(41):15049. doi:10.3748/wjg.v20.i41.15049.
34. Mao C, Wu X-Y, Yang Z-Y, et al. Concordant analysis of KRAS, BRAF, PIK3CA mutations, and PTEN expression between primary colorectal cancer and matched metastases. *Sci Rep*. 2015;5:8065. doi:10.1038/srep08065.
35. Cathomas G. PIK3CA in Colorectal Cancer. *Front Oncol*. 2014;4(March):35. doi:10.3389/fonc.2014.00035.
36. Jass J. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and *Histopathology*. 2007.
37. Lurje G, Zhang W, Yang D, et al. Thymidylate synthase haplotype is associated with tumor recurrence in stage II and stage III colon cancer. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(2):161-168. doi:10.1097/FPC.0b013e3282f4aea6.
38. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2001;344(16):1196-1206. doi:10.1056/NEJM200104193441603.
39. Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, et al. Colon Cancer Stem Cells Dictate Tumor Growth and Resist Cell Death by Production of Interleukin-4. *Cell Stem Cell*. 2007;1(4):389-402. doi:10.1016/j.stem.2007.08.001.

40. Quirke P, Risio M, Lambert R, von Karsa L, Vieth M. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis. *Endoscopy*. 2012;44 Suppl 3:SE116-SE130. doi:10.1055/s-0032-1309797.
41. Andreu García M, Marzo M, Mascort J, et al. Prevención del cáncer colorectal. *Atención Primaria*. 2009;41(3):127-128. doi:10.1016/j.aprim.2008.12.003.
42. Jørgensen OD, Kronborg O, Fenger C. *A Randomised Study of Screening for Colorectal Cancer Using Faecal Occult Blood Testing: Results after 13 Years and Seven Biennial Screening Rounds*. Vol 50.; 2002. doi:10.1159/000110033.
43. Karsa L V., Lignini TA, Patnick J, Lambert R, Sauvaget C. The dimensions of the CRC problem. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010;24(4):381-396. doi:10.1016/j.bpg.2010.06.004.
44. Luo Z, Bradley CJ, Dahman B a, Gardiner JC. Colon cancer treatment costs for Medicare and dually eligible beneficiaries. *Health Care Financ Rev*. 2010;31:35-50.
45. Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. *The Mesorectum in Rectal Cancer Surgery--the Clue to Pelvic Recurrence?* The British journal of surgery 69, 613-616 (1982). doi:10.1007/s11725-008-0110-z.
46. Quirke P, Durdey P, Dixon MF, Williams NS. Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection. Histopathological study of lateral tumour spread and surgical excision. *Lancet*. 1986;2(8514):996-999. doi:S0140-6736(86)92612-7 [pii].
47. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(8):583-596. doi:10.1093/jnci/93.8.583.
48. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. *Levamisole and Fluorouracil for Adjuvant Therapy of Resected Colon Carcinoma*. Vol 322.; 1990. doi:10.1056/NEJM199002083220602.
49. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, et al. *Capecitabine as Adjuvant Treatment for Stage III Colon Cancer*. Vol 352.; 2005. doi:10.1056/NEJMoa043116.
50. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. *Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer*. Vol 350.; 2004. doi:10.1056/NEJMoa032709.
51. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: Results of CALGB 89803. *J Clin Oncol*. 2007;25(23):3456-3461. doi:10.1200/JCO.2007.11.2144.

52. De Gramont A, Van Cutsem E, Schmoll HJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): A phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(12):1225-1233. doi:10.1016/S1470-2045(12)70509-0.
53. Giuliani F, Colucci G. Cetuximab in colon cancer. *Int J Biol Markers.* 2007;22(1 SUPPL. 4). doi:10.1056/NEJM200410073511519.
54. Cancer staging. Consultat el 25 d'octubre de 2015. <https://cancerstaging.org/references-tools/quickreferences/Documents/ColonMedium.pdf>.
55. Obrocea F, Sajin M, Marinescu EC, Stoica D. Colorectal cancer and the 7th revision of the TNM staging system: Review of changes and suggestions for uniform pathologic reporting. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(2):537-544. doi:520211537544 [pii].
56. Camus M, Tosolini M, Mlecnik B, et al. Coordination of intratumoral immune reaction and human colorectal cancer recurrence. *Cancer Res.* 2009;69(6):2685-2693. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2654.
57. Gao P, Song Y, Wang Z, et al. Is the prediction of prognosis not improved by the seventh edition of the TNM classification for colorectal cancer? Analysis of the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) database. *BMC Cancer.* 2013;13:123. doi:10.1186/1471-2407-13-123.
58. Figueredo A, Coombes M, Mukherjee S. Adjuvant Therapy for completely resected Stage II Colon Cancer [Systematic Review]. *Cochrane Database Syst Rev* 2012. 2012. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=c och&AN=00075320-100000000-04333>.
59. Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *Dis Colon Rectum.* 1980;23(8):605-611. doi:10.1007/BF02989012.
60. C. D. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol Bacteriol.* 1932;34:323.
61. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. In: *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* Vol 124. ; 2000:979-994. doi:10.1043/0003-9985(2000)124<0979:PFICC>2.0.CO;2.
62. Petersen VC, Baxter KJ, Love SB, Shepherd N a. Identification of objective pathological prognostic determinants and models of prognosis in Dukes' B colon cancer. *Gut.* 2002;51:65-69. doi:10.1136/gut.51.1.65.
63. Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, Langner C. Value of tumor size as a prognostic variable in colorectal cancer: a critical reappraisal. *Am J Clin Oncol.* 2011;34(1):43-49. doi:10.1097/COC.0b013e3181cae8dd.

64. Carolyn C Compton, MD P. Pathology and prognostic determinants of colorectal cancer. *UpToDate*. http://www.uptodate.com/contents/pathology-and-prognostic-determinants-of-colorectal-cancer?source=search_result&search=prognostic+factors+colon+cancer&selectedTitle=1%7E150.
65. Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, et al. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol*. 2013;2233-2239. doi:10.1007/s13277-013-0763-6.
66. Levy M, Visokai V, Lipska L, Topolcan O. Tumor markers in staging and prognosis of colorectal carcinoma. *Neoplasma*. 2008;55(2):138-142.
67. Di Benedetto F1, D'Amico G, Spaggiari M, Tirelli U BM. Onco-surgical management of colo-rectal liver metastases in older patients: a new frontier in the 3rd millennium. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013;13(9):1354-1359.
68. Díaz R, Aparicio J, Gironés R, et al. Analysis of prognostic factors and applicability of Kohne's prognostic groups in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line irinotecan or oxaliplatin-based chemotherapy. *Clin Colorectal Cancer*. 2005;5(3):197-202.
69. Schramm K, Krause K, Bittroff-Leben A, Goldin-Lang P, Thiel E, Kreuser ED. Activated K-ras is involved in regulation of integrin expression in human colon carcinoma cells. *Int J Cancer*. 2000;87(2):155-164.
70. Akagi K, Uchibori R, Yamaguchi K, Kurosawa K, Tanaka Y, Koza T. Characterization of a novel oncogenic K-ras mutation in colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;352(3):728-732. doi:10.1016/j.bbrc.2006.11.091.
71. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009;360(14):1408-1417. doi:10.1056/NEJMoa0805019.
72. Steup WH, Moriya Y, Van de Velde CJH. Patterns of lymphatic spread in rectal cancer. A topographical analysis on lymph node metastases. *Eur J Cancer*. 2002;38:911-918. doi:10.1016/S0959-8049(02)00046-1.
73. Resch A, Langner C. Lymph node staging in colorectal cancer: Old controversies and recent advances. *World J Gastroenterol*. 2013;19(46):8515-8526. doi:10.3748/wjg.v19.i46.8515.
74. Fielding LP. Clinicopathological staging for colorectal cancer: an international Documentation System (IDS) and an international Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J Gastroenterol Hepatol*. 1991;6(4):325-344.

75. Märkl B, Kerwel TG, Wagner T, Anthuber M, Arnholdt HM. Methylene blue injection into the rectal artery as a simple method to improve lymph node harvest in rectal cancer. *Mod Pathol*. 2007;20(7):797-801. doi:10.1038/modpathol.3800824.
76. Basten O, Bandorski D, Bismarck C, Neumann K, Fisseler-Eckhoff A. Acetone compression. A fast, standardized method to investigate gastrointestinal lymph nodes. *Pathologe*. 2010;31(3):218-224. doi:10.1007/s00292-009-1256-7.
77. Scott KWM, Grace RH. Detection of lymph node metastases in colorectal carcinoma before and after fat clearance. *Br J Surg*. 1989;76:1165-1167. doi:10.1002/bjs.1800761118.
78. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: Systematic review. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(6):433-441. doi:10.1093/jnci/djk092.
79. Lykke J, Roikjaer O, Jess P. The relation between lymph node status and survival in Stage I-III colon cancer: results from a prospective nationwide cohort study. *Colorectal Dis*. 2013;15(5):559-565. doi:10.1111/codi.12059.
80. Wang LP, Wang HY, Cao R, Zhu C, Wu XZ. Proposal of a new classification for stage III colorectal cancer based on the number and ratio of metastatic lymph nodes. *World J Surg*. 2013;37(5):1094-1102. doi:10.1007/s00268-013-1940-x.
81. Fujii T, Tabe Y, Yajima R, et al. Extracapsular invasion as a risk factor for disease recurrence in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2011;17(15):2003-2006. doi:10.3748/wjg.v17.i15.2003.
82. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13(16):4807-4816. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2512.
83. Güller U, Zettl A, Worni M, et al. Molecular investigation of lymph nodes in colon cancer patients using one-step nucleic acid amplification (OSNA): A new road to better staging? *Cancer*. 2012;118(24):6039-6045. doi:10.1002/cncr.27667.
84. Gunn J, McCall JL, Yun K, Wright PA. Detection of micrometastases in colorectal cancer patients by K19 and K20 reverse-transcription polymerase chain reaction. *Lab Invest*. 1996;75(4):611-616.
85. GOULD EA, WINSHIP T, PHILBIN PH KH. Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. *Cancer*. 1960;13:77-78.
86. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977;39(2):456-466. doi:10.1245/s10434-011-2036-1.

87. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Final trial report of sentinel-node biopsy versus nodal observation in melanoma. *N Engl J Med.* 2014;370(7):599-609. doi:10.1056/NEJMoa1310460.
88. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel node in breast cancer--a multicenter validation study. *N Engl J Med.* 1998;339(14):941-946. doi:10.1056/NEJM199810013391401.
89. Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg.* 2001;233(4):515-521. doi:10.1097/00000658-200104000-00006.
90. Saha S, Wiese D, Badin J, et al. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. *Ann Surg Oncol.* 2000;7(2):120-124.
91. Merrie AE, Phillips L V, Yun K, McCall JL. Skip metastases in colon cancer: assessment by lymph node mapping using molecular detection. *Surgery.* 2001;129(6):684-691. doi:10.1067/msy.2001.113887.
92. Wood TF, Saha S, Morton DL, et al. Validation of lymphatic mapping in colorectal cancer: in vivo, ex vivo, and laparoscopic techniques. *Ann Surg Oncol.* 2001;8(2):150-157. doi:10.1245/aso.2001.8.2.150.
93. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(8):583-596. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11309435>.
94. Saha S, Johnston G, Korant A, et al. Aberrant drainage of sentinel lymph nodes in colon cancer and its impact on staging and extent of operation. *Am J Surg.* 2013;205(3):302-306. doi:10.1016/j.amjsurg.2012.10.029.
95. Scabini S. Sentinel node biopsy in colorectal cancer: Must we believe it? *World J Gastrointest Surg.* 2010;2(1):6-8. doi:10.4240/wjgs.v2.i1.6.
96. Van der Pas MH, Meijer S, Hoekstra OS, et al. Sentinel-lymph-node procedure in colon and rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2011;12(June):540-550. doi:10.1016/S1470-2045(11)70075-4.
97. Hirche C, Mohr Z, Kneif S, et al. Ultrastaging of colon cancer by sentinel node biopsy using fluorescence navigation with indocyanine green. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27:319-324. doi:10.1007/s00384-011-1306-5.
98. De Haas RJ, Wicherts D a, Hobbelink MGG, et al. Sentinel lymph node mapping in colon cancer using radiocolloid as a single tracer: a feasibility study. *Nucl Med Commun.* 2012;33(8):832-837. doi:10.1097/MNM.0b013e328353bc0c.

99. Yan J, Xue F, Chen H, et al. A multi-center study of using carbon nanoparticles to track lymph node metastasis in T1–2 colorectal cancer. *Surg Endosc.* 2014;28:3315-3321. doi:10.1007/s00464-014-3608-5.
100. Bustin SA, Siddiqi S, Ahmed S, Hands R, Dorudi S. Quantification of cytokeratin 20, carcinoembryonic antigen and guanylyl cyclase C mRNA levels in lymph nodes may not predict treatment failure in colorectal cancer patients. *Int J Cancer.* 2004;108(3):412-417. doi:10.1002/ijc.11596.
101. Van der Zaag ES, Bouma WH, Tanis PJ, Ubbink DT, Bemelman W a, Buskens CJ. Systematic review of sentinel lymph node mapping procedure in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012;19(11):3449-3459. doi:10.1245/s10434-012-2417-0.
102. Broderick-Villa G1, Ko A, O'Connell TX, Guenther JM, Danial T DL. Does tumor burden limit the accuracy of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer? *Cancer J.* 2002;8(6):445-450.
103. Bembenek a., Rau B, Moesta T, et al. Sentinel lymph node biopsy in rectal cancer - Not yet ready for routine clinical use. *Surgery.* 2004;135:498-505. doi:10.1016/j.surg.2003.10.004.
104. Viehl CT, Guller U, Langer I, Laffer U, Oertli D, Zuber M. Factors influencing the success of in vivo sentinel lymph node procedure in colon cancer patients: Swiss prospective, multicenter study sentinel lymph node procedure in colon cancer. *World J Surg.* 2013;37(4):873-877. doi:10.1007/s00268-013-1910-3.
105. Washington MK, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(10):1539-1551. doi:10.1043/1543-2165-133.10.1539.
106. Sloothaak D a M, Sahami S, van der Zaag-Loonen HJ, et al. The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2014;40(3):263-269. doi:10.1016/j.ejso.2013.12.002.
107. Rahbari NN, Bork U, Motschall E, et al. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2012;30(1):60-70. doi:10.1200/JCO.2011.36.9504.
108. Bukholm IRK, Bondi J, Wiik P, et al. Presence of isolated tumour cells in mesenteric lymph nodes predicts poor prognosis in patients with stage II colon cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2003;29(10):862-866. doi:10.1016/j.ejso.2003.09.007.
109. Cristofanilli M. Circulating Tumor Cells, Disease Progression, and Survival in Metastatic Breast Cancer. *Semin Oncol.* 2006;33(SUPPL. 9):9-14. doi:10.1053/j.seminoncol.2006.03.016.

110. David M.A., Francis BKS. BLOOD TRANSFUSION AND TUMOUR GROWTH: EVIDENCE FROM LABORATORY ANIMALS. *Lancet*. 1981;318(8251):871.
111. Tartter PI. The association of perioperative blood transfusion with colorectal cancer recurrence. *Ann Surg*. 1992;216(6):633-638.
112. Francis DM. Relationship between blood transfusion and tumour behaviour. *Br J Surg*. 1991;78(12):1420-1428.
113. Warschkow R, Güller U, Köberle D, et al. Perioperative blood transfusions do not impact overall and disease-free survival after curative rectal cancer resection: a propensity score analysis. *Ann Surg*. 2014;259(1):131-138. doi:10.1097/SLA.0b013e318287ab4d.
114. Vamvakas EC, Blajchman M a. Blood Still Kills: Six Strategies to Further Reduce Allogeneic Blood Transfusion-Related Mortality. *Transfus Med Rev*. 2010;24(2):77-124. doi:10.1016/j.tmr.2009.11.001.
115. Bilgin YM, van de Watering LMG, Brand A. Clinical effects of leucoreduction of blood transfusions. *Neth J Med*. 2011;69(10):441-450.
116. Cata JP, Wang H, Gottumukkala V, Reuben J, Sessler DI. Inflammatory response, immunosuppression, and cancer recurrence after perioperative blood transfusions. *Br J Anaesth*. 2013;110(5):690-701. doi:10.1093/bja/aet068.
117. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): An update. *Blood Rev*. 2007;21(6):327-348. doi:10.1016/j.blre.2007.07.003.
118. Madjdpour C, Spahn DR. Allogeneic red blood cell transfusions: Efficacy, risks, alternatives and indications. *Br J Anaesth*. 2005;95(1):33-42. doi:10.1093/bja/aeh290.
119. Busch OR, Hop WC, Marquet RL, Jeekel J. The effect of blood transfusions on survival after surgery for colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 1995;31A(7-8):1226-1228. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7577027>.
120. Amato A, Pescatori M. Perioperative blood transfusions and recurrence of colorectal cancer (Review). 2011;(1).
121. Acheson AG, Brookes MJ, Spahn DR. Effects of allogeneic red blood cell transfusions on clinical outcomes in patients undergoing colorectal cancer surgery: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg*. 2012;256(2):235-244. doi:10.1097/SLA.0b013e31825b35d5.
122. Jacobs M, Verdeja JC, Goldstein HS. Minimally invasive colon resection (laparoscopic colectomy). *Surg Laparosc Endosc*. 1991;1(3):144-150.
123. Curet MJ. Port site metastases. *Am J Surg*. 2004;187(6):705-712. doi:10.1016/j.amjsurg.2003.10.015.

124. Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR S. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technique on survival rates. *Ann Surg.* 1967;166:420-427.
125. Counihan TC, Favuzza J. Fast track colorectal surgery. *Clin Colon Rectal Surg.* 2009;22(1):60-72. doi:10.1055/s-0029-1202888.
126. Suñol X, Estrada O, del Bas M, Heredia A, Hidalgo LA, Almenara R. Planning, management and results of the implantation of laparoscopic surgery of the colon and rectum in a general hospital. *Cir Esp.* 2007;82(2):99-104.
127. Veldkamp R, Gholghesaei M, Bonjer HJ, et al. Laparoscopic resection of colon cancer: Consensus of the European Association of Endoscopic Surgery (E.A.E.S.). In: *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques.* Vol 18. ; 2004:1163-1185. doi:10.1007/s00464-003-8253-3.
128. Surgical Therapy Study Group. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. *N Eng J Med.* 2004;13(350 (20)):2050-2059.
129. Buunen M, Veldkamp R, Hop WCJ, et al. Survival after laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: long-term outcome of a randomised clinical trial. *Lancet Oncol.* 2009;10(1):44-52. doi:10.1016/S1470-2045(08)70310-3.
130. Jayne DG, Thorpe HC, Copeland J, Quirke P, Brown JM, Guillou PJ. Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg.* 2010;97(11):1638-1645. doi:10.1002/bjs.7160.
131. Ohtani H, Tamamori Y, Arimoto Y, Nishiguchi Y, Maeda K, Hirakawa K. A meta-analysis of the short- and long-term results of randomized con-trolled trials that compared laparoscopy-assisted and open colectomy for colon cancer. *J Cancer.* 2012;3(1):49-57. doi:10.7150/jca.3621.
132. Law WL, Poon JTC, Fan JKM, Lo OSH. Survival following laparoscopic versus open resection for colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27(8):1077-1085. doi:10.1007/s00384-012-1424-8.
133. Lacy AM, Delgado S, Castells A, et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg.* 2008;248(1):1-7. doi:10.1097/SLA.0b013e31816a9d65.
134. Pascual M, Alonso S, Parés D, et al. Randomized clinical trial comparing inflammatory and angiogenic response after open versus laparoscopic curative resection for colonic cancer. *Br J Surg.* 2011;98(1):50-59. doi:10.1002/bjs.7258.
135. Cianchi F1, Trallori G2, Mallardi B3, Macrì G4, Biagini MR5, Lami G6, Indennitate G7, Bagnoli S8, Bonanomi A9, Messerini L10, Badii B11, Staderini F12, Skalamera I13,

- Fiorenza G14 PG. Survival after laparoscopic and open surgery for colon cancer: a comparative, single-institution study. *BMC Surg*. 2015;25(15).
136. Guerrieri M, Campagnacci R, De Sanctis A, et al. Laparoscopic versus open colectomy for TNM stage III colon cancer: Results of a prospective multicenter study in Italy. *Surg Today*. 2012;42(11):1071-1077. doi:10.1007/s00595-012-0292-8.
 137. Sommariva a, Donisi PM, Gnocato B, Vianello R, Stracca Pansa V, Zaninotto G. Factors affecting false-negative rates on ex vivo sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2010;36(2):130-134. doi:10.1016/j.ejso.2009.06.007.
 138. Sunol X, Estrada O, del Bas M, Heredia A, Hidalgo L, Almenara R. [Planning, management and results of the implantation of laparoscopic surgery of the colon and rectum in a general hospital]. *Cir Esp*. 2007;82(2):99-104. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17785143\n(null).
 139. Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol*. 1981;75(6):816-821. doi:6167159.
 140. Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind C. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer*. 1999;86(12):2668-2673. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19991215)86:12<2668::AID-CNCR11>3.0.CO;2-R.
 141. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471-1474. doi:10.1245/s10434-010-0985-4.
 142. Minsky B, Mies C. The clinical significance of vascular invasion in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1989;32(9):794-803.
 143. Müller S a, Mehrabi A, Rahbari NN, et al. Allogeneic blood transfusion does not affect outcome after curative resection for advanced cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(1):155-164. doi:10.1245/s10434-013-3226-9.
 144. Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J. Validation of a combined comorbidity index. *J Clin Epidemiol*. 1994;47(11):1245-1251. doi:10.1016/0895-4356(94)90129-5.
 145. ASA. ASA Physical Status Classification System. *Am Soc Anesthesiol*. 2014:[https://www.asahq.org/For - Members/Clinical - Informa](https://www.asahq.org/For-Members/Clinical-Infoma). doi:-Physical-Status-Classification-System.aspx.
 146. Washington MK, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133:1539-1551. doi:10.1043/1543-2165-133.10.1539.

147. Kansagara D, Dyer E, Englander H, Fu R, Freeman M, Kagen D. Treatment of anemia in patients with heart disease: A systematic review. *Ann Intern Med.* 2013;159(11):746-757. doi:10.7326/0003-4819-159-11-201312030-00007.
148. Suño Sala X, Estrada Ó, Del Bas M, Heredia A, Hidalgo LA, Almenara R. Planificación, gestión y resultados de la implantación de la cirugía laparoscópica de colon y recto en un hospital general. *Cir Esp.* 2007;82(2):99-104.
149. Sjo OH, Merok MA, Svindland A, Nesbakken A. Prognostic Impact of Lymph Node Harvest and Lymph Node Ratio in Patients With Colon Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2012;55(3):307-315. doi:10.1097/DCR.0b013e3182423f62.
150. Bembenek AE, Rosenberg R, Wagler E, et al. Sentinel lymph node biopsy in colon cancer: a prospective multicenter trial. *Ann Surg.* 2007;245(6):858-863. doi:10.1097/01.sla.0000250428.46656.7e.
151. Viehl CT, Hamel CT, Marti WR, et al. Identification of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Depends on the Amount of Dye Injected Relative to Tumor Size. *World J Surg.* 2003;27(12):1285-1290. doi:10.1007/s00268-003-7086-5.
152. McDonald JR, Renehan AG, O'Dwyer ST, Haboubi NY. Lymph node harvest in colon and rectal cancer: Current considerations. *World J Gastrointest Surg.* 2012;4(1):9-19. doi:10.4240/wjgs.v4.i1.9.
153. Retter SM, Herrmann G, Schiedeck THK. Clinical value of sentinel node mapping in carcinoma of the colon. *Colorectal Dis.* 2011;13(8):855-859. doi:10.1111/j.1463-1318.2010.02293.x.
154. Faerden AE, Sjo OH, Bukholm IRK, et al. Lymph node micrometastases and isolated tumor cells influence survival in stage I and II colon cancer. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(2):200-206. doi:10.1007/DCR.0b013e3181fd4c7c.
155. Wiese D, Sirop S, Yestrepky B, et al. Ultrastaging of sentinel lymph nodes (SLNs) vs. non-SLNs in colorectal cancer-do we need both? *Am J Surg.* 2010;199(3):354-358. doi:10.1016/j.amjsurg.2009.08.032.
156. Van der Zaag ES, Bouma WH, Peters HM, Bemelman W a, Buskens CJ. Implications of sentinel lymph node mapping on nodal staging and prognosis in colorectal cancer. *Colorectal Dis.* 2012;14:684-690. doi:10.1111/j.1463-1318.2012.02949.x.
157. Stojadinovic A, Nissan A, Protic M, et al. Prospective Randomized Study Comparing Sentinel Lymph Node Evaluation With Standard Pathologic Evaluation for the Staging of Colon Carcinoma. *Ann Surg.* 2007;245(6):846-857. doi:10.1097/01.sla.0000256390.13550.26.
158. Ohlsson L, Israelsson A, Öberg Å, et al. Lymph node CEA and MUC2 mRNA as useful predictors of outcome in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2012;130(8):1833-1843. doi:10.1002/ijc.26182.

159. Paramo JC, Summerall J, Poppiti R, Mesko TW. Validation of sentinel node mapping in patients with colon cancer. *Ann Surg Oncol*. 2002;9(6):550-554.
160. Hitchcock CL, Sampsel J, Young DC, Martin Jr. EW, Arnold MW. Limitations with light microscopy in the detection of colorectal cancer cells. *Dis Colon Rectum*. 1999;42(8):1046-1052.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10458129.
161. Sasaki M, Watanabe H, Jass JR, et al. Occult lymph node metastases detected by cytokeratin immunohistochemistry predict recurrence in "node-negative" colorectal cancer. *J Gastroenterol*. 1997;32(6):758-764. doi:10.1007/BF02936951.
162. Pallarés-Segura JL, Balague-Pons C, Dominguez-Agustin N, et al. El papel del ganglio centinela en la evolución del cáncer de colon. *Cirugía Española*. 2014;92:670-675. doi:10.1016/j.ciresp.2014.01.010.
163. Nordgård O, Oltedal S, Kørner H, et al. Quantitative RT-PCR detection of tumor cells in sentinel lymph nodes isolated from colon cancer patients with an ex vivo approach. *Ann Surg*. 2009;249(4):602-607. doi:10.1097/SLA.0b013e31819ec923.
164. Lotspeich E, Schoene M, Gerngross H, et al. Detection of disseminated tumor cells in the lymph nodes of colorectal cancer patients using a real-time polymerase chain reaction assay. *Langenbecks Arch Surg*. 2007;392(5):559-566.
165. Sargent DJ, Resnick MB, Meyers MO, et al. Evaluation of Guanylyl Cyclase C Lymph Node Status for Colon Cancer Staging and Prognosis. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(12):3261-3270. doi:10.1245/s10434-011-1731-2.
166. Croner RS, Geppert C-I, Bader FG, et al. Molecular staging of lymph node-negative colon carcinomas by one-step nucleic acid amplification (OSNA) results in upstaging of a quarter of patients in a prospective, European, multicentre study. *Br J Cancer*. 2014;110(October 2013):2544-2550. doi:10.1038/bjc.2014.170.
167. Tsouma A, Aggeli C, Pissimissis N, Lembessis P, Zografos GN, Koutsilieris M. Circulating tumor cells in colorectal cancer: Detection methods and clinical significance. *Anticancer Res*. 2008;28(6 B):3945-3960.
168. Bell SW, Mourra N, Flejou JF, Parc R, Tiret E. Ex vivo sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(1):74-79. doi:Doi 10.1007/S10350-004-0782-X.
169. Mescoli C, Albertoni L, Pucciarelli S, et al. Isolated tumor cells in regional lymph nodes as relapse predictors in stage I and II colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(9):965-971. doi:10.1200/JCO.2011.35.9539.

170. Finan KR, Lewis JS, Winslow E, Mutch MG, Birnbaum EH, Fleshman JW. Ex vivo sentinel lymph node mapping in patients undergoing proctectomy for rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010;53:243-250. doi:10.1007/DCR.0b013e3181c3822b.
171. Bembenek A, Rau B, Moesta T, et al. Sentinel lymph node biopsy in rectal cancer--not yet ready for routine clinical use. *Surgery*. 2004;135(5):498-505; discussion 506-507. doi:10.1016/j.surg.2003.10.004.
172. Chan SH, Ng C, Looi LM. Intraoperative methylene blue sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. *ANZ J Surg*. 2008;78(9):775-779. doi:10.1111/j.1445-2197.2008.04648.x.
173. Messerini L, Cianchi F, Cortesini C, Comin CE. Incidence and prognostic significance of occult tumor cells in lymph nodes from patients with stage IIA colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2006;37(10):1259-1267. doi:10.1016/j.humpath.2006.04.023.
174. Short SS, Stojadinovic A, Nissan A, et al. Adjuvant treatment of early colon cancer with micrometastases: Results of a national survey. *J Surg Oncol*. 2012. doi:10.1002/jso.23057.
175. Nicastri DG, Doucette JT, Godfrey TE, Hughes SJ. Is Occult Lymph Node Disease in Colorectal Cancer Patients Clinically Significant? *J Mol Diagn*. 2007;9(5):563-571. doi:10.2353/jmoldx.2007.070032.
176. Van der Zaag ES, Kooij N, van de Vijver MJ, Bemelman WA, Peters HM, Buskens CJ. Diagnosing occult tumour cells and their predictive value in sentinel nodes of histologically negative patients with colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2010;36(4):350-357. doi:10.1016/j.ejso.2009.11.008.
177. Belt EJT, van Stijn MFM, Bril H, et al. Lymph node negative colorectal cancers with isolated tumor deposits should be classified and treated as stage III. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:3203-3211. doi:10.1245/s10434-010-1152-7.
178. Cutait R, Alves VAF, Lopes LC, et al. Restaging of colorectal cancer based on the identification of lymph node micrometastases through immunoperoxidase staining of CEA and cytokeratins. *Dis Colon Rectum*. 1991;34(10):917-920. doi:10.1007/BF02049708.
179. Doekhie FS, Kuppen PJK, Peeters KCMJ, et al. Prognostic relevance of occult tumour cells in lymph nodes in colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2006;32(3):253-258. doi:10.1016/j.ejso.2005.10.010.
180. Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A. The prognostic effect of micrometastases in previously staged lymph node negative (N0) colorectal carcinoma: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2006;13(11):1386-1392. doi:10.1245/s10434-006-9120-y.
181. Abati A LL. Looking forward in diagnostic pathology: the molecular superhighway. *Cancer*. 1996;Jul 1;78(1):1-3.

182. Klein CA, Blankenstein TJF, Schmidt-Kittler O, et al. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer. *Lancet*. 2002;360(9334):683-689. doi:10.1016/S0140-6736(02)09838-0.
183. XIUTIAN GUO, CUN WANG, XIAO-GANG SHEN, SI-QIN DING, YONG-YANG YU and Z-GZ. Occult tumor metastasis and the prognostic value of sentinel lymph nodes in rectal cancer. *Oncol Lett*. 2012;Feb (3)(2):411-414.
184. Noura S, Yamamoto H, Miyake Y, et al. Immunohistochemical assessment of localization and frequency of micrometastases in lymph nodes of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2002;8(3):759-767. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11895906> \n <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/8/3/759.full.pdf>.
185. Bosch Roig CE, Roselló-Sastre E, Alonso Hernández S, et al. Prognostic value of the detection of lymph node micrometastases in colon cancer. *Clin Transl Oncol*. 2008;10(9):572-578. doi:10.1007/s12094-008-0252-9.
186. Bilchik A, Nissan A, Wainberg Z, et al. Surgical quality and nodal ultrastaging is associated with long-term disease-free survival in early colorectal cancer: an analysis of 2 international multicenter prospective trials. *Ann Surg*. 2010;252(3):467-474; discussion 474-476. doi:10.1097/SLA.0b013e3181f19767.
187. Nordgård O, Oltedal S, Aasprong OG, et al. Prognostic Relevance of Occult Metastases Detected by Cytokeratin 20 and Mucin 2 mRNA Levels in Sentinel Lymph Nodes from Colon Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*. 2012;19:3719-3726. doi:10.1245/s10434-012-2454-8.
188. Lips DJ, Koebrugge B, Liefers GJ, et al. The influence of micrometastases on prognosis and survival in stage I-II colon cancer patients: the Enroute \oplus Study. *BMC Surg*. 2011;11:11. doi:10.1186/1471-2482-11-11.
189. Huh JW, Kim HR, Kim YJ. Lymphovascular or perineural invasion may predict lymph node metastasis in patients with T1 and T2 colorectal cancer. *J Gastrointest Surg*. 2010;14(7):1074-1080. doi:10.1007/s11605-010-1206-y.
190. Chok KSH, Law WL. Prognostic factors affecting survival and recurrence of patients with pT1 and pT2 colorectal cancer. *World J Surg*. 2007;31(7):1485-1490. doi:10.1007/s00268-007-9089-0.
191. Benson AB, Schrag D, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22(16):3408-3419. doi:10.1200/JCO.2004.05.063.
192. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-383. doi:10.1016/0021-9681(87)90171-8.

193. Law WL, Choi HK, Lee YM, Ho JWC, Seto CL. Anastomotic leakage is associated with poor long-term outcome in patients after curative colorectal resection for malignancy. In: *Journal of Gastrointestinal Surgery*. Vol 11. ; 2007:8-15. doi:10.1007/s11605-006-0049-z.
194. Lombardi L, Morelli F, Cinieri S, et al. Adjuvant colon cancer chemotherapy: Where we are and where we'll go. *Cancer Treat Rev*. 2010;36:S34-S41. doi:10.1016/S0305-7372(10)70018-9.
195. Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet*. 1981;15(2(8242)):363.
196. Walker RH. Special report: Transfusion risks. *Am J Clin Pathol*. 1987;88(3):374-378. doi:10.1016/0278-2391(88)90435-1.
197. Múzes G, Molnár B, Sipos F. Regulatory T cells in inflammatory bowel diseases and colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2012;18(40):5688-5694. doi:10.3748/wjg.v18.i40.5688.
198. Pellicer Franco EM, García Olmo D, Parrilla Paricio P, Morales Cuenca G, Prieto A. Blood transfusion worsens the prognosis in colorectal cancer. Preliminary study in a series of 717 cases. *Rev Esp Enferm Dig*. 1990;77(3):189-192.
199. Acheson AG, Brookes MJ, Spahn DR. Effects of allogeneic red blood cell transfusions on clinical outcomes in patients undergoing colorectal cancer surgery: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg*. 2012;256(2):235-244. doi:10.1097/SLA.0b013e31825b35d5.
200. Bennett-Guerrero E, Zhao Y, O'Brien SM, et al. Variation in use of blood transfusion in coronary artery bypass graft surgery. *JAMA*. 2010;304(14):1568-1575. doi:10.1001/jama.2010.1406.
201. Spahn DR. Anemia and patient blood management in hip and knee surgery: a systematic review of the literature. *Anesthesiology*. 2010;113(2):482-495. doi:10.1097/ALN.0b013e3181e08e97.
202. Goodnough LT, Levy JH, Murphy MF. Concepts of blood transfusion in adults. *Lancet*. 2013;381(9880):1845-1854. doi:10.1016/S0140-6736(13)60650-9.
203. Neudecker J, Klein F, Bittner R, Carus T, Stroux A, Schwenk W. Short-term outcomes from a prospective randomized trial comparing laparoscopic and open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg*. 2009;96(12):1458-1467. doi:10.1002/bjs.6782.
204. Hewett PJ, Allardyce RA, Bagshaw PF, et al. Short-term outcomes of the Australasian randomized clinical study comparing laparoscopic and conventional open surgical treatments for colon cancer: the ALCCaS trial. *Ann Surg*. 2008;248(5):728-738. doi:10.1097/01.dcr.0000345800.44818.3b.

205. Janet L. Markman SLS. Impact of the immune system and immunotherapy in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2015;6(2):208-223.
206. Opelz G, Terasaki PI. Improvement of kidney-graft survival with increased numbers of blood transfusions. *N Engl J Med*. 1978;299(15):799-803. doi:10.1056/NEJM197810122991503.
207. Atzil S, Arad M, Glasner A, et al. Blood transfusion promotes cancer progression: a critical role for aged erythrocytes. *Anesthesiology*. 2008;109(6):989-997. doi:10.1097/ALN.0b013e31818ddb72.
208. Mynster T, Nielsen HJ. Storage time of transfused blood and disease recurrence after colorectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum*. 2001;44(7):955-964. doi:10.1007/BF02235483.
209. Van De Watering LMG, Brand A, Houbiers JGA, Klein Kranenbarg WM, Hermans J, Van De Velde CJH. Perioperative blood transfusions, with or without allogeneic leucocytes, relate to survival, not to cancer recurrence. *Br J Surg*. 2001;88(2):267-272. doi:10.1046/j.1365-2168.2001.01674.x.
210. Edna TH, Bjerkeset T. Perioperative blood transfusions reduce long-term survival following surgery for colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1998;41(4):451-459.
211. Harlaar JJ, Gosselink MP, Hop WCJ, Lange JF, Busch ORC, Jeekel H. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer: long-term results of a randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2012;256(5):681-686; discussion 686-687. doi:10.1097/SLA.0b013e318271cedf.
212. Busch OR, Hop WC, van Papendrecht MA, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1993;328(19):1372-1376. papers2://publication/doi/10.1056/NEJM199305133281902.
213. Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, et al. Blood transfusion-modulated tumor recurrence: First results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol*. 1994;12(9):1859-1867.
214. Heiss MM, Fraunberger P, Delanoff C, et al. Modulation of immune response by blood transfusion: Evidence for a differential effect of allogeneic and autologous blood in colorectal cancer surgery. *Shock*. 1997;8(6):402-408.
215. Swisher SG, Holmes EC, Hunt KK, Gornbein JA, Zinner MJ, McFadden DW. Perioperative blood transfusions and decreased long-term survival in esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;112(2):341-348. doi:S0022-5223(96)70260-X [pii].
216. Tarantino I, Ukegjini K, Warschkow R, et al. Blood transfusion does not adversely affect survival after elective colon cancer resection: a propensity score analysis. *Langenbecks Arch Surg*. 2013;398(6):841-849. doi:10.1007/s00423-013-1098-x.

217. Donohue JH, Williams S, Cha S, et al. Perioperative blood transfusions do not affect disease recurrence of patients undergoing curative resection of colorectal carcinoma: a Mayo/North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol.* 1995;13(7):1671-1678.
218. 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):1972-1985. doi:10.3748/wjg.v20.i8.1972.
219. Ludwig Prof. H, Müldür E, Endler G, Hübl W. Prevalence of iron deficiency across different tumors and its association with poor performance status, disease status and anemia. *Ann Oncol.* 2013;24(7):1886-1892. doi:10.1093/annonc/mdt118.
220. Leichtle SW, Mouawad NJ, Lampman R, Singal B, Cleary RK. Does preoperative anemia adversely affect colon and rectal surgery outcomes? *J Am Coll Surg.* 2011;212(2):187-194. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2010.09.013.
221. Reynolds W. The first laparoscopic cholecystectomy. *Jsls.* 2001;5(1):89-94.
222. Berends FJ, Kazemier G, Bonjer HJ LJ. Subcutaneous metastases after laparoscopic colectomy. *Lancet.* 1994;344(8914)(July 2):58.
223. Fleshman J, Sargent DJ, Green E, et al. Laparoscopic colectomy for cancer is not inferior to open surgery based on 5-year data from the COST Study Group trial. *Ann Surg.* 2007;246(4):655-662; discussion 662-664. doi:10.1097/SLA.0b013e318155a762.
224. Guillou PJ, Quirke P, Thorpe H, et al. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): Multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;365(9472):1718-1726. doi:10.1016/S0140-6736(05)66545-2.
225. Lacy AM, García-Valdecasas JC, Delgado S, et al. Laparoscopy-assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: A randomised trial. *Lancet.* 2002;359(9325):2224-2229. doi:10.1016/S0140-6736(02)09290-5.
226. Morneau M, Boulanger J, Charlebois P, et al. Laparoscopic versus open surgery for the treatment of colorectal cancer: a literature review and recommendations from the Comité de l'évolution des pratiques en oncologie. *Can J Surg.* 2013;56(5):297-310.
227. Reilly WT, Nelson H, Schroeder G, Wieand HS, Bolton J, O'Connell MJ. Wound recurrence following conventional treatment of colorectal cancer: A rare but perhaps underestimated problem. *Dis Colon Rectum.* 1996;39(2):200-207. doi:10.1007/BF02068076.
228. Nelson H, Sargent D, Wieand HS et al. Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004;350:2050-2059.

229. Jayne DG, Guillou PJ, Thorpe H, et al. Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-Year results of the UK MRC CLASICC trial group. *J Clin Oncol*. 2007;25(21):3061-3068. doi:10.1200/JCO.2006.09.7758.
230. Kuhry E, Schwenk W, Gaupset R, Romild U, Bonjer J. Long-term outcome of laparoscopic surgery for colorectal cancer: A cochrane systematic review of randomised controlled trials. *Cancer Treat Rev*. 2008;34(6):498-504. doi:10.1016/j.ctrv.2008.03.011.
231. Chan ACY, Poon JTC, Fan JKM, Lo SH, Law WL. Impact of conversion on the long-term outcome in laparoscopic resection of colorectal cancer. *Surg Endosc*. 2008;22(12):2625-2630. doi:10.1007/s00464-008-9813-3.
232. Gonzalez R, Smith CD, Mason E, et al. Consequences of conversion in laparoscopic colorectal surgery. *Dis Colon Rectum*. 2006;49(2):197-204. doi:10.1007/s10350-005-0258-7.
233. Tekkis PP, Senagore AJ, Delaney CP. Conversion rates in laparoscopic colorectal surgery: A predictive model with 1253 patients. *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2005;19(1):47-54. doi:10.1007/s00464-004-8904-z.
234. Pikarsky AJ, Saida Y, Yamaguchi T, et al. Is obesity a high-risk factor for laparoscopic colorectal surgery? *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2002;16(5):855-858. doi:10.1007/s004640080069.
235. Ptok H, Steinert R, Meyer F, et al. Long-term oncological results after laparoscopic, converted and primary open procedures for rectal carcinoma. Results of a multicenter observational study. *Chirurg*. 2006;77(8):709-717. doi:10.1007/s00104-006-1199-y.
236. Lehnert T, U Abel, Kienle P, Hinz U. Open versus laparoscopy-assisted colectomy. *Lancet*. 2003;361(9351):74.
237. Jacob BP, Salky B. Laparoscopic colectomy for colon adenocarcinoma: An 11-year retrospective review with 5-year survival rates. *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2005;19(5):643-649. doi:10.1007/s00464-004-8921-y.
238. Day AR, Smith RVP, Jourdan IC, Rockall TA. Survival following laparoscopic and open colorectal surgery. *Surg Endosc*. 2013;27(7):2415-2421. doi:10.1007/s00464-012-2750-1.
239. Capussotti L, Massucco P, Muratore A, Amisano M, Bima C, Zorzi D. *Laparoscopy as a Prognostic Factor in Curative Resection for Node Positive Colorectal Cancer: Results for a Single-Institution Nonrandomized Prospective Trial*. Vol 18.; 2004. doi:10.1007/s00464-003-9152-3.

240. Bilimoria KY, Bentrem DJ, Nelson H, et al. Use and outcomes of laparoscopic-assisted colectomy for cancer in the United States. *Arch Surg*. 2008;143(9):832-839; discussion 839-840. doi:10.1001/archsurg.143.9.832.
241. Law WL, Choi HK, Lee YM, Ho JW. The impact of postoperative complications on long-term outcomes following curative resection for colorectal cancer. *Ann Surg Oncol Off J Soc Surg Oncol*. 2007;14(1068-9265; 9):2559-2566. doi:10.1245/s10434-007-9434-4.
242. Hirai T, Yamashita Y, Mukaida H, Kuwahara M, Inoue H, Toge T. Poor prognosis in esophageal cancer patients with postoperative complications. *Surg Today*. 1998;28(6):576-579.
243. Senagore AJ, Stulberg JJ, Byrnes J, Delaney CP. A national comparison of laparoscopic vs. open colectomy using the national surgical quality improvement project data. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(2):183-186. doi:10.1007/DCR.0b013e31819ad4a4.
244. Wong YT, Shah PC, Birkett DH, Brams DM. Peritoneal pH during laparoscopy is dependent on ambient gas environment: Helium and nitrous oxide do not cause peritoneal acidosis. *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2005;19(1):60-64. doi:10.1007/s00464-003-9291-6.
245. West MA, Baker J, Bellingham J. Kinetics of decreased LPS-stimulated cytokine release by macrophages exposed to CO₂. *J Surg Res*. 1996;63(1):269-274. doi:10.1006/jsre.1996.0259.
246. Chekan EG, Nataraj C, Clary EM, et al. Intraperitoneal immunity and pneumoperitoneum. *Surg Endosc*. 1999;13(11):1135-1138. doi:10.1007/s004649901189.
247. Balagué C, Targarona EM, Pujol M, Filella X, Espert JJ, Trias M. Peritoneal response to a septic challenge: Comparison between open laparotomy, pneumoperitoneum laparoscopy, and wall lift laparoscopy. *Surg Endosc*. 1999;13(8):792-796. doi:10.1007/s004649901101.
248. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)*. 1990;79(2):161-165.
249. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg*. 1992;79(8):757-760.
250. Grande M, Tucci G, Adorisio O, et al. Systemic acute-phase response after laparoscopic and open cholecystectomy. *Surg Endosc*. 2002;16(2):313-316. doi:10.1007/s00464-001-9042-5.
251. Hewitt PM, Ip SM, Kwok SP, et al. *Laparoscopic-Assisted vs. Open Surgery for Colorectal Cancer: Comparative Study of Immune Effects*. Vol 41.; 1998. doi:10.1007/BF02235376.

-
252. Delgado S, Lacy AM, Filella X, et al. *Acute Phase Response in Laparoscopic and Open Colectomy in Colon Cancer: Randomized Study*. Vol 44.; 2001.
 253. Belizon A, Balik E, Feingold DL, et al. Major abdominal surgery increases plasma levels of vascular endothelial growth factor: open more so than minimally invasive methods. *Ann Surg*. 2006;244:792-798. doi:10.1097/01.sla.0000225272.52313.e2 [doi]\n00000658-200611000-00025 [pii].
 254. Dunne JR, Cannon CJ, Osborn TM, Taylor MD, Malone DL, Napolitano LM. Preoperative anemia in colon cancer: Assessment of risk factors. *Am Surg*. 2002;68(6):582-587.
 255. Kehlet H, Wilmore DW. Evidence-based surgical care and the evolution of fast-track surgery. *Ann Surg*. 2008;248(2):189-198. doi:10.1097/SLA.0b013e31817f2c1a.