



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Estudio molecular mediante el método OSNA del ganglio centinela en el cáncer de colon.

Aintzane Maqueda Merino

Departamento de Cirugía, Radiología y Medicina Física.

Facultad de medicina (UPV/EHU)

Leioa 2020

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.A. COLON Y RECTO	3
1.A.1. Desarrollo embriológico	3
1.A.2. Anatomía	4
1.A.3. Vascularización	5
1.B. CARCINOMA COLORRECTAL (CCR)	10
1.B.1. Epidemiología	10
1.B.2. Factores de riesgo	11
1.B.3. Patogenia	16
1.B.4. Vías de diseminación del cáncer colorrectal	22
1.B.5. Clínica	23
1.B.6. Diagnóstico	24
1.B.7. Método de cribado en el CCR.....	25
1.B.8. Clasificación	26
1.B.9. Tratamiento del cáncer de colon	30
1.B.10. Pronóstico. Factores pronóstico	35
1.C. GANGLIO CENTINELA	43
1.C.1. Reseña histórica	43
1.C.2. Ganglio centinela en el cáncer de colon.	46
Características del drenaje linfático del colon	46
1.C.3. Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon	47
1.D. MÉTODO OSNA.....	56
1.D.1. Reseña histórica	56
1.D.2. Estudio molecular	59
1.D.3. Aplicación del método OSNA en el cáncer de colon.....	64
Potenciación del método OSNA con la técnica del ganglio centinela.....	64
2. HIPÓTESIS	67
3. OBJETIVOS	71
3.A. OBJETIVO PRINCIPAL	73
3.B. OBJETIVO ESPECÍFICO	73

3.C. OBJETIVOS SECUNDARIOS	73
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	77
4.A. DISEÑO DEL ESTUDIO	79
4.B. ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	80
4.C. POBLACIÓN DE ESTUDIO	81
4.D. MUESTRA DE PACIENTES.....	82
4.E. MÉTODO	83
4.E.1. Grupo OSNA.....	83
4.E.2. Grupos control.....	90
5. RESULTADOS.....	95
5.A. GRUPO OSNA.....	97
5.A.1. Datos epidemiológicos y quirúrgicos	97
5.A.2. Análisis del estudio ganglionar.....	103
5.A.3. Pacientes en estadio III.....	113
5.A.4. Pacientes con menos de 12 ganglios aislados.....	118
5.B. COMPARACIÓN CON EL GRUPO CONTROL "A"	125
5.B.1. Datos epidemiológicos y quirúrgicos	126
5.B.2. Análisis del estudio ganglionar	131
5.B.3. Pacientes con menos de 12 ganglios.....	135
5.C. COMPARACIÓN CON EL GRUPO CONTROL "B"	142
5.C.1. Datos epidemiológicos y quirúrgicos	143
5.C.2. Análisis del estudio ganglionar	148
5.C.3. Pacientes en estadio III del grupo control "B"	154
5.C.4. Pacientes del grupo control "B" con menos de 12 ganglios	158
6.DISCUSIÓN	169
6.A. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON	171
6.A.1. Importancia de la infiltración ganglionar en el cáncer de colon.....	171
6.A.2. Número mínimo de ganglios estudiados para una correcta estadificación	173
6.A.3. Ratio de ganglios linfáticos.....	175
6.A.4. Estudio histológico convencional	176
6.A.5. Técnicas de estudio intensivo	178

6.B. JUSTIFICACIÓN DEL USO DE LA TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER DE COLON	179
6.B.1. Importancia de la identificación del ganglio centinela en el cáncer de colon	179
6.B.2. Justificación del uso de la técnica <i>ex vivo</i>	181
6.B.3. Justificación del uso de azul de metileno	184
6.B.4. Curva de aprendizaje	185
6.B.5. Justificación del estudio intensivo de los ganglios centinela	186
6.C. JUSTIFICACIÓN DEL USO DEL MÉTODO OSNA	187
6.C.1. El método OSNA en el estudio ganglionar	187
6.C.2. Ventajas y limitaciones del método OSNA	189
6.C.3. Interpretación del estudio molecular del ganglio centinela	191
6.D. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	193
6.D.1. Características de las muestras	193
6.D.2. Análisis de los resultados del estudio ganglionar	199
6.D.3. Resultados de pacientes en estadio III	208
6.D.4. Pacientes con menos de 12 ganglios identificados	230
6.E. RESUMEN	240
7. CONCLUSIONES	243

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Desarrollo del intestino primitivo.....	3
Figura 2. Anatomía del colon y recto.....	4
Figura 3. Vascularización del colon.	5
Figura 4. Retorno venoso del colon.	7
Figura 5. Drenaje linfático del colon.	8
Figura 6. Drenaje linfático del recto.	9
Figura 7. Proceso de amplificación molecular. Tecnología RT-LAMP.	88
Figura 8. Gráfico circular. Relación entre hombres y mujeres en el cáncer de colon. ..	97
Figura 9. Gráfico circular. Vía de abordaje laparoscópica versus laparotómica.	100
Figura 10. Gráfico de columnas. Infiltración local.....	101
Figura 11. Gráfico circular. Ganglios centinela afectados y no afectados.	104
Figura 12. Gráfico circular. Tipo de afectación de los GC.	105
Figura 13. Gráfico circular. Tipo de infiltración metastásica o micrometastásica de los GC.....	105
Figura 14. Gráfico de columnas. Pacientes con infiltración de los GC. Tipo de infiltración ganglionar.	107
Figura 15. Gráfico circular. Infiltración metastásica o micrometastásica de los GC....	107
Figura 16. Gráfico circular. Infiltración por metástasis, micrometástasis o CTA en los pacientes con GC afectados.	108
Figura 17. Gráfico circular. Detección de pacientes con infiltración ganglionar mediante el estudio de los GnoC.....	111
Figura 18. Gráfico de columnas. Comparación de la infiltración de los GC y los GnoC.	112
Figura 19. Gráfico circular. Pacientes con menos de 12 ganglios.	118
Figura 20. Gráfico de columnas. Pacientes con menos de 12 ganglios. La afectación ganglionar según el estudio de los GC y de los GnoC.....	122
Figura 21. Gráfico de columnas. Vía de abordaje quirúrgico.....	128
Figura 22. Gráfico de columnas. Comparación de la vía de abordaje del grupo control "A" y del grupo OSNA.	129
Figura 23. Gráfico de columnas. Técnica quirúrgica empleada.	144

Figura 24. Gráfico de columnas. Cirugía laparoscópica versus laparotómica en el grupo control "B".	145
Figura 25. Gráfico de columnas. Vía de abordaje quirúrgico en el grupo OSNA y el grupo control "B".	146
Figura 26. Gráfico circular. GnoC infiltrados y no infiltrados en el grupo control "B".	153
Figura 27. Gráfico circular. GC infiltrados y no infiltrados en el grupo control "B".	153
Figura 28. Gráfico de columnas. Tipo de infiltración de los GC.	161
Figura 29. Gráfico circular. GC infiltrados y no infiltrados.	161
Figura 30. Gráfico de columnas. GC y GnoC infiltrados en el grupo OSNA y control "B".	204
Figura 31. Gráfico de columnas. Tipo de infiltración de los GC en el grupo OSNA y el control "B".	216

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Niveles de agrupación ganglionar.	8
Tabla 2. Drenaje linfático del recto.	9
Tabla 3. Factores de riesgo del cáncer de colon.	15
Tabla 4. Estadificación del cáncer de colon. Estadios según los sistemas de clasificación TNM, Dukes y MAC.	26
Tabla 5. Estadios tumorales y correlaciones.	29
Tabla 6. Terminología según la estadificación TNM	29
Tabla 7. Supervivencia a 5 años según el estadio tumoral al diagnóstico.	35
Tabla 8. Clasificación r del tumor residual según la TNM.	38
Tabla 9. Diferenciación tumoral según la formación glandular.	39
Tabla 10. Tipo de marcadores disponibles para la búsqueda de los ganglios centinela.	47
Tabla 11. Definición de conceptos básicos para la interpretación de las bases moleculares del método OSNA	60
Tabla 12. Reactivos de rd-100i hts.	85
Tabla 13. Resumen de técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo OSNA.	99
Tabla 14. Resumen de técnicas quirúrgicas empleadas y vía de abordaje quirúrgico en el grupo OSNA.	100
Tabla 15. Asociación entre infiltración local (T), ganglios localizados y afectación ganglionar.	102
Tabla 16. Resumen de tabla previa. Asociación entre infiltración local (T), ganglios localizados y afectación ganglionar.	102
Tabla 17. GC en el grupo OSNA	103
Tabla 18. Clasificación de la infiltración ganglionar según el número de copias identificado.	105
Tabla 19. Tipo de infiltración de los GC y número de pacientes afectados.	106
Tabla 20. Relación entre la infiltración local (T) y pacientes con GC positivos para metástasis y micrometástasis.	109
Tabla 21. Relación entre la infiltración local (T) y pacientes con GC positivos para metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas.	109

Tabla 22. Clasificación de la infiltración ganglionar según la técnica de estudio convencional con sección única y tinción con H-E	110
Tabla 23. Relación entre los GnoC positivos y la infiltración local (T).	111
Tabla 24. Concepto de "supraestadificación".	113
Tabla 25. Tabla de 2x2 de la prueba diagnóstica y parámetros obtenidos de la misma, considerando pacientes en E-III aquellos con infiltración metastásica y/o micrometastásica.	115
Tabla 26. Tabla de 2x2 de la prueba diagnóstica y parámetros obtenidos de la misma, considerando pacientes en E-III aquellos con infiltración metastásica, micrometastásica y/o con células tumorales aisladas.....	115
Tabla 27. Relación entre la infiltración local (T) y los falsos negativos.....	116
Tabla 28. Relación entre la localización tumoral, la técnica quirúrgica empleada y los falsos negativos.	117
Tabla 29. Relación entre la intervención quirúrgica realizada y el número de pacientes con menos de 12 ganglios.	119
Tabla 30. Comparación de la edad del grupo control "A" y el grupo OSNA	126
Tabla 31. Comparación en cuanto al sexo del grupo control "A" y el grupo OSNA.....	126
Tabla 32. Técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "A"	127
Tabla 33. Técnicas quirúrgicas empleadas agrupadas por territorio vascular en el grupo control "A".	127
Tabla 34. Localización tumoral y técnica quirúrgica empleada. Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA	128
Tabla 35. Infiltración tumoral local (T). Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA	130
Tabla 36. Pacientes con ganglios positivos (E-III). Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA	133
Tabla 37. Comparación de pacientes en E-III en el grupo control "A" y el grupo OSNA: en la 1ª fila se han considerados únicamente los pacientes diagnosticados de E-III por el hallazgo de infiltración en los GnoC. En la 2ª fila se han tenido en cuenta los pacientes diagnosticados de E-III por infiltración tanto en GnoC como en GC.....	134
Tabla 38. Relación entre técnicas quirúrgicas empleadas y pacientes con menos de 12 ganglios en el grupo control "A"	135

Tabla 39. Comparación de las intervenciones realizadas en el grupo control "A" y en el grupo OSNA con menos de 12 ganglios identificados.....	137
Tabla 40. Comparación de la infiltración local (T) en el grupo controla "A" y grupo OSNA con menos de 12 ganglios.	138
Tabla 41. Comparación de la infiltración ganglionar en el grupo control "A" y el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, desglosando los GC y los GnoC en el grupo OSNA .	139
Tabla 42. Comparación en cuanto al sexo del grupo control "B" y el grupo OSNA.....	143
Tabla 43. Técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "B".....	144
Tabla 44. Técnicas quirúrgicas empleadas. Comparación entre el grupo control "B" y el grupo OSNA	145
Tabla 45. Comparación de técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "B" y grupo OSNA al agrupar las técnicas por territorios vasculares.	146
Tabla 46. Infiltración local (T) en el grupo control "B".....	147
Tabla 47. Comparación de la infiltración local (T) en el grupo control "B" y el grupo OSNA.....	147
Tabla 48. Comparación de los GC infiltrados por metástasis o micrometástasis en el grupo control "B" y el grupo OSNA	149
Tabla 49. Relación entre técnicas quirúrgicas empleadas y porcentaje de pacientes con menos de 12 ganglios en el grupo control "B".....	158
Tabla 50. Comparación de las técnicas quirúrgicas empleadas en los grupos control "B" y OSNA con menos de 12 ganglios identificados.	159
Tabla 51. Limitaciones del estudio convencional.	177
Tabla 52. Ventajas de las técnicas ex vivo.	183
Tabla 53. Ventajas del azul de metileno.	184
Tabla 54. Objetivo del estudio intensivo de los GC.....	186
Tabla 55. Valores de referencia para metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas en el método OSNA.....	191
Tabla 56. Edad media al diagnóstico y relación H-M del cáncer de colon en los tres grupos del estudio.	194
Tabla 57. Observaciones de la vía de abordaje laparoscópica.	198
Tabla 58. Rentabilidad del estudio intensivo de los GC.....	204

Tabla 59. Comparación de la infiltración de los GC por metástasis y micrometástasis en el grupo control "B" y el grupo OSNA.....	205
Tabla 60. Relación entre la infiltración tumoral local (T), el número de ganglios identificados y la afectación ganglionar.	207
Tabla 61. Comparación del estudio intensivo de los GC, el estudio convencional de los GnoC y ambos conjuntamente en el grupo control "B" y el grupo OSNA	212
Tabla 62. Resumen de los beneficios observados en este estudio de investigación. .	212
Tabla 63. Resumen de los hallazgos de la supraestadificación obtenidos en este estudio de investigación.....	216
Tabla 64. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional.	217
Tabla 65. Comparación de pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "A".	218
Tabla 66. Beneficio del estudio de los GC mediante el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC con respecto al grupo control "A".	218
Tabla 67. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio intensivo con múltiples secciones.....	219
Tabla 68. Beneficio del estudio de los GC mediante el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC con respecto estudio realizado en el grupo control "B"....	220
Tabla 69. Parámetros estadísticos obtenidos al considerar infiltración ganglionar las metástasis y micrometástasis.....	225
Tabla 70. Parámetros estadísticos obtenidos al considerar afectación ganglionar las metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas.	225
Tabla 71. Definición de falsos negativos.	226
Tabla 72. Relación entre técnica quirúrgica realizada y pacientes con menos de 12 ganglios identificados.	232
Tabla 73. Resumen de factores relacionados con el número de ganglios identificados.	233
Tabla 74. Beneficios del uso del método OSNA en los pacientes con menos de 12 ganglios.....	234
Tabla 75. Comparación de la supraestadificación en los subgrupos con menos de 12 ganglios del grupo OSNA y del grupo control "B".	236

Tabla 76. Resumen de los resultados obtenidos en cuanto a supraestadificación en los subgrupos de pacientes con menos de 12 ganglios. Comparación del grupo OSNA con el grupo control "A"..... 237

Tabla 77. Resumen de los resultados obtenidos en cuanto a supraestadificación en los subgrupos de pacientes con menos de 12 ganglios. Comparación del grupo OSNA con el grupo control "B" 238

1. INTRODUCCIÓN

1.A. COLON Y RECTO

1.A.1. DESARROLLO EMBRIOLÓGICO

Hacia el final de la cuarta semana del desarrollo embrionario, y como consecuencia del plegamiento cefalocaudal y lateral del embrión, una porción de la cavidad del saco vitelino revestida de endodermo queda incorporada al embrión para formar el intestino primitivo.

El intestino primitivo se divide en cuatro porciones; intestino faríngeo, intestino anterior, medio y posterior. El colon y recto se desarrollan a partir del intestino medio y posterior.

El intestino medio comienza en el adulto inmediatamente distal a la desembocadura del colédoco en el duodeno y se extiende hasta los dos tercios proximales del colon transverso. Está irrigado en toda su extensión por la arteria mesentérica superior.

El intestino posterior dará lugar al tercio distal del colon transverso, colon descendente, sigma, recto y porción superior del canal anal. La porción terminal del intestino posterior se continúa con la región posterior de la llamada cloaca.¹

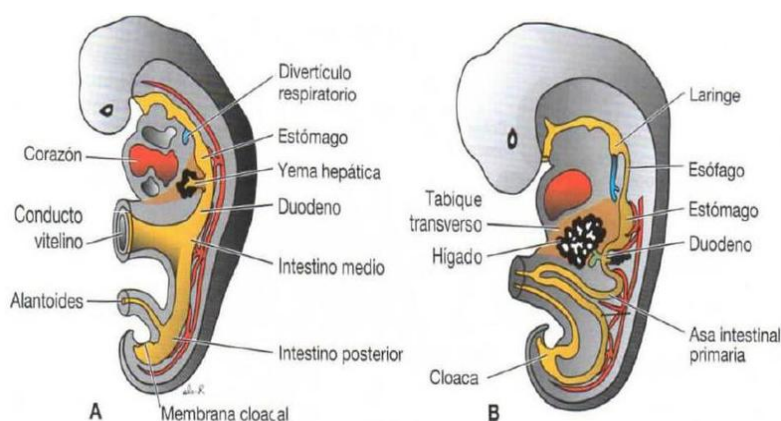


Figura 1. Desarrollo del intestino primitivo².

¹ W. Sadler, *Langman. Embriología Médica Con Orientación Clínica.*, 9^o edición (Madrid: MedicaPanamericana, 2004).

² W. Sadler. Pag 313.

1.A.2. ANATOMÍA

El colon y el recto están constituidos por un tubo de diámetro variable y de aproximadamente 1,5m de longitud. La unión entre el colon y el intestino delgado ocurre entre el íleon terminal y el ciego mediante la válvula ileocecal.

El colon se subdivide en diferentes porciones con distintas características anatómicas:

- El ciego es una estructura de aspecto sacular con un diámetro medio de 7-8cm y una longitud de 10cm. En el ciego, y teniendo como referencia la unión de las tres tenias se identifica el apéndice cecal.
- El colon ascendente se continua desde el ciego, dirección craneal hacia el hígado con una longitud aproximada de 15cm. Su cara posterior se encuentra fijada al retroperitoneo, el resto es intraabdominal.
- El colon transverso tiene una longitud media de 45cm y se extiende desde el ángulo hepático hasta el ángulo esplénico. Se trata de una porción completamente intraabdominal y revestida de peritoneo visceral.
- El colon descendente baja 25cm desde la flexura del ángulo esplénico. Es más estrecho que el colon ascendente y se encuentra fijo al retroperitoneo.
- El sigma se continúa del colon descendente. Es una estructura intraabdominal móvil, con una longitud muy variable.
- El recto tiene una longitud de 12-15cm y carece de tenias y de apéndices epiplóicos. Se encuentra en la pelvis y su cara posterior es completamente extraperitoneal.^{3 4}

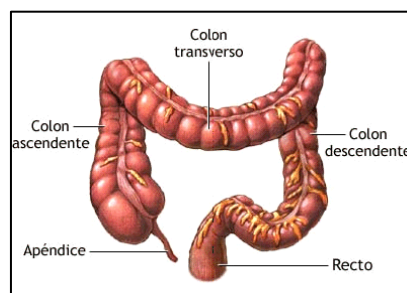


Figura 2. Anatomía del colon y recto.⁴

³ Robert D. Fry et al., *Sabiston Tratado de Cirugía. Fundamentos Biológicos de La Práctica Quirúrgica Moderna.*, Edición Española de la 19ª edición (Barcelona, España.: Saunders, Elsevier, 2013).

⁴ Figura 2: "Intestino," 2007.

1.A.3. VASCULARIZACIÓN

1.A.3.a. VASCULARIZACIÓN ARTERIAL:

Las estructuras desarrolladas a partir del intestino medio embrionario reciben su irrigación arterial de la arteria mesentérica superior, mientras que las estructuras desarrolladas a partir del intestino posterior, lo hacen desde la arteria mesentérica inferior:^{5 6 7}

- La arteria mesentérica superior nace en la línea media ventral de la aorta abdominal unos centímetros por debajo del tronco celíaco. Irriga todo el intestino delgado desde la 2ª-3ª porción duodenal y emite entre 12 y 20 ramas izquierdas para la irrigación de yeyuno e íleon. Desde la arteria mesentérica superior generalmente surgen tres ramas principales encargadas de la vascularización del colon: arteria ileocólica, cólica derecha y cólica media.
- La arteria mesentérica inferior se origina del lado lateral izquierdo de la aorta abdominal a la altura L2-3 unos 3 cm antes de la bifurcación de la aorta abdominal en ilíacas primitivas. De esta arteria surge una rama cólica izquierda, un número variable de ramas sigmoideas y la arteria rectal superior.

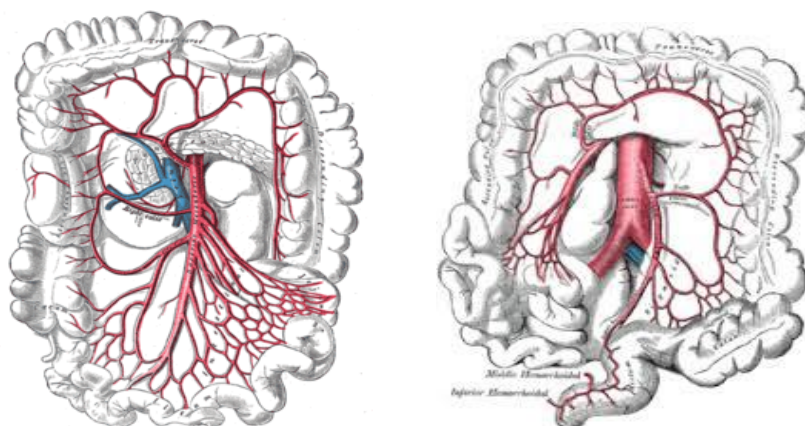


Figura 3. Vascularización del colon.⁷

⁵ W. Sadler, Langman. *Embriología Médica Con Orientación Clínica*.

⁶ Robert D. Fry et al., *Sabiston Tratado de Cirugía. Fundamentos Biológicos de La Práctica Quirúrgica Moderna*.

⁷ H. Gray and W.H. Lewis, "Anatomy of the Human Body" (Americana, 1918), 606 y 609.

La porción media y distal del recto reciben su irrigación de las arterias rectales media e inferior. La arteria rectal media nace de la arteria iliaca interna y la arteria rectal inferior es una rama de la arteria pudenda.

Existe una importante comunicación entre ramas principales y colaterales:

- La arteria marginal es un importante vaso que comunica la circulación de la arteria mesentérica superior e inferior creando una arcada continua en el borde mesentérico del colon. A partir de esta arteria los vasos rectos se ramifican e irrigan directamente la pared intestinal.
- La arcada de Riolo es una arteria colateral que comunica directamente la arteria mesentérica superior e inferior y tiene especial interés cuando se obstruye una de las ramas principales.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• <u>Arteria mesentérica superior</u>: ciego, colon ascendente, ángulo hepático del colon y los dos tercios proximales del colon transverso.• <u>Arteria mesentérica inferior</u>: El tercio distal del colon transverso, el colon descendente, sigma y tercio superior del recto. |
|---|

1.A.3.b. RETORNO VENOSO:

El retorno venoso del colon en su inicio es muy semejante a la irrigación arterial:

- El drenaje venoso del ciego, colon ascendente y dos tercios proximales del colon transverso desembocan en la vena mesentérica superior que confluirá con la vena esplénica para formar la vena porta.
- El tercio distal del colon transverso, colon descendente, sigma y la mayor parte del recto drenan a través de la vena mesentérica inferior que confluye en la vena esplénica.
- El retorno venoso del tercio distal del recto se da a través de las venas rectales media e inferior que drenan en la vena iliaca interna.

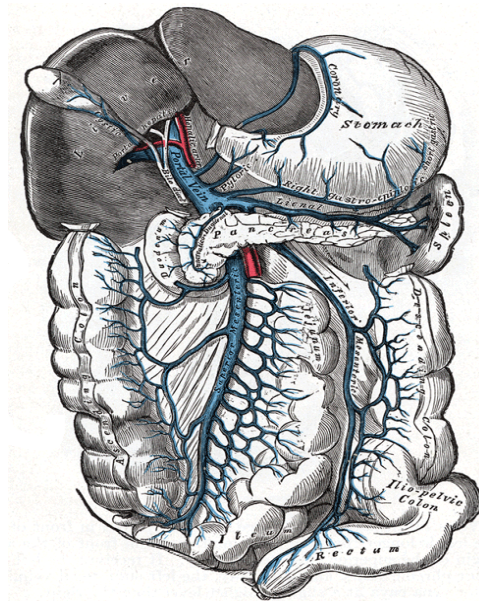


Figura 4. Retorno venoso del colon.⁸

⁸ H. Gray and W.H. Lewis, "Anatomy of the Human Body," 1918, 591.

1.A.3.c. SISTEMA LINFÁTICO:

El drenaje linfático del colon y del recto continúa un recorrido constante y escalonado similar al de los vasos colónicos.⁹

En el colon y los dos tercios proximales del recto, los primeros ganglios en la cadena de drenaje linfático se sitúan cercanos a la pared del colon; estos se denominan epicólicos. Posteriormente se distribuyen por orden de llegada del drenaje linfático en paracólicos, intermedios y primarios. El drenaje linfático del colon y los dos tercios proximales del recto acaba drenando en la cadena ganglionar paraaórtica que vacía en la cisterna de quilo.¹⁰

Tabla 1. Niveles de agrupación ganglionar.

Niveles de agrupación ganglionar:

- Epicólicos: a lo largo de la pared intestinal y en los apéndices epiplóicos.
- Paracólicos: Ganglios adyacentes a la arteria marginal.
- Ganglios intermedios: Rodean las ramas principales.
- Ganglios primarios: Adyacentes a la arteria mesentérica superior e inferior.

11

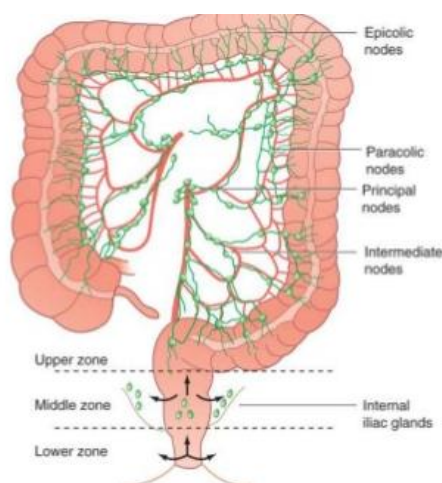


Figura 5. Drenaje linfático del colon.¹¹

⁹ W. B. Gabriel, Cuthbert Dukes, and H. J. R. Bussey, "Lymphatic Spread in Cancer of the Rectum," *BJS (British Journal of Surgery)* 23, no. 90 (1935): 395–413, <https://doi.org/10.1002/bjs.1800239017>.

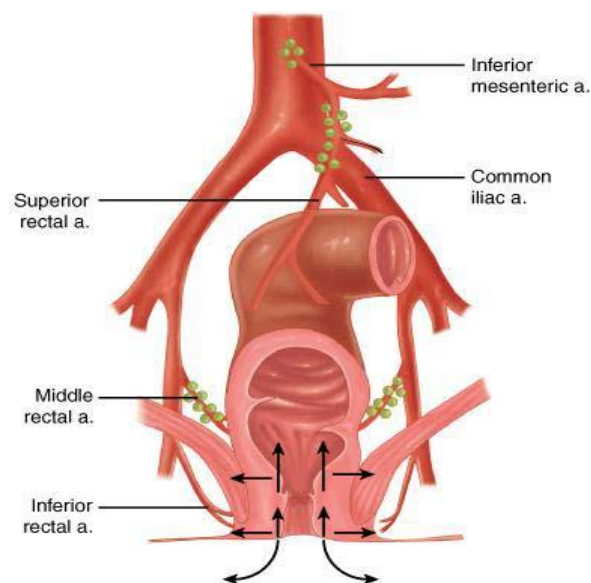
¹⁰ Courtney M. Townsend JR, "Capítulo 52: 'colon y recto,'" in *Sabiston tratado de cirugía. Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna*, Ed. Española 19^o edición (Barcelona, España.: Saunders, Elsevier, 2013), 1294–1381.

¹¹ Corman ML, "Colon and Rectal Surgery," 4th ed. (Philadelphia: Lippincott-Raves, 1998), 21.

El tercio distal del recto y el canal anal pueden drenar hacia los ganglios paraaórticos o lateralmente a través del sistema iliaco interno hacia la cuenca ganglionar inguinal superficial.

Tabla 2. Drenaje linfático del recto.

Recto superior y medio	G. mesentéricos inferiores
Recto inferior	Parte superior hacia mesentéricos inferiores
	Laterales hacia linfáticos internos
Canal anal	Proximal a línea dentada: mesentéricos inferiores + ilíacos internos
	Distal a línea dentada: linfáticos inguinales



12

Figura 6. Drenaje linfático del recto.¹²

¹² Pat Gordon, *Principles and Practice of Surgery of Colon, Rectum and Anus.*, 2nd ed. (St Louis: CQuality Medical, 1999).

1.B. CARCINOMA COLORRECTAL (CCR)

1.B.1. EPIDEMIOLOGÍA

El carcinoma colorrectal (CCR) es el 3º cáncer más frecuente en los hombres tras el cáncer de pulmón y de próstata y el 2º en las mujeres tras el cáncer de mama.^{13 14} Cuando se consideran conjuntamente ambos sexos, se trata de la 3ª neoplasia más frecuente a nivel mundial tras el cáncer de pulmón y de mama. Las tasas más altas de incidencia se registran en algunos países de Europa (Hungria, Eslovenia, Eslovaquia, los Países Bajos y Noruega), Australia/Nueva Zelanda, América del Norte y Asia Oriental.

A nivel mundial en 2018 se diagnosticaron 1.849.518 nuevos casos de CCR (10,2% de todos los tumores diagnosticados) y se contabilizaron 880.792 muertes, siendo el causante del 9,2% de todas las muertes por cáncer.¹⁵ En España se diagnosticaron 34.331 nuevos casos en el año 2017 y se produjeron 15.923 muertes.¹⁶

Es más frecuente en hombres con una incidencia al menos un 25% mayor¹⁷.

La edad media de presentación es de 70 años, superando la mayoría de los pacientes los 50 años al diagnóstico. En personas más jóvenes suele estar asociado a formas familiares o hereditarias. No obstante, las formas esporádicas son las más frecuentes.

El 97% son adenocarcinomas; el resto pueden ser carcinomas escamosos o de células transicionales, carcinoides, linfomas, sarcomas, melanomas y/o plasmocitomas.¹⁸

¹³ "Las cifras del cáncer en España 2016" (Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), 2016).

¹⁴ Ferlay J et al., *GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 v1.0*, accessed March 29, 2020, <https://publications.iarc.fr/Databases/Iarc-Cancerbases/GLOBOCAN-2012-Estimated-Cancer-Incidence-Mortality-And-Prevalence-Worldwide-In-2012-V1.0-2012>.

¹⁵ Freddie Bray et al., "Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68, no. 6 (2018): 394–424, <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.

¹⁶ "INCIDENCIA Y MORTALIDAD DE CÁNCER COLORRECTAL EN ESPAÑA EN LA POBLACIÓN ENTRE 50 Y 69 AÑOS," accessed March 29, 2020, https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:9_2teCBO_n_oJ:https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Informe-incidencia-colon.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=es&client=firefox-b-d.

¹⁷ "Las cifras del cáncer en España 2016."

1.B.2. FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo para el desarrollo de carcinoma colorrectal pueden ser inherentes al individuo (intrínsecos) y por lo tanto no modificables o tratarse de factores externos y modificables (extrínsecos).

Algunos factores de riesgo tienen tal importancia que su presencia debería modificar por sí sola los protocolos de cribado en las personas que los presentan, como por ejemplo antecedentes personales o familiares de CCR, enfermedad inflamatoria intestinal con adenomas o pacientes expuestos a radiación abdominal.

- **Síndrome de Lynch (HNPCC)**

Es el síndrome autosómico dominante que más comúnmente se asocia a CCR, hallándose aproximadamente en el 3% de todos los adenocarcinomas de colon. El riesgo aproximado de desarrollo de CCR en pacientes con esta mutación es del 70% a lo largo de la vida y varía en función de los genes implicados.^{19 20}

La edad de presentación del cáncer de colon se encuentra entre los 41 y los 46 años.²¹

Estos pacientes presentan alteraciones en los genes MMR (siendo los más frecuentes *hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6* o *PMS2*).

Además del cáncer de colon este síndrome se asocia principalmente al carcinoma endometrial. Otras neoplasias frecuentes en estos individuos son el cáncer de ovario, estómago, intestino delgado, sistema hepatobiliar, pelvis renal y uréter.

¹⁸ Ortiz Urtado H, *Cirugía Colorrectal. Guía de Cirugía Colorrectal de La Asociación Española de Cirugía.*, 2nd ed. (Aran ediciones, 2012).

¹⁹ F. Quehenberger, H. F. A. Vasen, and H. C. van Houwelingen, "Risk of Colorectal and Endometrial Cancer for Carriers of Mutations of the HMLH1 and HMSH2 Gene: Correction for Ascertainment," *Journal of Medical Genetics* 42, no. 6 (June 2005): 491–96, <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.024299>.

²⁰ Rodrigo Santa Cruz Guindalini et al., "Mutation Spectrum and Risk of Colorectal Cancer in African American Families with Lynch Syndrome," *Gastroenterology* 149, no. 6 (November 2015): 1446–53, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.052>.

²¹ Heather Hampel et al., "Cancer Risk in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: Later Age of Onset," *Gastroenterology* 129, no. 2 (August 2005): 415–21, <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2005.05.011>.

- **Poliposis adenomatosa familiar (PAF)**

Se trata de una enfermedad autosómica dominante asociada a la mutación del gen APC del cromosoma 5.

Tanto la PAF como sus variantes (síndrome de Gardner, Síndrome de Túrctot o poliposis adenomatosa familiar atenuada) suponen menos del 1% del total de los cánceres de colon.²² Los adenomas colónicos empiezan a aparecer en la infancia y en el 90% de los casos el cáncer se desarrolla antes de los 45 años. Existen formas atenuadas con menor número de pólipos y riesgo de malignización en edades más tardías.

- **Poliposis asociada al gen MYH (PAM)**

Se trata de un síndrome autosómico recesivo.²³ El fenotipo es variable pero puede presentarse con poliposis sobre todo cuando la alteración en los genes MYH conlleva a alteraciones en el gen APC. Generalmente se desarrollan entre 10-100 pólipos en la 5ª-6ª décadas de la vida.^{24 25}

- **Carcinoma colorrectal esporádico**

Los pacientes con historia personal de carcinoma colorrectal resecado tienen mayor riesgo de padecer CCR.

Además la historia familiar también aumenta la predisposición para el desarrollo de CCR. La presencia de un familiar de primer grado con CCR aumenta por dos el riesgo de desarrollo del cáncer.²⁶ Cuando 2 o más familiares de primer grado de la misma rama familiar presentan CCR el riesgo es aun mayor o si la edad de diagnóstico de estos fue antes de los 50-60 años.

²² J. Wennstrom, E. R. Pierce, and V. A. McKusick, "Hereditary Benign and Malignant Lesions of the Large Bowel," *Cancer* 34, no. 3 (September 1974): suppl:850-857, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197409\)34:3+<850::aid-cnrcr2820340711>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197409)34:3+<850::aid-cnrcr2820340711>3.0.co;2-s).

²³ Oliver M. Sieber et al., "Multiple Colorectal Adenomas, Classic Adenomatous Polyposis, and Germ-Line Mutations in MYH," *The New England Journal of Medicine* 348, no. 9 (February 27, 2003): 791–99, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa025283>.

²⁴ Sieber et al.

²⁵ Shilpa Grover et al., "Prevalence and Phenotypes of APC and MUTYH Mutations in Patients with Multiple Colorectal Adenomas," *JAMA* 308, no. 5 (August 1, 2012): 485–92, <https://doi.org/10.1001/jama.2012.8780>.

²⁶ Thérèse M. F. Tuohy et al., "Risk of Colorectal Cancer and Adenomas in the Families of Patients with Adenomas: A Population-Based Study in Utah," *Cancer* 120, no. 1 (January 1, 2014): 35–42, <https://doi.org/10.1002/cnrcr.28227>.

- **Adenomas colónicos**

Los pólipos adenomatosos mayores de 1cm, tubulovelloso, vellosos o con displasia aumentan el riesgo de desarrollo de CCR especialmente si se trata de pólipos múltiples. Se estima que el riesgo relativo aumenta en un 3,5-6,5.²⁷

- **Enfermedad inflamatoria intestinal**

La colitis ulcerosa se considera un importante factor de riesgo para el desarrollo de CCR. El riesgo aumenta con la extensión, tiempo de duración y la actividad de la enfermedad. La pancolitis aumenta el riesgo hasta 5-15 veces con respecto a la población sana.²⁸

Aunque no existe tanta evidencia científica se cree que la pancolitis asociada a la enfermedad de Crohn tiene un riesgo de desarrollo de CCR similar a la pancolitis ulcerosa.

- **Radiación abdominal**

Los individuos que debido a enfermedades malignas en la infancia reciben radioterapia abdominal tienen un riesgo significativamente mayor de desarrollar neoplasias abdominales en la edad adulta, siendo la más frecuente el carcinoma colorrectal.^{29 30}

²⁷ W. S. Atkin, B. C. Morson, and J. Cuzick, "Long-Term Risk of Colorectal Cancer after Excision of Rectosigmoid Adenomas," *The New England Journal of Medicine* 326, no. 10 (March 5, 1992): 658–62, <https://doi.org/10.1056/NEJM199203053261002>.

²⁸ A. Ekbom et al., "Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer. A Population-Based Study," *The New England Journal of Medicine* 323, no. 18 (November 1, 1990): 1228–33, <https://doi.org/10.1056/NEJM199011013231802>.

²⁹ Tara O. Henderson et al., "Secondary Gastrointestinal Cancer in Childhood Cancer Survivors: A Cohort Study," *Annals of Internal Medicine* 156, no. 11 (June 5, 2012): 757–66, W-260, <https://doi.org/10.7326/0003-4819-156-11-201206050-00002>.

³⁰ Kerri Nottage et al., "Secondary Colorectal Carcinoma After Childhood Cancer," *Journal of Clinical Oncology* 30, no. 20 (June 4, 2012): 2552–58, <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.8760>.

Otros factores que aumentan el riesgo para el desarrollo de CCR y que se deberían tener en cuenta a la hora de ajustar los métodos de cribado son los siguientes:

- **Raza y sexo.** Se ha visto que los afroamericanos desarrollan CCR con más frecuencia.³¹ Por otro lado, la mortalidad es 25% más alta en hombres que en mujeres, y en ellas son más frecuentes las formas más proximales en cuanto a la afectación del colon.³²
- **Acromegalia.** Es más frecuente en estos pacientes tanto la presencia de pólipos como de carcinoma; especialmente si no se trata la enfermedad.³³
- **Trasplante renal.** La inmunosupresión prolongada a la que se exponen los pacientes trasplantados incrementa el desarrollo de CCR.³⁴

Otros factores de riesgo que deben tenerse en cuenta, aunque no modifiquen por si solos el protocolo de cribado son los siguientes:

- Obesidad³⁵
- DM y resistencia a insulina³⁶
- Consumo de carne roja^{37 38}
- Tabaco, alcohol,³⁹ terapias antiandrogénicas, colecistectomía,

³¹ Ahmedin Jemal et al., "Cancer Statistics, 2010," *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 60, no. 5 (October 2010): 277–300, <https://doi.org/10.3322/caac.20073>.

³² Philip Schoenfeld et al., "Colonoscopic Screening of Average-Risk Women for Colorectal Neoplasia," *The New England Journal of Medicine* 352, no. 20 (May 19, 2005): 2061–68, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa042990>.

³³ B. Delhougne et al., "The Prevalence of Colonic Polyps in Acromegaly: A Colonoscopic and Pathological Study in 103 Patients," *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 80, no. 11 (November 1995): 3223–26, <https://doi.org/10.1210/jcem.80.11.7593429>.

³⁴ J. M. Park et al., "Increased Incidence of Colorectal Malignancies in Renal Transplant Recipients: A Case Control Study," *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 10, no. 9 (September 2010): 2043–50, <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03231.x>.

³⁵ Amalia Karahalios, Dallas R. English, and Julie A. Simpson, "Weight Change and Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis," *American Journal of Epidemiology* 181, no. 11 (June 1, 2015): 832–45, <https://doi.org/10.1093/aje/kwu357>.

³⁶ Hiroki Yuhara et al., "Is Diabetes Mellitus an Independent Risk Factor for Colon Cancer and Rectal Cancer?," *The American Journal of Gastroenterology* 106, no. 11 (November 2011): 1911–21; quiz 1922, <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.301>.

³⁷ Ann Chao et al., "Meat Consumption and Risk of Colorectal Cancer," *JAMA* 293, no. 2 (January 12, 2005): 172–82, <https://doi.org/10.1001/jama.293.2.172>.

³⁸ Teresa Norat et al., "Meat, Fish, and Colorectal Cancer Risk: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition," *Journal of the National Cancer Institute* 97, no. 12 (June 15, 2005): 906–16, <https://doi.org/10.1093/jnci/dji164>.

enfermedades coronarias, anastomosis ureterocólicas, cáncer de endometrio en edades tempranas...

Tabla 3. Factores de riesgo del cáncer de colon.

<u>Factores Intrínsecos</u>
• Historia personal de cáncer de colon, recto, ovario, endometrio o mama • Historia personal de pólipos en colon o recto • Historia familiar de CCR • Enfermedades hereditarias: Poliposis adenomatosa familiar o HNPCC (Carcinoma Colorrectal hereditario no asociado a poliposis) • Enfermedades inflamatorias: Colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn
<u>Factores Extrínsecos</u>
• Dieta: mutágenos y carcinogénicos, carne roja (formación de nitrosaminas), etc. • (Factores dietéticos preventivos: fibra, calcio, selenio y otros micronutrientes, Vitaminas (A, C y E)) • Obesidad y sedentarismo • Radioterapia previa • Tabaco • El consumo de alcohol duplica el riesgo de CCR • Anastomosis ureterosigmoideas.

Por otro lado se conocen **factores protectores** para el desarrollo de CCR:

- Actividad física⁴⁰
- Dieta rica en fibra,⁴¹ almidones, ácido fólico, vitamina B6...
- Consumo de aspirina, tratamiento hormonal postmenopáusico, antioxidantes...

³⁹ V. Fedirko et al., "Alcohol Drinking and Colorectal Cancer Risk: An Overall and Dose-Response Meta-Analysis of Published Studies," *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 22, no. 9 (September 2011): 1958–72, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq653>.

⁴⁰ Terry Boyle et al., "Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Journal of the National Cancer Institute* 104, no. 20 (October 17, 2012): 1548–61, <https://doi.org/10.1093/jnci/djs354>.

⁴¹ E. Negri et al., "Fiber Intake and Risk of Colorectal Cancer," *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 7, no. 8 (August 1998): 667–71.

1.B.3. PATOGENIA

En las criptas intestinales es donde ocurre el recambio celular. Las criptas intestinales son invaginaciones del epitelio superficial que se dividen en dos zonas: a) la zona proliferativa o “nicho de células madre” ubicada en la base, y b) la zona de diferenciación, que se ubica hacia la luz intestinal.

El recambio ocurre cada tres a seis días y consiste en la generación de nuevos clones de células a partir de las células madre de la zona proliferativa. Estas células se especializan en células epiteliales intestinales en la zona de diferenciación. De esta manera se mantiene la mucosa colónica.^{42 43}

En la zona proliferativa existe predominio de señales antiapoptóticas (proteína Bcl-2) y proliferativas (vía Wnt/dcatenina). Además existen proteínas antagonistas de Bmp que refuerzan la vía Wnt/dcatenina permitiendo la proliferación y el recambio celular.^{44 45} Al contrario, en la zona de diferenciación existen señales antiproliferativas, como la proteína APC y las Bmp, que regulan negativamente la vía Wnt/d-catenina.⁴⁶

Las **vías de carcinogénesis** son una secuencia de alteraciones moleculares que llevan al desarrollo de un tumor desde un tejido sano.

⁴² Marc van de Wetering et al., “The Beta-Catenin/TCF-4 Complex Imposes a Crypt Progenitor Phenotype on Colorectal Cancer Cells,” *Cell* 111, no. 2 (October 18, 2002): 241–50, [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01014-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01014-0).

⁴³ Trevor A. Graham et al., “Use of Methylation Patterns to Determine Expansion of Stem Cell Clones in Human Colon Tissue,” *Gastroenterology* 140, no. 4 (April 2011): 1241-1250.e1-9, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.12.036>.

⁴⁴ Tea Fevr et al., “Wnt/Beta-Catenin Is Essential for Intestinal Homeostasis and Maintenance of Intestinal Stem Cells,” *Molecular and Cellular Biology* 27, no. 21 (November 2007): 7551–59, <https://doi.org/10.1128/MCB.01034-07>.

⁴⁵ Cynthia Kosinski et al., “Gene Expression Patterns of Human Colon Tops and Basal Crypts and BMP Antagonists as Intestinal Stem Cell Niche Factors,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, no. 39 (September 25, 2007): 15418–23, <https://doi.org/10.1073/pnas.0707210104>.

⁴⁶ K. J. Smith et al., “The APC Gene Product in Normal and Tumor Cells,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, no. 7 (April 1, 1993): 2846–50, <https://doi.org/10.1073/pnas.90.7.2846>.

El primer modelo de carcinogénesis colorrectal fue propuesto por Fearon y Vogelstein en 1990.⁴⁷ Este modelo se basa en la acumulación progresiva de mutaciones genéticas tanto en oncogenes como en genes supresores de tumores que conducen a la transformación de la mucosa normal hacia adenoma y posteriormente carcinoma.⁴⁸

Descubrimientos de las últimas décadas han puesto de manifiesto la existencia de al menos tres vías moleculares para el desarrollo del CCR que explican en parte la alta heterogeneidad fenotípica y genotípica de esta enfermedad:

- **La vía supresora (o de inestabilidad cromosómica (CIN))** es la vía más común. Representa el 65-70% de los CCR esporádicos⁴⁹ y también explica los casos de poliposis adenomatosa familiar.⁵⁰ Afecta más frecuentemente el colon distal y se caracteriza por generar inestabilidad cromosómica, aneuploidía y pérdida de heterocigocidad.^{51 52 53}

El modelo molecular de la secuencia de adenoma a carcinoma (vía tradicional) se atribuye a la vía de CIN, que se caracteriza por una gradual mutación o delección de APC (Adenomatous Polyposis Coli), K-RAS (Kirsten-rat sarcoma oncogen homolog) y p53 (proteína específica con 53 kilodaltons).⁵⁴ Esta vía está

⁴⁷ E. R. Fearon and B. Vogelstein, "A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis," *Cell* 61, no. 5 (June 1, 1990): 759–67, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90186-i](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90186-i).

⁴⁸ Sanford D. Markowitz and Monica M. Bertagnolli, "Molecular Basis of Colorectal Cancer," review-article, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0804588> (Massachusetts Medical Society, January 28, 2010), world, <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804588>.

⁴⁹ Maria S. Pino and Daniel C. Chung, "The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer," *Gastroenterology* 138, no. 6 (June 2010): 2059–72, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.065>.

⁵⁰ Alberto Morán et al., "Differential Colorectal Carcinogenesis: Molecular Basis and Clinical Relevance," *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 2, no. 3 (March 15, 2010): 151–58, <https://doi.org/10.4251/wjgo.v2.i3.151>.

⁵¹ Cinzia Azzoni et al., "Distinct Molecular Patterns Based on Proximal and Distal Sporadic Colorectal Cancer: Arguments for Different Mechanisms in the Tumorigenesis," *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 2 (February 2007): 115–26, <https://doi.org/10.1007/s00384-006-0093-x>.

⁵² O. Delattre et al., "MULTIPLE GENETIC ALTERATIONS IN DISTAL AND PROXIMAL COLORECTAL CANCER," *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 8659, 334, no. 8659 (August 12, 1989): 353–56, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(89\)90537-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)90537-0).

⁵³ A. Reichmann, B. Levin, and P. Martin, "Human Large-Bowel Cancer: Correlation of Clinical and Histopathological Features with Banded Chromosomes," *International Journal of Cancer* 29, no. 6 (June 15, 1982): 625–29, <https://doi.org/10.1002/ijc.2910290605>.

⁵⁴ Rani Kanthan, Jenna-Lynn Senger, and Selliah Chandra Kanthan, "Molecular Events in Primary and Metastatic Colorectal Carcinoma: A Review," Review Article, *Pathology Research International* (Hindawi, 2012), <https://doi.org/10.1155/2012/597497>.

implicada en la formación de focos de criptas aberrantes displásicas con mutaciones de K-RAS. Una minoría de estos focos de criptas aberrantes displásicas evoluciona de pólipos adenomatosos simples a avanzados para finalmente producir un cáncer invasivo.

En los casos de poliposis adenomatosa familiar, la mutación en el APC es una mutación germinal.

El gen APC es importante en la vía de señalización Wnt/dcatenina; genera una resistencia a la degradación de d-catenina que a su vez promueve la sobreexpresión de oncoproteínas.^{55 56 57} De esta manera se genera un fenotipo hiperproliferativo que favorece la ganancia de mutaciones en otros genes, permitiendo la progresión a adenoma temprano.^{58 59} El adenoma temprano evoluciona a adenoma intermedio por mutación de ganancia de función en el gen KRAS, lo que conduce a la activación constitutiva de este oncogén.⁶⁰

En el adenoma intermedio el patrón hiperproliferativo es muy marcado, lo que permite el desarrollo de un fenotipo de inestabilidad cromosómica que lleva a la pérdida de copias de genes ubicados en el brazo largo del cromosoma 18 (DCC, SMAD4, SMAD2 e ITF-2),^{61 62 63 64 65} lo que favorece la progresión al

⁵⁵ van de Wetering et al., "The Beta-Catenin/TCF-4 Complex Imposes a Crypt Progenitor Phenotype on Colorectal Cancer Cells."

⁵⁶ Il-Jin Kim et al., "Oligonucleotide Microarray Analysis of Distinct Gene Expression Patterns in Colorectal Cancer Tissues Harboring BRAF and K-Ras Mutations," *Carcinogenesis* 27, no. 3 (March 2006): 392–404, <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi237>.

⁵⁷ Alix Scholer-Dahirel et al., "Maintenance of Adenomatous Polyposis Coli (APC)-Mutant Colorectal Cancer Is Dependent on Wnt/Beta-Catenin Signaling," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, no. 41 (October 11, 2011): 17135–40, <https://doi.org/10.1073/pnas.1104182108>.

⁵⁸ B. Vogelstein et al., "Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development," *The New England Journal of Medicine* 319, no. 9 (September 1, 1988): 525–32, <https://doi.org/10.1056/NEJM198809013190901>.

⁵⁹ P. Yuan et al., "APC and K-Ras Gene Mutation in Aberrant Crypt Foci of Human Colon," *World Journal of Gastroenterology* 7, no. 3 (June 2001): 352–56, <https://doi.org/10.3748/wjg.v7.i3.352>.

⁶⁰ Kevin M. Haigis et al., "Differential Effects of Oncogenic K-Ras and N-Ras on Proliferation, Differentiation and Tumor Progression in the Colon," *Nature Genetics* 40, no. 5 (May 2008): 600–608, <https://doi.org/10.1038/ng.115>.

⁶¹ E. R. Fearon et al., "Identification of a Chromosome 18q Gene That Is Altered in Colorectal Cancers," *Science (New York, N.Y.)* 247, no. 4938 (January 5, 1990): 49–56, <https://doi.org/10.1126/science.2294591>.

⁶² Carol Gallione et al., "Overlapping Spectra of SMAD4 Mutations in Juvenile Polyposis (JP) and JP-HHT Syndrome," *American Journal of Medical Genetics. Part A* 152A, no. 2 (February 2010): 333–39, <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33206>.

adenoma tardío. Por último, el adenoma tardío conduce a la adquisición de más mutaciones, incluidas las del gen TP53, evento gatillante en el desarrollo del adenocarcinoma.

- **La vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites (MSI)** del CCR se ha asociado con el 15% de los CCR esporádicos^{66 67} y también, con el síndrome de Lynch I o HNPCC.

Esta vía es causada por errores en el sistema de reparación por daño al ADN (MRR). El sistema MMR está conformado por siete genes: hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 y hPMS2.^{68 69} Los principales integrantes del sistema MMR en los cuales se han observado mutaciones son las proteínas MLH1 y MSH2.

Esta vía es más común en colon proximal y se caracteriza por presentar un fenotipo mutador en regiones microsatélite, acompañado de estabilidad cromosómica; es decir, son tumores diploides.

La vía mutadora no se ha relacionado con una cascada de eventos progresivos a escala genética. Pero se acepta que el primer paso de progresión del epitelio normal a adenoma se da por un mecanismo de “dos golpes”, que incluye la mutación o inactivación de los dos alelos en un gen de la familia MMR (en los casos de HNPCC, la primera mutación es germinal). Esto predispone a fallas en

⁶³ Andreas Herbst et al., “ITF-2 Is Disrupted via Allelic Loss of Chromosome 18q21, and ITF-2B Expression Is Lost at the Adenoma-Carcinoma Transition,” *Gastroenterology* 137, no. 2 (August 2009): 2, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.049>.

⁶⁴ Kenji Hibi et al., “Aberrant Methylation of the Netrin-1 Receptor Genes UNC5C and DCC Detected in Advanced Colorectal Cancer,” *World Journal of Surgery* 33, no. 5 (May 2009): 1053–57, <https://doi.org/10.1007/s00268-008-9909-x>.

⁶⁵ Danielle Langeveld et al., “SMAD4 Immunohistochemistry Reflects Genetic Status in Juvenile Polyposis Syndrome,” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 16, no. 16 (August 15, 2010): 4126–34, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0168>.

⁶⁶ Morán et al., “Differential Colorectal Carcinogenesis.”

⁶⁷ Robert Gryfe, “Clinical Implications of Our Advancing Knowledge of Colorectal Cancer Genetics: Inherited Syndromes, Prognosis, Prevention, Screening and Therapeutics,” *The Surgical Clinics of North America* 86, no. 4 (August 2006): 787–817, <https://doi.org/10.1016/j.suc.2006.05.007>.

⁶⁸ Sanford D. Markowitz and Monica M. Bertagnolli, “Molecular Origins of Cancer: Molecular Basis of Colorectal Cancer,” *The New England Journal of Medicine* 361, no. 25 (December 17, 2009): 2449–60, <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804588>.

⁶⁹ Katherine Andrea Palacio Rúa and 3 Muñeton Peña2, “Bases Moleculares Del Cáncer Colorrectal,” *Iatreia* 25, no. 2 (April 2012): 137–48.

los sistemas de reparación del ADN y a un fenotipo mutador que provoca MSI, alterando genes importantes en el control del ciclo celular, como: CTNNB1, TGF- α IR, IGF-IR, BAX y PTEN.^{70 71 72}

- **Vía del fenotipo metilador de islas CpG (CIMP)** Las alteraciones epigenéticas son cambios en la expresión génica o en su función, sin cambiar la secuencia de ADN del gen. Estos cambios son causados generalmente por la metilación del ADN o la modificación de las histonas. La metilación del ADN ocurre comúnmente en el dinucleótido 5'-CG-3' (CpG). La metilación de genes en la región promotora resulta en el silenciamiento de genes y por lo tanto, proporciona un mecanismo alternativo para la pérdida de la función de los genes supresores de tumores.

La metilación anormal del promotor del gen hMLH1 es un ejemplo del grupo CIMP que da lugar a la mayoría de los CCR esporádicos con fenotipo MSI.⁷³

Por otro lado, se puede dividir la carcinogénesis colónica en dos grandes vías: la vía de las lesiones “no aserradas” o convencional y la vía de las lesiones aserradas; cada una con características morfológicas y evolución clínica diferentes. A su vez, dentro de cada una de ellas se puede realizar una subdivisión según la mutación inicial que se presenta.

La vía convencional o de las lesiones “no aserradas” comprendería la mutación inicial del gen APC o del sistema MMR.

⁷⁰ Il-Jin Kim et al., “Development and Applications of a Beta-Catenin Oligonucleotide Microarray: Beta-Catenin Mutations Are Dominantly Found in the Proximal Colon Cancers with Microsatellite Instability,” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 9, no. 8 (August 1, 2003): 2920–25.

⁷¹ R. F. Souza et al., “Expression of the Wild-Type Insulin-like Growth Factor II Receptor Gene Suppresses Growth and Causes Death in Colorectal Carcinoma Cells,” *Oncogene* 18, no. 28 (July 15, 1999): 4063–68, <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202768>.

⁷² Masakazu Yashiro, Kosei Hirakawa, and C. Richard Boland, “Mutations in TGF β -RII and BAXmediate Tumor Progression in the Later Stages of Colorectal Cancer with Microsatellite Instability,” *BMC Cancer* 10, no. 1 (June 18, 2010): 303, <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-303>.

⁷³ Nagahide Matsubara, “Epigenetic Regulation and Colorectal Cancer,” *Diseases of the Colon and Rectum* 55, no. 1 (January 2012): 96–104, <https://doi.org/10.1097/DCR.0b013e318233a1ef>.

La vía aserrada se puede dividir en dos grandes grupos con características diferentes, relacionando cada una de éstas a las dos lesiones aserradas más ligadas a CCR:

- Las lesiones sésiles aserradas (SSA/P), son lesiones planas elevadas o sésiles que se ubican en el lado derecho del colon y están asociadas a una mutación inicial de BRAF. Son el 61% de las lesiones aserradas y se caracterizan por un fenotipo de hipermetilación del ADN y MSI.⁷⁴
- Los adenomas aserrados tradicionales (TSA), que se vinculan a una mutación inicial K-Ras, son lesiones similares a los adenomas convencionales, ubicándose en el colon proximal y presentando morfología polipoidea pedunculada, así como displasia de bajo o alto grado.⁷⁵ Son el 27% de los adenomas aserrados y se caracteriza por presentar un fenotipo de inestabilidad cromosómica, sin fenotipo de hipermetilación ni MSI.⁷⁶

⁷⁴ Michael J. O'Brien et al., "Comparison of Microsatellite Instability, CpG Island Methylation Phenotype, BRAF and KRAS Status in Serrated Polyps and Traditional Adenomas Indicates Separate Pathways to Distinct Colorectal Carcinoma End Points," *The American Journal of Surgical Pathology* 30, no. 12 (December 2006): 1491–1501, <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000213313.36306.85>.

⁷⁵ Barbara Leggett and Vicki Whitehall, "Role of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer Pathogenesis," *Gastroenterology* 138, no. 6 (June 2010): 2088–2100, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.066>.

⁷⁶ Kyoung-Mee Kim et al., "KRAS Mutations in Traditional Serrated Adenomas from Korea Herald an Aggressive Phenotype," *The American Journal of Surgical Pathology* 34, no. 5 (May 2010): 667–75, <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d40cb2>.

1.B.4. VÍAS DE DISEMINACIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL

El carcinoma colorrectal puede diseminarse por vía linfática, hematológica, por contigüidad y por vía transperitoneal:

- Vía linfática: Las células tumorales pueden incurrir en el sistema linfático y diseminarse por el mismo, siguiendo un orden anatómico que acompaña a los vasos cólicos.
- Vía hematológica: Las células tumorales penetran en el sistema vascular a través de los vasos de la pared colorrectal y mediante el drenaje venoso portal (en el cáncer de colon) alcanzan el hígado, que es el órgano más frecuentemente afectado por metástasis en el cáncer de colon. Una vez pasado el hígado las células pueden llegar a los pulmones, siendo este el 2º órgano en orden de frecuencia para albergar metástasis a distancia, y más raramente a huesos, sistema nervioso y otros órganos menos frecuentes.

Los tumores del tercio inferior del recto drenan en la vena cava inferior, por lo que cursan con metástasis pulmonares más frecuentemente.⁷⁷

- Por contigüidad: El crecimiento local del tumor puede provocar invasión y/o fistulización a órganos vecinos (asas intestinales, vejiga urinaria, vagina...).
- Peritoneal: Las células tumorales pueden propagarse por el propio peritoneo. En estos casos se observa como la superficie peritoneal está afectada por el tumor. El cáncer de colon se presenta con diseminación peritoneal sincrónica hasta en el 5-10% de los pacientes, y un 20-50% de los pacientes con enfermedad recurrente podrán desarrollar enfermedad peritoneal metacrónica.^{78 79 80}

⁷⁷ Rathy Kirke et al., "Rectal Cancer: Incidence of Pulmonary Metastases on Thoracic CT and Correlation with T Staging," *Journal of Computer Assisted Tomography* 31, no. 4 (August 2007): 569–71, <https://doi.org/10.1097/rct.0b013e318032e8c9>.

⁷⁸ D. G. Jayne et al., "Peritoneal Carcinomatosis from Colorectal Cancer," *The British Journal of Surgery* 89, no. 12 (December 2002): 1545–50, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2002.02274.x>.

⁷⁹ Olivier Glehen et al., "Natural History of Peritoneal Carcinomatosis from Nongynecologic Malignancies," *Surgical Oncology Clinics of North America* 12, no. 3 (July 2003): 729–39, xiii, [https://doi.org/10.1016/s1055-3207\(03\)00044-9](https://doi.org/10.1016/s1055-3207(03)00044-9).

⁸⁰ Ashlie Nadler, J. Andrea McCart, and Anand Govindarajan, "Peritoneal Carcinomatosis from Colon Cancer: A Systematic Review of the Data for Cytoreduction and Intraperitoneal Chemotherapy," *Clinics in Colon and Rectal Surgery* 28, no. 4 (December 2015): 234–46, <https://doi.org/10.1055/s-0035-1564431>.

1.B.5. CLÍNICA

La clínica ocasionada por el CCR es muy inespecífica y depende en gran medida de la localización del tumor y del tamaño (especialmente del grado de oclusión intestinal que ocasione).

- Los tumores de colon derecho suelen manifestarse con melenas, astenia asociada a la anemia y en casos avanzados de la enfermedad con dolor abdominal.
- El cáncer de colon izquierdo frecuentemente debuta con clínica de oclusión intestinal. Suele precederse de cambios del ritmo intestinal, casi siempre estreñimiento progresivo.
- Las neoplasias de sigma suelen cursar con dolor y oclusión. A veces los pacientes presentan fiebre y simula una diverticulitis. En ocasiones los tumores de sigma pueden debutar con clínica derivada de fístulas a vejiga o vagina.
- Los tumores de recto suelen cursar con alteraciones del tránsito intestinal, hematoquecia, tenesmo y finalmente obstrucción.

Gracias principalmente a los programas de cribado, pero también en ocasiones debido a pruebas complementarias por otras enfermedades, un porcentaje cada vez mayor de pacientes se encuentran asintomáticos en el momento del diagnóstico.

Aproximadamente dos tercios de los pacientes con CCR presentan anemia por sangrado del tumor hacia la luz intestinal. Este sangrado puede no alterar las características macroscópicas de las deposiciones o puede cursar con melenas o con hematoquecia.⁸¹ Aproximadamente el 15-25% debuta con clínica de oclusión y un 2,6-6,5% con perforación.⁸²

⁸¹ Robert D. Fry et al., *Sabiston Tratado de Cirugía. Fundamentos Biológicos de La Práctica Quirúrgica Moderna*.

⁸² Sebastiano Biondo et al., "A Prospective Study of Outcomes of Emergency and Elective Surgeries for Complicated Colonic Cancer," *American Journal of Surgery* 189, no. 4 (April 2005): 377–83, <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2005.01.009>.

1.B.6. DIAGNÓSTICO

Los programas de cribado del cáncer colorrectal (se menciona en el próximo apartado) han permitido en los últimos años diagnosticar a pacientes que aun no presentaban clínica derivada del proceso neoplásico.

Para aquellos pacientes que comienzan con sintomatología, es de vital importancia la sospecha clínica. Ante dicha sospecha, la primera prueba a realizar será una colonoscopia.

A continuación se exponen las pruebas que se deben realizar:

- **Colonoscopia:** Es la técnica de elección para el diagnóstico de CCR. Permite visualizar la lesión, obtener biopsias para el estudio histológico, marcaje de la zona de la lesión con tinta, descartar lesiones sincrónicas, resección de otros pólipos y en ocasiones otros tratamientos sobre el tumor (hemostasia en caso de sangrado, colocación de endoprótesis temporales y/o paliativas).
- **Estudio analítico:** Ante el diagnóstico de CCR se debe solicitar una analítica completa que nos indique la situación basal del paciente, función hepática y marcadores tumorales (CEA).
- **TAC:** Se realiza TAC toraco-abdomino-pélvico para valorar la existencia de enfermedad diseminada.
- **Rx de tórax:** Pretende descartar la afectación metastásica pulmonar cuando no se realiza TAC de tórax.
- **RMN:** La RMN pélvica es muy útil para la estadificación de las neoplasias de recto. Sirve para establecer la localización tumoral, relaciones con los esfínteres del ano y valorar el grado de infiltración de la pared del recto y la presencia de adenopatías infiltradas por el tumor.
La RMN hepática permite, en las TAC con dudosa afectación hepática, verificar la existencia de metástasis sincrónicas.
- **Ecografía endoanal:** Muy útil en el cáncer de recto para valorar la infiltración de la pared y en menor medida adenopatías de aspecto patológico.
- **PET:** Permite confirmar la presencia de metástasis a distancia cuando la TAC y/o RMN resultan dudosas.

1.B.7. MÉTODO DE CRIBADO EN EL CCR

La mayoría de los CCR se desarrollan a partir de lesiones premalignas (pólipos) que con el cúmulo de nuevas mutaciones degeneran en carcinoma. Este proceso es gradual y se considera que ocurre en el transcurso de hasta diez años.⁸³ No obstante, algunos carcinomas de colon se desarrollan a partir de lesiones no polipoideas.

La resección de los pólipos antes de su degeneración evita el desarrollo de neoplasias a partir de los mismos.

Existen diferentes técnicas para el diagnóstico precoz de lesiones premalignas, para así evitar el desarrollo de CCR o si la degeneración ya se ha producido, para conseguir un diagnóstico más temprano.

En la comunidad autónoma Vasca, en el año 2008 se planificó y organizó un programa de cribado para el diagnóstico precoz del CCR. En el estudio piloto participaron 8 Centros de Salud. Los resultados de esta fase mostraron una alta tasa de participación y detección de lesiones. De esta manera en 2010 se puso en marcha el programa de cribado dirigido a todas las personas entre 50 y 69 años de la CAPV; consolidándose definitivamente en 2012 y alcanzando la cobertura de prácticamente el 100% en el primer trimestre del 2014.⁸⁴

El cribado consiste en una prueba de detección de sangre oculta en heces (TSOH) cada dos años (test inmunohistoquímico cuantitativo; que detecta la inmunoglobulina humana). En el caso de TSOH positivos se completa el estudio con una colonoscopia completa. En caso de existir pólipos o lesiones neoplásicas estos son extirpados o biopsiados para su estudio histológico y derivados a consulta de cirugía según los hallazgos.

⁸³ S. J. Winawer et al., "Colorectal Cancer Screening: Clinical Guidelines and Rationale," *Gastroenterology* 112, no. 2 (February 1997): 594–642, <https://doi.org/10.1053/gast.1997.v112.agast970594>.

⁸⁴ Isabel Portillo et al., "Programa de cribado de cáncer colorrectal," March 21, 2016, <https://www.osakidetza.euskadi.eus/programa-cribado-cancer-colorrectal/ab84-oescacon/es/>.

1.B.8. CLASIFICACIÓN

El carcinoma colorrectal puede clasificarse según la estadificación de Dukes,⁸⁵ la clasificación de MAC⁸⁶ (clasificación modificada de Aster-Coller) ó según la clasificación TNM.^{87 88} Las correlaciones son las siguientes:

Tabla 4. Estadificación del cáncer de colon. Estadios según los sistemas de clasificación TNM, Dukes y MAC.

TNM	Dukes	MAC
E-I	A-B1	A-B1
E-II	B2-B3	B1-B2
E-III	C	C1-C2-C3
E-IV	-	D

1.B.8.a. CLASIFICACIÓN TUMORAL DE DUKES:

Clasificación tumoral establecida por el patólogo inglés Cuthbert Esquire Dukes (1890-1977) en 1932. Inicialmente fue desarrollada para aplicar en el cáncer de recto pero posteriormente se estableció también para el cáncer de colon.⁸⁹

Esta clasificación combina tres variables; la profundidad de la penetración tumoral en la pared intestinal, la infiltración ganglionar y la presencia de metástasis a distancia. Así Dukes estableció tres estadios en su clasificación^{90 91}:

- Estadio A: El tumor se limita a la mucosa y submucosa de la pared intestinal.
- Estadio B: El tumor se extiende a toda la pared.
- Estadio C: Existe invasión de los nódulos linfáticos de la región.

⁸⁵ Cuthbert E. Dukes, "The Classification of Cancer of the Rectum," *The Journal of Pathology and Bacteriology* 35, no. 3 (1932): 323–32, <https://doi.org/10.1002/path.1700350303>.

⁸⁶ V. B. Astler and F. A. Coller, "The Prognostic Significance of Direct Extension of Carcinoma of the Colon and Rectum," *Annals of Surgery* 139, no. 6 (June 1954): 846–52, <https://doi.org/10.1097/00000658-195406000-00015>.

⁸⁷ Stephen B. Edge, *AJCC Cancer Staging Manual*, ed. American Joint Committee on Cancer, 7th ed (New York: Springer, 2010).

⁸⁸ Mahul B. Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, eds., *AJCC Cancer Staging Manual*, Eight edition / editor-in-chief, Mahul B. Amin, MD, FACS ; editors, Stephen B. Edge, MD, FACS [and 16 others] ; Donna M. Gress, RHIT, CTR-Technical editor ; Laura R. Meyer, CAPM-Managing editor (Chicago IL: American Joint Committee on Cancer, Springer, 2017).

⁸⁹ Dukes, "The Classification of Cancer of the Rectum."

⁹⁰ Dukes.

⁹¹ María José Báguena, "Estadios de Dukes. Cuthbert Esquire Dukes(1890-1977), Breve Referencia de Su Aporte a La Medicina," June 26, 2002, <https://www.intramed.net/contenido.asp?contenido=12835>.

1.B.8.b. CLASIFICACIÓN MODIFICADA DE ASTLER Y COLLER (MAC):

A partir de la clasificación de Dukes, en 1954, Astler y Coller introdujeron la revisión modificada (MAC) que diferenciaba los estadios B1 y B2, y C1 y C2, según la afectación del espesor de la pared del colon y el número de ganglios afectados⁹²:

- Estadio A: afectación de submucosa.
- Estadio B1: Tumor que se extiende hasta la muscularis propia sin infiltración de la misma y sin afectación ganglionar.
- Estadio B2: La infiltración alcanza la muscular propia. No existe infiltración ganglionar.
- Estadio C1: El tumor alcanza todo el espesor de la pared intestinal sin sobrepasarlo. Existe infiltración ganglionar.
- Estadio C2: El tumor sobrepasa la pared intestinal. Existe infiltración ganglionar.
- Estadio D: Metástasis a distancia.

1.B.8.c. TNM 8ª EDICIÓN (AJCC/IUCC):

Es la clasificación más aceptada y utilizada a día de hoy. El sistema TNM es una estrategia para la estadificación de cáncer aceptado por la "Union for International Cancer Control (UICC) y el "American Joint Committee on Cancer (AJCC)".⁹³

Este sistema se basa en la clasificación de los tumores por el espesor del tumor primario (T), el grado de diseminación a los ganglios linfáticos (N) y la presencia de metástasis a distancia (M); permitiendo agrupar a los pacientes según su pronóstico.

A principios de 2017 se realizó la última revisión dando lugar a la 8ª edición de TNM⁹⁴.

⁹² Astler and Coller, "The Prognostic Significance of Direct Extension of Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁹³ Edge, *AJCC Cancer Staging Manual*.

Tumor primario (T)

- **TX** El tumor primario no puede ser identificado
- **T0** No hay evidencia de tumor primario
- **Tis** Carcinoma in situ: tumor intraepitelial o invasión de la lámina propia
- **T1** Invasión de submucosa
- **T2** Invasión de muscularis propia
- **T3** Infiltración a través de la muscularis propia hacia tejidos pericolónicos
- **T4** Alcanza y sobrepasa el peritoneo visceral:
 - **T4a** Penetración/Perforación del peritoneo visceral
 - **T4b** Invasión directa o adherencia a otras estructuras u órganos

Ganglios linfáticos regionales (N)

- **NX** No se pueden identificar ganglios regionales
- **N0** No hay ganglios linfáticos regionales
- **N1** Metástasis en 1 a 3 ganglios
 - **N1a** 1 ganglio
 - **N1b** De 2 a 3 ganglios
 - **N1c** Depósitos tumorales en la subserosa, meso o pericólico no peritonizado o tejidos perirectales sin infiltración ganglionar
- **N2** Metástasis en 4 o más ganglios
 - **N2a** De 4 a 6 ganglios
 - **N2b** 7 o más ganglios

Metástasis a distancia (M)

- **M0** No hay metástasis a distancia
- **M1** Metástasis a distancia
 - **M1a** un sólo órgano afectado
 - **M1b** más de un órgano o peritoneales

⁹⁴ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

Estadios (E) y correlaciones:

Tabla 5. Estadios tumorales y correlaciones.

	T	N	M	Dukes	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
Ila	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a	-	D
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b	-	D

Tabla 6. Terminología según la estadificación TNM.

Terminología TNM
• cTNM: Clasificación tumoral clínica. Se basa en los hallazgos obtenidos mediante la exploración física y las pruebas complementarias (Rx, ECO, TAC,...). • pTNM: Clasificación anatomopatológica. Se obtiene tras el estudio histológico de la pieza quirúrgica. • ypTNM: Clasificación histológica tras tratamiento neoadyuvante. • rTNM: Clasificación tras recidiva tumoral

1.B.9. TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE COLON

1.B.9.a TRATAMIENTO QUIRÚRGICO:

1.B.9.a.1. Lesiones polipoideas con hallazgos histológicos de carcinoma:

La mayoría de los cánceres de colon se desarrollan a partir de adenomas o pólipos de la mucosa colónica en un proceso de años de evolución por cúmulo de alteraciones genéticas que favorecen la malignización de los mismos. Estos pólipos pueden ser benignos al diagnóstico o presentar displasia o degeneración carcinomatosa.

Cuando el pólipo es de pequeño tamaño y se reseca en su totalidad por vía endoscópica esto puede ser suficiente para el tratamiento. Sin embargo en ocasiones habrá que completar el tratamiento con cirugía oncológica.

Los hallazgos en la pieza de resección endoscópica que conllevan a completar el tratamiento con resección quirúrgica oncológica son la presencia de carcinoma pobremente diferenciado, la infiltración linfovascular, que la invasión sobrepase la muscularis propia (T2) o los tumores T1 con márgenes de resección afectados (o inferiores a 1mm). El budding también parece estar relacionado con peor pronóstico. En cuanto a los pólipos sésiles con factores de riesgo la actitud es la misma que con los pólipos pediculados. En estos casos la polipectomía endoscópica no será suficiente para el tratamiento y se deberá realizar cirugía oncológica.^{95 96 97 98 99 100}

⁹⁵ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

⁹⁶ Hideki Ueno et al., "Risk Factors for an Adverse Outcome in Early Invasive Colorectal Carcinoma," *Gastroenterology* 127, no. 2 (August 2004): 385–94, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.04.022>.

⁹⁷ U. Seitz et al., "Is Endoscopic Polypectomy an Adequate Therapy for Malignant Colorectal Adenomas? Presentation of 114 Patients and Review of the Literature," *Diseases of the Colon and Rectum* 47, no. 11 (November 2004): 1789–96; discussion 1796–1797, <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0680-2>.

⁹⁸ B C Morson et al., "Histopathology and Prognosis of Malignant Colorectal Polyps Treated by Endoscopic Polypectomy.," *Gut* 25, no. 5 (May 1984): 437–44.

⁹⁹ R. C. Haggitt et al., "Prognostic Factors in Colorectal Carcinomas Arising in Adenomas: Implications for Lesions Removed by Endoscopic Polypectomy," *Gastroenterology* 89, no. 2 (August 1985): 328–36, [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90333-6](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90333-6).

1.B.9.a.2. Tratamiento del cáncer localizado:

Aproximadamente el 80% de los pacientes se diagnostican cuando el cáncer se encuentra localizado en la pared del colon con o sin invasión ganglionar.

La cirugía es el único tratamiento curativo del cáncer localizado. El tratamiento quirúrgico consiste en la exéresis total del tumor mediante cirugía oncológica (en bloque) que implique la totalidad de la neoplasia con márgenes libres, el pedículo vascular lo más cercano posible a la raíz y el drenaje linfático del segmento afectado.¹⁰¹

- Cáncer de ciego, colon ascendente o ángulo hepático: Se realiza una hemicolectomía derecha que consiste en la exéresis segmentaria de ciego, colon ascendente y ángulo hepático del colon con anastomosis íleon-colon transverso. Se deben ligar los vasos ileocólicos, cólicos derechos y rama derecha de cólicos medios en su raíz.
- Colon transverso: Dependiendo de la localización del tumor en el colon transverso existen diferentes opciones de tratamiento:
 - Tercio proximal de c. transverso: Se lleva a cabo una hemicolectomía derecha con exéresis de ciego, colon ascendente y tercio proximal de colon transverso con márgenes y ligadura de vasos ileocólicos, cólicos derechos y rama derecha de cólica media en raíz y anastomosis ileocólica.
 - Tercio medio de c. transverso: Se suele realizar una hemicolectomía derecha ampliada que implica exéresis de ciego, c. ascendente y dos tercios proximales de c. transverso con ligadura de vasos ileocólicos, cólicos derechos y cólicos medios en su raíz y con reconstrucción mediante anastomosis ileocólica. También se puede realizar una resección segmentaria de c. transverso con exéresis únicamente de colon transverso y ligadura de vasos cólicos medios y anastomosis colocólica. Aunque esta técnica se utiliza con menor frecuencia por mayor fallo en la anastomosis.

¹⁰⁰ P. Netzer et al., "Significance of Histologic Criteria for the Management of Patients with Malignant Colorectal Polyps and Polypectomy," *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 32, no. 9 (September 1997): 910–16, <https://doi.org/10.3109/00365529709011201>.

¹⁰¹ Ortiz Urtado H, *Cirugía Colorrectal. Guía de Cirugía Colorrectal de La Asociación Española de Cirugía*.

- Tercio distal de c. transverso/ángulo esplénico: Se puede realizar una colectomía subtotal con resección de ciego, colon ascendente, c. transverso y colon descendente con ligadura de vasos ileocólicos, cólicos medios y cólicos izquierdos y anastomosis ileosigmoidea. Otra opción es la realización de una resección de ángulo esplénico con ligadura de rama izquierda de cólica media y cólicos izquierdos y anastomosis colocolica.
- Colon descendente: Se realiza una colectomía izquierda con la sección de la arteria mesentérica inferior en su raíz y anastomosis colorrectal.
- Colon sigmoide: La cirugía consiste en una sigmoidectomía con anastomosis colon descendente-recto. La ligadura de la arteria mesentérica inferior se puede realizar más alta respetando la salida de la arteria cólica izquierda.
- Ángulo hepático y ángulo esplénico: En tumores localizados en zonas limítrofes entre dos pedículos vasculolinfáticos se debe extender la linfadenectomía a ambos.
- Cáncer de colon sincrónico: Está indicada la realización de colectomía total o subtotal siempre que existan neoplasias sincrónicas en colon derecho e izquierdo. En los pacientes con CCR hereditario no asociado a poliposis (HNPCC) que debutan con cáncer de colon está indicada la realización de colectomía total. En la poliposis adenomatosa familiar también se suele emplear la colectomía total.

1.B.9.a.3. Tratamiento del cáncer de colon localmente avanzado:

Se considera un tumor localmente avanzado, cuando afecta estructuras vecinas y/o perfora el peritoneo visceral (pT4). Aproximadamente el 10% de los pacientes con cáncer de colon tienen invasión de órganos contiguos o adherencias inflamatorias que involucran estructuras vecinas al diagnóstico.

La resección multivisceral es apropiada en los tumores localmente avanzados siempre y cuando el tumor primario sea potencialmente resecable.^{102 103 104}

¹⁰² H. Nelson et al., "Guidelines 2000 for Colon and Rectal Cancer Surgery," *Journal of the National Cancer Institute* 93, no. 8 (April 18, 2001): 583–96, <https://doi.org/10.1093/jnci/93.8.583>.

¹⁰³ M. J. Lopez, "Multivisceral Resections for Colorectal Cancer," *Journal of Surgical Oncology* 76, no. 1 (January 2001): 1–5, [https://doi.org/10.1002/1096-9098\(200101\)76:1<1::aid-jso1000>3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1096-9098(200101)76:1<1::aid-jso1000>3.0.co;2-q).

Se debe realizar una resección extendida en bloque con una cuidadosa manipulación del tumor para evitar la perforación iatrogénica.¹⁰⁵

1.B.9.a.4. Tratamiento del cáncer de colon con enfermedad metastásica (Estadio IV):

En aquellos pacientes que debutan al diagnóstico con enfermedad a distancia, el protocolo de actuación terapéutico se decide en comité multidisciplinar y dependerá de la clínica, estado general del paciente, número, localización y resecabilidad de las lesiones.

1.B.9.b. TRATAMIENTO ADYUVANTE:

La finalidad de la quimioterapia postoperatoria (adyuvante) es erradicar las micrometástasis, reduciendo así la probabilidad de recidiva de la enfermedad y aumentando la tasa de curación.

La mayoría de los regímenes de quimioterapia están basados en el uso de oxiplatino (FOLFOX, XELOX).^{106 107 108} Otros quimioterápicos muy utilizados en el carcinoma de colon son las fluoropirimidinas (5-fluorouracilo, capecitabina) que se utilizan en esquemas como 5FU/LV, FOLFOX4 o XELOX.

¹⁰⁴ Yuji Nakafusa et al., "Comparison of Multivisceral Resection and Standard Operation for Locally Advanced Colorectal Cancer: Analysis of Prognostic Factors for Short-Term and Long-Term Outcome," *Diseases of the Colon and Rectum* 47, no. 12 (December 2004): 2055–63, <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0716-7>.

¹⁰⁵ Ortiz Urtado H, *Cirugía Colorrectal. Guía de Cirugía Colorrectal de La Asociación Española de Cirugía*.

¹⁰⁶ Manish A. Shah et al., "Impact of Patient Factors on Recurrence Risk and Time Dependency of Oxaliplatin Benefit in Patients With Colon Cancer: Analysis From Modern-Era Adjuvant Studies in the Adjuvant Colon Cancer End Points (ACCENT) Database," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 34, no. 8 (March 10, 2016): 843–53, <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.0558>.

¹⁰⁷ Thierry André et al., "Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer," *The New England Journal of Medicine* 350, no. 23 (June 3, 2004): 2343–51, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032709>.

¹⁰⁸ Thierry André et al., "Improved Overall Survival with Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 27, no. 19 (July 1, 2009): 3109–16, <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.6771>.

Los beneficios de la quimioterapia adyuvante se han demostrado más claramente en pacientes con estadios III de la enfermedad (invasión ganglionar). En este grupo se ha observado una reducción de aproximadamente un 30% en el riesgo de recurrencia de la enfermedad y una reducción de 22 a 32% en la mortalidad.

El beneficio de la quimioterapia en el estadio II de la enfermedad es controvertido. La decisión del tratamiento adyuvante en estos pacientes debe ser individualizada. Principalmente se deben tener en consideración factores clínico patológicos de alto riesgo¹⁰⁹ como la ausencia de 12 ganglios estudiados en la pieza quirúrgica, tumores obstructivos o perforados, tumores pobremente diferenciados, la existencia de invasión linfovascular y/o perineural, defectos en el sistema de reparación del ADN (MMR), comorbilidades asociadas y la esperanza de vida de los pacientes.

Aunque algunos estudios con pocos pacientes en estadio II hayan concluido que la quimioterapia adyuvante no mejora la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en este grupo de pacientes; otros estudios como el QUASAR y el MOSAIC han descrito mejoría pronóstica en pacientes en estadio II con factores de riesgo.^{110 111} De hecho, hoy en día se considera que los pacientes en estadio II con factores de riesgo tienen un pronóstico similar a los pacientes en estadio III y por ello se suele recomendar tratamiento adyuvante con esquemas basados en el oxiplatino.¹¹²

¹⁰⁹ Al B. Benson et al., "American Society of Clinical Oncology Recommendations on Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 22, no. 16 (August 15, 2004): 3408–19, <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.05.063>.

¹¹⁰ André et al., "Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer."

¹¹¹ André et al., "Improved Overall Survival with Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial."

¹¹² André et al.

1.B.10. PRONÓSTICO. FACTORES PRONÓSTICO

El factor pronóstico más importante en el CCR es la estadificación tumoral al diagnóstico.

Las tasas de supervivencia a cinco años según el estadio del tumor en el momento del diagnóstico, cuando se analizaron los datos obtenidos en la base de datos SEER y teniendo en cuenta la clasificación TNM 7ª edición fueron los siguientes:¹¹³

Tabla 7. Supervivencia a 5 años según el estadio tumoral al diagnóstico.

E-I	74.0
E-IIA	66.5
E-IIB	58.6
E-IIC	37.3
E-IIIA	73.1
E-IIIB	46.3
E-IIIC	28.0
E-IV	5.7

* Datos obtenidos de SEER 1973-2005 archivo de uso público diagnosticado entre 1998-2000. El estadio I incluye 7417 pacientes; el estadio IIA, 9956; estadio IIB, 997; Estadio IIC, 725; Estadio IIIA, 868; Estadio IIIB, 1492; Estadio IIIC, 2000; y el estadio IV, 5036¹¹⁴.

A continuación se detallan los factores que influyen en el pronóstico de los pacientes con cáncer de colon divididos en factores histopatológicos, clínicos y moleculares:

FACTORES HISTOPATOLÓGICOS:

- **Extensión local del tumor:** La extensión local del tumor es un factor pronóstico independiente.^{115 116 117} La existencia de afectación serosa (pT4) empeora el

¹¹³ Edge, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹¹⁴ Edge.

¹¹⁵ T. Wiggers, J. W. Arends, and A. Volovics, "Regression Analysis of Prognostic Factors in Colorectal Cancer after Curative Resections," *Diseases of the Colon and Rectum* 31, no. 1 (January 1988): 33–41, <https://doi.org/10.1007/bf02552567>.

¹¹⁶ P. H. Chapuis et al., "A Multivariate Analysis of Clinical and Pathological Variables in Prognosis after Resection of Large Bowel Cancer," *The British Journal of Surgery* 72, no. 9 (September 1985): 698–702, <https://doi.org/10.1002/bjs.1800720909>.

¹¹⁷ N. A. Shepherd, K. J. Baxter, and S. B. Love, "The Prognostic Importance of Peritoneal Involvement in Colonic Cancer: A Prospective Evaluation," *Gastroenterology* 112, no. 4 (April 1997): 1096–1102, [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(97\)70119-7](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(97)70119-7).

pronóstico de forma significativa.¹¹⁸ El tamaño tumoral no parece ser un factor de mal pronóstico, especialmente en el cáncer de recto.¹¹⁹

- **Infiltración ganglionar:** La presencia de infiltración ganglionar (N+) es el factor pronóstico más importante tras descartar metástasis a distancia.^{120 121 122}

La existencia de infiltración ganglionar parece estar relacionado con la infiltración local de la pared y el grado histológico.^{123 124 125}

El número de ganglios afectados es un importante predictor del pronóstico de la enfermedad. Igualmente es importante el número total de ganglios aislados tanto en el estadio II como en el III por su relevancia pronóstica.^{126 127} Hoy en día está establecido que se deben estudiar al menos 12 ganglios para una correcta estadificación.¹²⁸ Cuando se estudian menos de 12 ganglios y estos son

¹¹⁸ Wiggers, Arends, and Volovics, "Regression Analysis of Prognostic Factors in Colorectal Cancer after Curative Resections."

¹¹⁹ Benson et al., "American Society of Clinical Oncology Recommendations on Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer."

¹²⁰ N. S. Goldstein et al., "Lymph Node Recovery from Colorectal Resection Specimens Removed for Adenocarcinoma. Trends over Time and a Recommendation for a Minimum Number of Lymph Nodes to Be Recovered," *American Journal of Clinical Pathology* 106, no. 2 (August 1996): 209–16, <https://doi.org/10.1093/ajcp/106.2.209>.

¹²¹ Edward M. Copeland, Leonard D. Miller, and Rayford S. Jones, "Prognostic Factors in Carcinoma of the Colon and Rectum," *The American Journal of Surgery* 116, no. 6 (December 1, 1968): 875–81, [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(68\)90458-3](https://doi.org/10.1016/0002-9610(68)90458-3).

¹²² J. Weitz et al., "Detection of Disseminated Colorectal Cancer Cells in Lymph Nodes, Blood and Bone Marrow," *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 5, no. 7 (July 1999): 1830–36.

¹²³ Frederick L. Greene, Andrew K. Stewart, and H. James Norton, "A New TNM Staging Strategy for Node-Positive (Stage III) Colon Cancer: An Analysis of 50,042 Patients," *Annals of Surgery* 236, no. 4 (October 2002): 416–21; discussion 421, <https://doi.org/10.1097/0000658-200210000-00003>.

¹²⁴ Richard S. Swanson et al., "The Prognosis of T3N0 Colon Cancer Is Dependent on the Number of Lymph Nodes Examined," *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 1 (February 2003): 65–71, <https://doi.org/10.1245/aso.2003.03.058>.

¹²⁵ Steven L. Chen and Anton J. Bilchik, "More Extensive Nodal Dissection Improves Survival for Stages I to III of Colon Cancer: A Population-Based Study," *Annals of Surgery* 244, no. 4 (October 2006): 602–10, <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000237655.11717.50>.

¹²⁶ George J. Chang et al., "Lymph Node Evaluation and Survival after Curative Resection of Colon Cancer: Systematic Review," *Journal of the National Cancer Institute* 99, no. 6 (March 21, 2007): 433–41, <https://doi.org/10.1093/jnci/djk092>.

¹²⁷ T. E. Le Voyer et al., "Colon Cancer Survival Is Associated with Increasing Number of Lymph Nodes Analyzed: A Secondary Survey of Intergroup Trial INT-0089," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 21, no. 15 (August 1, 2003): 2912–19, <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.062>.

¹²⁸ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

negativos estamos ante un (Nx) y existe riesgo de infraestadificación de la enfermedad.

Según las últimas guías, se consideran N+ las metástasis y micrometástasis.¹²⁹

La existencia de escasas células tumorales aisladas (<0,2mm y/o <150 copias) en los ganglios, puede observarse con técnicas histológicas, inmunohistoquímicas (i) o técnicas moleculares (mol). Aunque existen estudios en los que se observa empeoramiento pronóstico en estos pacientes,¹³⁰ a día de hoy se sigue considerando pN0(i+) o pN0(mol+) a expensas de estudios prospectivos.

- **Nódulos mesentéricos/ nódulos satélite:** Según la clasificación TNM 7ª y 8ª edición, se consideran depósitos tumorales a la presencia de tejido tumoral en la subserosa, meso o pericólico no peritonizado o tejidos perirrectales sin infiltración ganglionar.^{131 132} Su presencia empeora el pronóstico.^{133 134 135}
- **Infiltración linfovascular y perineural:** Tanto la infiltración venosa como la linfática implican un importante factor de mal pronóstico.¹³⁶ La infiltración perineural también se ha asociado a mal pronóstico.¹³⁷

¹²⁹ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

¹³⁰ Nuh N. Rahbari 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," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 30, no. 1 (January 1, 2012): 60–70, <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.9504>.

¹³¹ Edge, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹³² Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹³³ N. S. Goldstein and J. R. Turner, "Pericolonic Tumor Deposits in Patients with T3N+MO Colon Adenocarcinomas: Markers of Reduced Disease Free Survival and Intra-Abdominal Metastases and Their Implications for TNM Classification," *Cancer* 88, no. 10 (May 15, 2000): 2228–38.

¹³⁴ Dorothy S. Lo et al., "Prognostic Significance of Mesenteric Tumor Nodules in Patients with Stage III Colorectal Cancer," *Cancer* 112, no. 1 (January 1, 2008): 50–54, <https://doi.org/10.1002/cncr.23136>.

¹³⁵ E. J. Th Belt et al., "Lymph Node Negative Colorectal Cancers with Isolated Tumor Deposits Should Be Classified and Treated as Stage III," *Annals of Surgical Oncology* 17, no. 12 (December 2010): 3203–11, <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1152-7>.

¹³⁶ Johannes Betge et al., "Intramural and Extramural Vascular Invasion in Colorectal Cancer: Prognostic Significance and Quality of Pathology Reporting," *Cancer* 118, no. 3 (February 1, 2012): 628–38, <https://doi.org/10.1002/cncr.26310>.

¹³⁷ André et al., "Improved Overall Survival with Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial."

- **Tumor residual:** La existencia de tumor residual tras la resección quirúrgica es otro factor de mal pronóstico.¹³⁸ Se utiliza la clasificación R según la TNM:^{139 140}

Tabla 8. Clasificación R del tumor residual según la TNM.

R0	Resección completa con márgenes libres de enfermedad
R1	Resección incompleta con infiltración microscópica de los márgenes
R2	Resección incompleta con enfermedad macroscópica

- **El margen de resección circunferencial (CRM)** corresponde a la superficie no peritoneal diseccionada quirúrgicamente de la muestra. Cualquier sección del colon no recubierto por serosa y que sea seccionada del retroperitoneo. En el caso de los tumores de recto medio y distal, con localización extraperitoneal, toda la superficie externa de la muestra se considera un CRM.

Para el cáncer de recto, la calidad de la técnica quirúrgica y el estado del CRM es uno de los factores predictivos más importantes tanto para la supervivencia como para la recidiva local y a distancia.¹⁴¹

En el estudio anatomopatológico, la distancia entre el borde del tumor y el CRM debe ser medida y registrada en mm. En general se considera CRM positivo cuando la distancia entre el punto más profundo de penetración por el tumor y el CRM es ≤ 1 mm. Otros estudios establecen el mínimo en 2mm, siendo 2mm menos positivo.^{142 143}

¹³⁸ C. C. Compton et al., "Prognostic Factors in Colorectal Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999," *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, no. 7 (July 2000): 979–94, [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2000\)124<0979:PFICC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124<0979:PFICC>2.0.CO;2).

¹³⁹ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹⁴⁰ Christian Wittekind et al., "A Uniform Residual Tumor (R) Classification: Integration of the R Classification and the Circumferential Margin Status," *Cancer* 115, no. 15 (August 1, 2009): 3483–88, <https://doi.org/10.1002/cncr.24320>.

¹⁴¹ Iris D. Nagtegaal and Phil Quirke, "What Is the Role for the Circumferential Margin in the Modern Treatment of Rectal Cancer?," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 26, no. 2 (January 10, 2008): 303–12, <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.7027>.

¹⁴² Iris D. Nagtegaal et al., "Circumferential Margin Involvement Is Still an Important Predictor of Local Recurrence in Rectal Carcinoma: Not One Millimeter but Two Millimeters Is the Limit," *The American Journal of Surgical Pathology* 26, no. 3 (March 2002): 350–57, <https://doi.org/10.1097/00000478-200203000-00009>.

¹⁴³ T. E. Bernstein et al., "Circumferential Resection Margin as a Prognostic Factor in Rectal Cancer," *The British Journal of Surgery* 96, no. 11 (November 2009): 1348–57, <https://doi.org/10.1002/bjs.6739>.

- **Tipo histológico:** La mayoría de los tumores de colon y recto son carcinomas y entre los mismos, más del 90 por ciento son adenocarcinomas. La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) los clasifica en los siguiente subtipos: adenocarcinoma cribiforme, adenocarcinoma medular, carcinoma micropapilar, adenocarcinoma mucinoso (coloide), adenocarcinoma serrado, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma de células fusiformes, carcinoma de células escamosas y carcinoma indiferenciado.

El tipo histológico no ha demostrado ser un factor pronóstico independiente, con la excepción de algunos subtipos de alto grado como los tumores con células en anillo de sello, tumores mal diferenciados o no diferenciados.¹⁴⁴

- **Grado histológico:** refleja el grado de diferenciación tumoral (tiene en cuenta el grado en el que existen glándulas bien formadas) y es un rasgo que ha demostrado ser un factor pronóstico independiente del estadio.^{145 146}

Tabla 9. Diferenciación tumoral según la formación glandular.¹⁴⁷

Formación glandular	Diferenciación	Grados numéricos	Descripción
>95%	Bien diferenciado	1	Bajo grado
50-90%	Moderadamente diferenciado	2	Bajo grado
0-49%	Pobrementemente diferenciado	3	Alto grado

- **Bordes tumorales (budding):** Las características del tumor en el borde de crecimiento tumoral es un factor de riesgo independiente al estadio tumoral. Múltiples estudios han demostrado que un patrón irregular de infiltración de

¹⁴⁴ G. B. Secco et al., "Primary Mucinous Adenocarcinomas and Signet-Ring Cell Carcinomas of Colon and Rectum," *Oncology* 51, no. 1 (February 1994): 30–34, <https://doi.org/10.1159/000227306>.

¹⁴⁵ R. C. Newland et al., "Pathologic Determinants of Survival Associated with Colorectal Cancer with Lymph Node Metastases. A Multivariate Analysis of 579 Patients," *Cancer* 73, no. 8 (April 15, 1994): 2076–82, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19940415\)73:8<2076::aid-cnrc2820730811>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19940415)73:8<2076::aid-cnrc2820730811>3.0.co;2-6).

¹⁴⁶ F. T. Bosman, World Health Organization, and International Agency for Research on Cancer, eds., *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*, 4th ed, World Health Organization Classification of Tumours 3 (Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010).

¹⁴⁷ Bosman, World Health Organization, and International Agency for Research on Cancer.

crecimiento frente a un borde expansivo es un factor pronóstico adverso independiente.^{148 149}

- **Regresión tumoral tras tratamiento neoadyuvante:** En los pacientes con cáncer de recto que reciben tratamiento neoadyuvante y posterior tratamiento quirúrgico, la ausencia de tumor en la pieza quirúrgica o la disminución del volumen del mismo son un factor de buen pronóstico. En este grupo de pacientes, el pronóstico se determina mejor mediante el estadiaje postratamiento (ypTNM).^{150 151}

FACTORES CLÍNICOS:

- **CEA preoperatoria:** La cifra preoperatoria del marcador CEA tiene un importante valor pronóstico. Mediciones por encima de 5ng/mL, independientemente del estadio tumoral, suponen un importante factor de riesgo.^{152 153 154 155 156} Sin embargo, no se ha demostrado que los pacientes en

¹⁴⁸ N. A. Shepherd et al., "Prognostic Factors in Colonic Cancer," *Histopathology* 14, no. 6 (June 1989): 613–20, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1989.tb02202.x>.

¹⁴⁹ Teppei Morikawa et al., "Prognostic Significance and Molecular Associations of Tumor Growth Pattern in Colorectal Cancer," *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 6 (June 2012): 1944–53, <https://doi.org/10.1245/s10434-011-2174-5>.

¹⁵⁰ Leyo Ruo et al., "Long-Term Prognostic Significance of Extent of Rectal Cancer Response to Preoperative Radiation and Chemotherapy," *Annals of Surgery* 236, no. 1 (July 2002): 75–81, <https://doi.org/10.1097/0000658-200207000-00012>.

¹⁵¹ Margherita Gavioli et al., "Incidence and Clinical Impact of Sterilized Disease and Minimal Residual Disease after Preoperative Radiochemotherapy for Rectal Cancer," *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 10 (October 2005): 1851–57, <https://doi.org/10.1007/s10350-005-0133-6>.

¹⁵² Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹⁵³ N. Wolmark et al., "The Prognostic Significance of Preoperative Carcinoembryonic Antigen Levels in Colorectal Cancer. Results from NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) Clinical Trials," *Annals of Surgery* 199, no. 4 (April 1984): 375–82, <https://doi.org/10.1097/0000658-198404000-00001>.

¹⁵⁴ Y. J. Park et al., "Prognostic Factors in 2230 Korean Colorectal Cancer Patients: Analysis of Consecutively Operated Cases," *World Journal of Surgery* 23, no. 7 (July 1999): 721–26, <https://doi.org/10.1007/pl00012376>.

¹⁵⁵ M. Kouri et al., "Serum Carcinoembryonic Antigen and DNA Ploidy in Colorectal Carcinoma. A Prospective Study," *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 26, no. 8 (August 1991): 812–18, <https://doi.org/10.3109/00365529109037017>.

¹⁵⁶ L. E. Harrison et al., "Preoperative Carcinoembryonic Antigen Predicts Outcomes in Node-Negative Colon Cancer Patients: A Multivariate Analysis of 572 Patients," *Journal of the American College of Surgeons* 185, no. 1 (July 1997): 55–59, [https://doi.org/10.1016/s1072-7515\(97\)00012-4](https://doi.org/10.1016/s1072-7515(97)00012-4).

estadios precoces con CEA elevada se beneficien del tratamiento adyuvante.¹⁵⁷

158 159

- **Obstrucción o perforación tumoral:** La mayoría de los estudios consideran la obstrucción intestinal y la perforación factores de mal pronóstico. La NCCN y la ESMO consideran tanto la perforación como la obstrucción factores clínicopatológicos de mal pronóstico para pacientes en estadio II, dándoles carácter de EII de alto riesgo; Sin embargo la ASCO solo considera la perforación como factor de riesgo.¹⁶⁰

FACTORES MOLECULARES:

En la práctica clínica, el único factor molecular que se utiliza rutinariamente para la toma de decisiones es la alteración de los **genes del sistema MMR** (hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 y hPMS2).^{161 162}

La vía mutadora o de inestabilidad de microsatélites (MSI) del CCR se ha asociado con el 15% de los CCR esporádicos y con el síndrome de Lynch I.¹⁶³ Esta vía es causada por errores en el sistema de reparación por daño al ADN (sistema MRR) y conllevan alteraciones de microsatélites. Entre los pacientes con CCR localizado, los tumores que son MSI-H (>30% de inestabilidad de loci microsatelite) están asociados con una

¹⁵⁷ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

¹⁵⁸ Gershon Y. Locker et al., "ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 24, no. 33 (November 20, 2006): 5313–27, <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.08.2644>.

¹⁵⁹ H. J. Schmoll et al., "ESMO Consensus Guidelines for Management of Patients with Colon and Rectal Cancer. a Personalized Approach to Clinical Decision Making," *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 23, no. 10 (October 2012): 2479–2516, <https://doi.org/10.1093/annonc/mds236>.

¹⁶⁰ "Las cifras del cáncer en España 2016."

¹⁶¹ Markowitz and Bertagnolli, "Molecular Origins of Cancer."

¹⁶² Palacio Rúa and Muñetón Peña2, "Bases Moleculares Del Cáncer Colorrectal."

¹⁶³ D. Shibata et al., "Genomic Instability in Repeated Sequences Is an Early Somatic Event in Colorectal Tumorigenesis That Persists after Transformation," *Nature Genetics* 6, no. 3 (March 1994): 273–81, <https://doi.org/10.1038/ng0394-273>.

supervivencia más larga que los tumores MSI-L o microsatélites estables (MSS), tanto en casos relacionados con Lynch como en los esporádicos.^{164 165}

Los tumores con **mutaciones en el gen KRAS** no responden al tratamiento anti-EGFR.

Las mutaciones activadoras de BRAF, son un marcador pronóstico negativo tanto en tumores tempranos como avanzados o recurrentes; siempre que no se asocian a MSH-H.^{166 167}

Aunque algunos estudios demuestren que **la pérdida de heterocigocidad de 18q** ó la falta de expresión de su proteína codificada se ha relacionado con un pronóstico inferior¹⁶⁸ se sigue sin poder definir esta alteración como un factor pronóstico.¹⁶⁹

Aun se estudian otros factores moleculares (aneuploidias, genes tumores supresores, genes asociados a la síntesis de ADN...) pero no se ha podido demostrar hasta la fecha su validez pronóstica.

¹⁶⁴ R. Gryfe et al., "Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer," *The New England Journal of Medicine* 342, no. 2 (January 13, 2000): 69–77, <https://doi.org/10.1056/NEJM200001133420201>.

¹⁶⁵ R. Sankila et al., "Better Survival Rates in Patients with MLH1-Associated Hereditary Colorectal Cancer," *Gastroenterology* 110, no. 3 (March 1996): 682–87, <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v110.pm8608876>.

¹⁶⁶ Wilson I. Gonsalves et al., "Patient and Tumor Characteristics and BRAF and KRAS Mutations in Colon Cancer, NCCTG/Alliance N0147," *Journal of the National Cancer Institute* 106, no. 7 (July 2014), <https://doi.org/10.1093/jnci/dju106>.

¹⁶⁷ Arnaud D. Roth et al., "Prognostic Role of KRAS and BRAF in Stage II and III Resected Colon Cancer: Results of the Translational Study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 Trial," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28, no. 3 (January 20, 2010): 466–74, <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.3452>.

¹⁶⁸ David Shibata et al., "The DCC Protein and Prognosis in Colorectal Cancer," *New England Journal of Medicine* 335, no. 23 (December 5, 1996): 1727–32, <https://doi.org/10.1056/NEJM199612053352303>.

¹⁶⁹ Ekblom et al., "Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer. A Population-Based Study."

1.C. GANGLIO CENTINELA

"El ganglio centinela (GC) es el primer ganglio en recibir el drenaje linfático desde el lecho tumoral, y por tanto el que más probabilidades tiene de estar infiltrado".

1.C.1. RESEÑA HISTÓRICA

A principios del siglo XX Handley dedujo que las células tumorales migraban por el sistema linfático y que por ello, tumores como el melanoma debían ser resecados con amplios márgenes circunferenciales al tumor.¹⁷⁰

El concepto de ganglio centinela fue empleado por primera vez en la literatura por Gould en los años 60 para el cáncer de parótida.¹⁷¹ Posteriormente en 1977 Cabanas describió las bases del modelo fisiológico del ganglio centinela en el cáncer de pene estableciendo el tratamiento quirúrgico según los hallazgos histológicos del GC.¹⁷²

En 1991 Wong y Morton estudiaron el modelo del sistema linfático de la piel en los felinos deduciendo la importancia del mapeo ganglionar y dando cabida a la linfadenectomía selectiva en el melanoma.¹⁷³ Morton un año más tarde, en 1992, fue el responsable de probar que el GC predice el estado ganglionar basal con una precisión del 99%, de forma que en los melanomas precoces con ganglios centinela negativos se evita la linfadenectomía y sus complicaciones.^{174 175}

¹⁷⁰ Handley W., "The Pathology of Melanotic Growth in Relation to Operative Treatment (II)." 1 (1907): 996–1003.

¹⁷¹ E. A. Gould et al., "Observations on a 'Sentinel Node' in Cancer of the Parotid," *Cancer* 13 (February 1960): 77–78, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(196001/02\)13:1<77::aid-cnrcr2820130114>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/1097-0142(196001/02)13:1<77::aid-cnrcr2820130114>3.0.co;2-d).

¹⁷² R. M. Cabanas, "An Approach for the Treatment of Penile Carcinoma," *Cancer* 39, no. 2 (February 1977): 456–66, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197702\)39:2<456::aid-cnrcr2820390214>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197702)39:2<456::aid-cnrcr2820390214>3.0.co;2-i).

¹⁷³ J H Wong, L A Cagle, and D L Morton, "Lymphatic Drainage of Skin to a Sentinel Lymph Node in a Feline Model," *Annals of Surgery* 214, no. 5 (November 1991): 637–41.

¹⁷⁴ D. L. Morton et al., "Technical Details of Intraoperative Lymphatic Mapping for Early Stage Melanoma," *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 127, no. 4 (April 1992): 392–99, <https://doi.org/10.1001/archsurg.1992.01420040034005>.

¹⁷⁵ D. L. Morton et al., "Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma: A Multicenter Trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group," *Annals of Surgery* 230, no. 4 (October 1999): 453–63; discussion 463–465, <https://doi.org/10.1097/00006558-199910000-00001>.

Giuliano y Krag fueron los pioneros a mediados de los 90 en el uso del GC en el cáncer de mama con una precisión y resultados similares a los obtenidos por Morton.^{176 177} De esta forma la técnica del GC está validada como técnica de estadificación tanto en el melanoma como en el cáncer de mama desde los años 90, llegando a modificar su tratamiento al evitar un elevado número de linfadenectomías.^{178 179 180 181}

Posteriormente el concepto del ganglio centinela se aplicó en otras neoplasias, incluido el cáncer colorrectal. Varios estudios, como el de Wood o el de Saha publicados en el año 2000,^{182 183} el de Wong en 2001¹⁸⁴ y el de Bilchik en el año 2003,¹⁸⁵ demostraron obtener una supraestadificación estadísticamente significativa en el cáncer de colon al detectar micrometástasis en los GC que no eran detectadas en el estudio anatomopatológico convencional.^{186 187 188} Estudios posteriores confirman el beneficio de la técnica del GC al lograr supraestadificaciones por encima del 15%.^{189 190}

¹⁷⁶ D. N. Krag et al., "Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe," *Surgical Oncology* 2, no. 6 (December 1993): 335–39; discussion 340, [https://doi.org/10.1016/0960-7404\(93\)90064-6](https://doi.org/10.1016/0960-7404(93)90064-6).

¹⁷⁷ A. E. Giuliano et al., "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer," *Annals of Surgery* 220, no. 3 (September 1994): 391–98; discussion 398–401, <https://doi.org/10.1097/00000658-199409000-00015>.

¹⁷⁸ Morton et al., "Technical Details of Intraoperative Lymphatic Mapping for Early Stage Melanoma."

¹⁷⁹ Morton et al., "Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma."

¹⁸⁰ Krag et al., "Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe."

¹⁸¹ Giuliano et al., "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer."

¹⁸² S. Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging," *Annals of Surgical Oncology* 7, no. 2 (March 2000): 120–24, <https://doi.org/10.1007/s10434-000-0120-z>.

¹⁸³ T. F. Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma," *The American Surgeon* 66, no. 11 (November 2000): 998–1003.

¹⁸⁴ Jan H. Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum," *Annals of Surgery* 233, no. 4 (April 2001): 515–21.

¹⁸⁵ Anton J. Bilchik et al., "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 21, no. 4 (February 15, 2003): 668–72, <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.037>.

¹⁸⁶ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

¹⁸⁷ Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma."

¹⁸⁸ Thomas F. Wood et al., "One Hundred Consecutive Cases of Sentinel Lymph Node Mapping in Early Colorectal Carcinoma: Detection of Missed Micrometastases," *Journal of Gastrointestinal Surgery: Official Journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 6, no. 3 (June 2002): 322–29; discussion 229–230, [https://doi.org/10.1016/s1091-255x\(02\)00013-6](https://doi.org/10.1016/s1091-255x(02)00013-6).

¹⁸⁹ Carsten T. Viehl et al., "Sentinel Lymph Node Procedure Leads to Upstaging of Patients with Resectable Colon Cancer: Results of the Swiss Prospective, Multicenter Study Sentinel Lymph Node Procedure in Colon Cancer," *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 6 (June 2012): 1959–65, <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2233-6>.

Siguiendo con esta estrategia, en junio de 2013 la revista de cirugía española publicó un artículo basado en la experiencia con 125 pacientes del hospital de Txagorritxu, en los que se realizó la técnica del GC en el cáncer de colon y se estudiaron los GC mediante técnicas intensivas con múltiples secciones, H-E e inmunohistoquímica.¹⁹¹ Este estudio reafirmó la supraestadificación alcanzada mediante técnicas intensivas al comparar los datos con los obtenidos mediante técnicas convencionales.

¹⁹⁰ Wendy Kelder et al., "The Sentinel Node Procedure in Colon Carcinoma: A Multi-Centre Study in The Netherlands," *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 12 (December 2007): 1509, <https://doi.org/10.1007/s00384-007-0351-6>.

¹⁹¹ José Domingo Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos," *Cirugía Española* 91, no. 6 (June 1, 2013): 366–71, <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2012.11.006>.

1.C.2. GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER DE COLON.

CARACTERÍSTICAS DEL DRENAJE LINFÁTICO DEL COLON

El drenaje linfático del colon es estacional. Se dirige desde los ganglios más proximales de una estructura o lesión hasta los más distales, siguiendo un orden.

El estudio del ganglio centinela se inspira en el conocimiento del drenaje linfático, basándose en el hecho de que las primeras estaciones ganglionares del drenaje linfático son las que con más facilidad estarán infiltradas. Así, localizando los ganglios con mayor riesgo de infiltración (ganglios centinela) y realizando en estos ganglios estudios más intensivos, se pretende mejorar la estadificación de los pacientes.

Cabe destacar, que los ganglios físicamente más cercanos al tumor, no tienen por qué ser los primeros en recibir el drenaje linfático y por ello no siempre resultan infiltrados.

Por otro lado, existen situaciones poco habituales (4-20%)^{192 193 194 195} en las que el GC se encuentra muy alejado del tumor (incluso fuera del alcance de la resección quirúrgica oncológica). En este último caso se habla de drenaje aberrante. La identificación de estos ganglios en ocasiones solo es factible cuando se realiza el mapeado linfático del GC in vivo.¹⁹⁶ Sin embargo, la escasa incidencia del drenaje aberrante e infiltración del mismo, no justifica la necesidad de mapeados in vivo.¹⁹⁷

¹⁹² S. Saha et al., "Biological Impact of Skip Metastasis in Patients with Gastrointestinal Cancers Undergoing Sentinel Lymph Node Mapping.," *Journal of Clinical Oncology* 29, no. 4_suppl (February 1, 2011): 499–499, https://doi.org/10.1200/jco.2011.29.4_suppl.499.

¹⁹³ Edwin S. van der Zaag et al., "Systematic Review of Sentinel Lymph Node Mapping Procedure in Colorectal Cancer," *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 11 (October 1, 2012): 3449–59, <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2417-0>.

¹⁹⁴ Sukamal Saha et al., "Aberrant Drainage of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer and Its Impact on Staging and Extent of Operation," *American Journal of Surgery* 205, no. 3 (March 2013): 302–5; discussion 305–306, <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2012.10.029>.

¹⁹⁵ J. Duben et al., "[Lymphatic mapping and biopsy of sentinel lymph nodes using combined methodology of in vivo application of Patentblue and radionuclide and ex vivo detection of metastatic affection of lymph nodes in colorectal carcinoma],," *Rozhledy V Chirurgii: Mesicnik Ceskoslovenske Chirurgicke Spolecnosti* 89, no. 11 (November 2010): 695–701.

¹⁹⁶ Claus A. Bertelsen et al., "Pattern of Colon Cancer Lymph Node Metastases in Patients Undergoing Central Mesocolic Lymph Node Excision: A Systematic Review," *Diseases of the Colon and Rectum* 59, no. 12 (December 2016): 1209–21, <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000658>.

¹⁹⁷ Wendy Kelder, *Lymph Node Staging in Colon Cancer* (s.n., 2008), [https://www.rug.nl/research/portal/publications/lymph-node-staging-in-colon-cancer\(09b2fe13-a3da-4f92-8d71-7387f17ceb83\)/export.html](https://www.rug.nl/research/portal/publications/lymph-node-staging-in-colon-cancer(09b2fe13-a3da-4f92-8d71-7387f17ceb83)/export.html).

1.C.3. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER DE COLON

Para la búsqueda de los ganglios centinela es necesario un marcador (colorante, fluorescente o radiotrazador) que difunda correctamente por el sistema linfático y que permita identificar los primeros ganglios en recibir el aporte linfático del tejido tumoral. Además, será necesario que dicho marcador sea localizable (ya sea por identificación visual, sonda, fluorescencia infrarroja, etc.). El marcador deberá inocularse en el tejido tumoral (subserosa o submucosa) y a partir de ahí difundirá por el sistema linfático hacia los GC. Aquellos ganglios en los que se observe la presencia de marcador, tras los primeros minutos de su aplicación, serán considerados GC. Los ganglios centinela serán estudiados de forma diferente al estudio histológico convencional con técnicas más precisas (múltiples secciones, IHQ, técnicas moleculares).

1.C.3.a. MARCADORES EMPLEADOS EN LA BÚSQUEDA DEL GANGLIO CENTINELA:

Tabla 10. Tipo de marcadores disponibles para la búsqueda de los ganglios centinela.

Colorantes vitales	Azul de metileno Azul patente V Azul de isosulfan
Radiotrazadores	TC-sulfuro Coloidal Nanocoloide de albúmina humana Fluoruro de estaño coloidal
Infrarrojos	Verde de indocianina Complejo IRDdye 800CW-albúmina (HSA800)
Técnicas mixtas	La unión de las anteriores

Existe una amplia variedad de marcadores que pueden ser utilizados para la búsqueda de los GC. Se han publicado estudios con colorantes vitales, radiotrazadores, infrarrojos o con técnicas mixtas. Los resultados obtenidos en cualquiera de los casos son equiparables, aunque históricamente algunos autores se han decantado por uno u otro marcador.^{198 199 200 201}

Colorantes vitales:

Los colorantes vitales se caracterizan por un elevado peso molecular que dificulta su extravasación de los vasos linfáticos y permite su difusión por los mismos, facilitando la búsqueda de los ganglios centinela:

- **Azul de Metileno (cloruro de metiltioninio):**

Fórmula Química: $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Masa molecular: 319,85 g/mol.

Es una tiazina coloreada. Además de su utilidad para la técnica del ganglio centinela, se utiliza principalmente en el tratamiento de la metahemoglobinemia cuando se presentan niveles de metahemoglobina superior al 20%, en procedimientos diagnósticos simples para la detección de fístulas del aparato digestivo y en el manejo del choque séptico refractario debido a una excesiva producción de óxido nítrico.^{202 203 204}

¹⁹⁸ Walter D. Blessing et al., "A Comparison of Methylene Blue and Lymphazurin in Breast Cancer Sentinel Node Mapping," *American Journal of Surgery* 184, no. 4 (October 2002): 341–45, [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(02\)00948-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(02)00948-0).

¹⁹⁹ Antonio Piñero et al., "Estudio comparativo entre el azul de isosulfán y el azul de metileno para la identificación del ganglio centinela en el cáncer de mama," *Cirugía Española* 75, no. 2 (February 1, 2004): 81–84, [https://doi.org/10.1016/S0009-739X\(04\)72282-4](https://doi.org/10.1016/S0009-739X(04)72282-4).

²⁰⁰ Christoph Hirche et al., "Ultrastaging of Colon Cancer by Sentinel Node Biopsy Using Fluorescence Navigation with Indocyanine Green," *International Journal of Colorectal Disease* 27, no. 3 (March 2012): 319–24, <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1306-5>.

²⁰¹ L. Bernet et al., "Actualización sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Rev senología y Patol Mam." 23, no. 5 (2010): 201–8.

²⁰² Marielsa Gil, "Azul de metileno: características, preparación, usos," *Lifeder* (blog), August 27, 2019, <https://www.lifeder.com/azul-de-metileno/>.

²⁰³ PubChem, "Methylene Blue," accessed March 31, 2020, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6099>.

²⁰⁴ Carolina Bustos-Fierro et al., "Azul de Metileno y Azul Patente V: consideraciones de seguridad relacionadas a sus aplicaciones y vías de administración - Methylene Blue and Patent Blue V: safety considerations related to their applications and routes of administration," *Bitácora Digital* 1, no. 3 (1), <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/6320>.

- Azul Patente V :

Fórmula química: $C_{54}H_{62}N_4O_{14}S_4Ca$. Masa molecular: 1.159,4 g/mol.

Es un colorante habitualmente administrado por vía subcutánea o intradérmica para identificar el ganglio centinela en el carcinoma invasivo de mama. Actualmente también se utiliza en la localización ganglionar de otros tumores.²⁰⁵

Según algunos autores, es el medio de contraste preferente para la técnica de detección del GC debido a su elevado peso molecular que le permite una mínima difusión por los tejidos circundantes y un rápido acceso por los tejidos linfáticos.²⁰⁶

- Azul de isosulfan (lymphazurin)

Fórmula química: $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ Peso Molecular 566.664609 g/mol.

Es una solución acuosa estéril. Se une a la albúmina del suero intersticial que se desplaza predominantemente por vasos linfáticos por lo que el colorante se concentra dentro de la linfa. Es un complemento de la linfografía para la visualización del sistema de drenaje linfático.²⁰⁷

En 2002 un estudio llevado a cabo por Blessing WA. et al, comparó los colorantes azul de metileno e isosulfan para la localización del ganglio centinela, observando resultados muy similares.²⁰⁸ Estudios posteriores han confirmado los hallazgos.²⁰⁹ En Europa tradicionalmente se ha utilizado más el azul de metileno por su mayor disponibilidad y menor coste.

²⁰⁵ A. E. Braat et al., "Successful Sentinel Node Identification in Colon Carcinoma Using Patent Blue V," *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 30, no. 6 (August 2004): 633–37, <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2004.03.017>.

²⁰⁶ Bustos-Fierro et al., "Azul de Metileno y Azul Patente V."

²⁰⁷ PubChem, "Isosulfan Blue," accessed March 31, 2020, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/50108>.

²⁰⁸ Blessing et al., "A Comparison of Methylene Blue and Lymphazurin in Breast Cancer Sentinel Node Mapping."

²⁰⁹ Piñero et al., "Estudio comparativo entre el azul de isosulfán y el azul de metileno para la identificación del ganglio centinela en el cáncer de mama."

Radiotrazadores

Los radiotrazadores son los marcadores más utilizados en la búsqueda de ganglios centinela tanto en la mama como en el melanoma.

Aunque existen múltiples radiotrazadores, los únicos aceptados para la búsqueda del GC son el Nanocoloide de albúmina humana (5-80nm),²¹⁰ el Sulfuro de renio coloidal (100nm) y el Fluoruro de estaño coloidal (50-600nm). Los dos primeros son los que se comercializan en España y el Sulfuro de renio coloidal el más empleado.²¹¹

El coloide se marca con 99mTc; así, el radiotrazador mas empleado es el "sulfuro de renio coloidal-99mTc".

Tras la inoculación del radiotrazador se precisa de una sonda de captación para identificar los GC.

El uso de radiotrazadores requiere la participación de medicina nuclear.

Trazadores fluorescentes:

En los últimos años se ha investigado el uso de fluorescencia infrarroja para mejorar la búsqueda del GC. Entre los trazadores se dispone de verde de indocianina^{212 213}(se retiene pobremente en los ganglios centinela) o el complejo IRDye 800CW-albúmina (HSA800) que se ha estudiado *ex vivo* por no estar aun clínicamente aprobado.

Los estudios realizados concluyen que los trazadores fluorescentes permiten localizar ganglios centinela adicionales, facilitan la búsqueda en pacientes con mamas muy grasas o ganglios profundos y no existe posibilidad de confusión con el tatuaje previo a la cirugía con tinta china.^{214 215}

²¹⁰ Sinisa Stojanoski et al., "Sentinel Lymph Node Detection in Colorectal Cancer – First Experience," *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 5, no. 6 (September 15, 2017): 744–50, <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.166>.

²¹¹ L. Bernet et al., "Actualización sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. *Rev senología y Patol Mam.*"

²¹² Hirche et al., "Ultrastaging of Colon Cancer by Sentinel Node Biopsy Using Fluorescence Navigation with Indocyanine Green."

²¹³ Francesco Esposito et al., "Sentinel Lymph Node Analysis in Colorectal Cancer Patients Using One-Step Nucleic Acid Amplification in Combination With Fluorescence and Indocyanine Green," *Annals of Coloproctology* 35, no. 4 (August 2019): 174–80, <https://doi.org/10.3393/ac.2018.07.21.1>.

²¹⁴ Boudewijn E. Schaafsma et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Colon Cancer Combining Blue Dye Staining and Fluorescence Imaging," *The Journal of Surgical Research* 183, no. 1 (July 2013), <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.01.003>.

²¹⁵ Adrian G. Dan et al., "1% Lymphazurin vs 10% Fluorescein for Sentinel Node Mapping in Colorectal Tumors," *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 139, no. 11 (November 2004): 1180–84, <https://doi.org/10.1001/archsurg.139.11.1180>.

Técnicas mixtas:

Consiste en utilizar conjuntamente dos marcadores de diferentes características con el fin de potenciar los beneficios de cada uno.

Se han realizado estudios con colorantes y radiotrazadores^{216 217} o colorantes y técnicas de fluorescencia.²¹⁸

Aunque la utilización de más de un marcador puede aumentar el número de GC hallados, no se han obtenido valores estadísticamente significativos que justifiquen la necesidad de usos combinados.

²¹⁶ S. E. J. Terwisscha Van Scheltinga et al., "Sentinel Node Staging in Colon Carcinoma: Value of Sentinel Lymph Node Biopsy with Radiocolloid and Blue Staining," *Scandinavian Journal of Gastroenterology. Supplement*, no. 243 (2006): 153–57, <https://doi.org/10.1080/00365520600664524>.

²¹⁷ Duben et al., "[Lymphatic mapping and biopsy of sentinel lymph nodes using combined methodology of in vivo application of Patentblue and radionuclide and ex vivo detection of metastatic affection of lymph nodes in colorectal carcinoma]."

²¹⁸ Schaafsma et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Colon Cancer Combining Blue Dye Staining and Fluorescence Imaging."

1.C.3.b. TÉCNICA DE IDENTIFICACIÓN DEL GANGLIO CENTINELA SEGÚN EL MOMENTO DE SU REALIZACIÓN:

Según el momento de la intervención quirúrgica en que se realice la detección de los ganglios centinela se diferencian dos técnicas; técnica *in vivo* y *técnica ex vivo*.

Se denomina técnica *in vivo* cuando el mapeado ganglionar se realiza antes de la manipulación y extirpación quirúrgica. Por el contrario, el mapeado *ex vivo* se realiza tras la cirugía cuando ya se ha extraído la pieza quirúrgica del paciente. Diferentes estudios concluyen que ambas técnicas presentan resultados equiparables.^{219 220}

1.C.3.b.1. Técnica in vivo:

El marcaje y la búsqueda de los ganglios centinela se realiza en el propio acto quirúrgico, cuando el tumor aun no ha sido resecado.

El marcador se puede aplicar en la subserosa (por vía laparoscópica o abierta) inoculándolo con una aguja subcutánea; o en la submucosa para lo cual hay que realizar una colonoscopia en el mismo acto quirúrgico o poco antes del mismo.

La búsqueda de los GC se realiza en los minutos siguientes a la aplicación del marcador, siempre antes de la extracción de la pieza.

Los GC identificados se marcan con sutura durante la intervención para que los patólogos puedan identificarlos tras la extracción de la pieza quirúrgica.

La ventaja principal que ofrece esta técnica frente a la *ex vivo* es que permite la localización del drenaje aberrante y cambios en la resección quirúrgica.^{221 222}

Sin embargo, esta vía de identificación de GC tiene algunas desventajas; se trata de una técnica más compleja y que prolonga el tiempo quirúrgico.²²³ Además implica

²¹⁹ J. J. Tuech et al., "Sentinel Node Mapping in Colon Carcinoma: In-Vivo versus Ex-Vivo Approach," *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 32, no. 2 (March 2006): 158–61, <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2005.11.004>.

²²⁰ Jun Seok Park et al., "Comparison of Ex Vivo and in Vivo Injection of Blue Dye in Sentinel Lymph Node Mapping for Colorectal Cancer," *World Journal of Surgery* 33, no. 3 (March 2009): 539–46, <https://doi.org/10.1007/s00268-008-9872-6>.

²²¹ Saha et al., "Aberrant Drainage of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer and Its Impact on Staging and Extent of Operation."

²²² T. F. Wood et al., "Lymphatic Mapping Improves Staging during Laparoscopic Colectomy for Cancer," *Surgical Endoscopy* 15, no. 7 (July 2001): 715–19, <https://doi.org/10.1007/s004640080026>.

mayor manipulación tumoral (riesgo de diseminación tumoral). Cuando se inocula el marcador por vía endoscópica, precisa de preparación colónica previa a la misma y de colaboración del servicio de endoscopias. Como los marcadores se aplican en el paciente existe riesgo de reacciones adversas.^{224 225 226 227 228}

1.C.3.b.2. Técnica ex vivo:

En la técnica ex vivo, el marcaje y la búsqueda ganglionar se realizan una vez resecada la pieza quirúrgica, en los minutos siguientes a la extracción.

Los marcadores se inyectan en la subserosa o submucosa de la zona tumoral y posteriormente se procede a masajear dicha zona durante 5-10 minutos para facilitar la expansión del marcador por el sistema linfático. Posteriormente se realiza la búsqueda de los ganglios centinela.²²⁹

Las ventajas que ofrece esta técnica frente a la técnica in vivo son que se trata de una técnica simple y fácilmente reproducible, que no modifica la técnica quirúrgica ni sus tiempos y que se evita la manipulación tumoral durante el acto quirúrgico.^{230 231 232}

Como desventaja, con esta técnica no se identifican las vías de diseminación aberrantes.

²²³ Wood et al.

²²⁴ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

²²⁵ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

²²⁶ H. M. Kuerer, J. D. Wayne, and M. I. Ross, "Anaphylaxis during Breast Cancer Lymphatic Mapping," *Surgery* 129, no. 1 (January 2001): 119–20, <https://doi.org/10.1067/msy.2001.111212>.

²²⁷ Juraj Sprung, Michael J. Tully, and Avishai Ziser, "Anaphylactic Reactions to Isosulfan Blue Dye during Sentinel Node Lymphadenectomy for Breast Cancer," *Anesthesia and Analgesia* 96, no. 4 (April 2003): 1051–53, table of contents, <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000048709.61118.52>.

²²⁸ S. P. Leong et al., "Adverse Reactions to Isosulfan Blue during Selective Sentinel Lymph Node Dissection in Melanoma," *Annals of Surgical Oncology* 7, no. 5 (June 2000): 361–66, <https://doi.org/10.1007/s10434-000-0361-x>.

²²⁹ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

²³⁰ Stephen W. Bell et al., "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer," *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 1 (January 2005): 74–79, <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0782-x>.

²³¹ Sezai Demirbaş et al., "Should Sentinel Lymph Node Mapping Be Performed for Colorectal Cancer?," *The Turkish Journal of Gastroenterology: The Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology* 15, no. 1 (March 2004): 39–44.

²³² Jenni Smith et al., "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer: Improving the Accuracy of Pathologic Staging?," *American Journal of Surgery* 191, no. 5 (May 2006): 665–68, <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2006.01.045>.

1.C.3.c. ESTUDIO DE LOS GANGLIOS CENTINELA:

1.C.3.c.1. Estudio histológico convencional:

En el estudio histológico convencional el patólogo recibe la pieza quirúrgica en su totalidad y él mismo se responsabiliza de la búsqueda y el estudio de todos aquellos ganglios linfáticos que sea capaz de identificar.

En el estudio convencional se realiza una única sección de los ganglios identificados y esta sección se analiza con tinción con H-E.²³³

1.C.3.c.2. Estudio intensivo del ganglio centinela:

Cuando se lleva a cabo la técnica del ganglio centinela; el cirujano realiza la búsqueda de los GC en el quirófano y una vez identificados, estos pueden ser enviados al servicio de anatomía patológica de forma individualizada y separados del resto de la pieza quirúrgica o se marcan con un punto para que el patólogo complete la disección.

Las técnicas de estudio intensivo que pueden utilizarse varían desde múltiples secciones con tinción con H-E o técnicas de inmunohistoquímica (IHQ), hasta técnicas moleculares:

- **Múltiples secciones:**

Difiere del estudio convencional en que en vez de realizar una única sección a cada ganglio y estudiar esa sección, se realizan múltiples cortes. Para ello inicialmente el patólogo realiza cortes macroscópicos seriados de aproximadamente 2mm de grosor con cada ganglio y tras la fijación en formol tamponado al 4% durante 24 horas, se realizan nuevamente secciones de 4µm de grosor seriadas. Estas secciones se pueden analizar con tinción de H-E o con técnicas de inmunohistoquímica. De esta manera se amplifica el porcentaje de tejido ganglionar analizado.

²³³ Mary Kay Washington et al., "Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum," *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 133, no. 10 (October 2009): 1539–51.

- **Técnica de inmunohistoquímica:**

Esta técnica tiene como objetivo detectar un antígeno específico que generalmente es una proteína presente en las células tumorales. Para ello, se basa en la utilización de anticuerpos que se unen específicamente a la sustancia que se quiere identificar (antígeno primario).²³⁴ En el estudio de los ganglios centinela del CCR se emplea el anticuerpo primario monoclonal anti-citoqueratina (CAM 5.2) dirigido frente a la citoqueratina 7 y la citoqueratina 8, presentes en los epitelios secretores, pero no en los epitelios escamosos estratificados. Este anticuerpo se puede utilizar también en la identificación de otros tumores de origen epitelial (páncreas, hígado, pulmón...) y para distinguir carcinomas de otros tumores malignos de origen no epitelial.^{235 236}

- **Técnicas moleculares:**

Las técnicas moleculares detectan ADN/ARN que codifican determinadas proteínas que se expresan en las células tumorales y mediante la amplificación de estos ácidos nucleicos permiten cuantificar la carga tumoral de los ganglios analizados. Las técnicas moleculares permiten analizar en 100% del tejido ganglionar.

²³⁴ Segovia SM et al., "Uso y Aplicaciones de La Inmunohistoquímica Con El Anticuerpo Anti-Ghrelinina Para El Estudio de La Pulpa Dentaria.," 36 3 (2016): 81–86.

²³⁵ "Anti-Cytokeratin (CAM 5.2) Mouse Monoclonal Primary Antibody," accessed March 31, 2020, <http://reagent-catalog.roche.com/product/1543?type=2003>.

²³⁶ Ordóñez Ng, "Broad-Spectrum Immunohistochemical Epithelial Markers: A Review.," *Human Pathology* 44, no. 7 (February 18, 2013): 1195–1215, <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.11.016>.

1.D. MÉTODO OSNA

One Step Nucleic-Acid Amplification o Amplificación de ácidos nucleicos en un solo paso.

El método OSNA es una técnica molecular que se basa en la amplificación de ácidos nucleicos. Esta amplificación tiene como objetivo obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN/ARN particular, partiendo de un mínimo. Se trata de una herramienta muy útil en el estudio del diagnóstico de las enfermedades infecciosas y trastornos o rasgos genéticos. En la actualidad también se está empleando para valorar la infiltración ganglionar por células malignas en diferentes tumores.²³⁷

1.D.1. RESEÑA HISTÓRICA

Tras el desarrollo de la técnica PCR (polymerase chain reaction) en 1986 por Kary Mullis²³⁸ se han diseñado nuevas técnicas moleculares de amplificación, tales como NASBA, 3SR y SDA.^{239 240 241 242} Cada uno de estos métodos tiene su propia innovación y difieren principalmente en el método de iniciar la síntesis de copias de ADN.

²³⁷ T. Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA," *Nucleic Acids Research* 28, no. 12 (June 15, 2000): E63, <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>.

²³⁸ K. Mullis et al., "Specific Enzymatic Amplification of DNA in Vitro: The Polymerase Chain Reaction," *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51 Pt 1 (1986): 263–73, <https://doi.org/10.1101/sqb.1986.051.01.032>.

²³⁹ J. Compton, "Nucleic Acid Sequence-Based Amplification," *Nature* 350, no. 6313 (March 7, 1991): 91–92, <https://doi.org/10.1038/350091a0>.

²⁴⁰ J. C. Guatelli et al., "Isothermal, in Vitro Amplification of Nucleic Acids by a Multienzyme Reaction Modeled after Retroviral Replication," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, no. 5 (March 1990): 1874–78, <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1874>.

²⁴¹ G. T. Walker et al., "Strand Displacement Amplification—an Isothermal, in Vitro DNA Amplification Technique," *Nucleic Acids Research* 20, no. 7 (April 11, 1992): 1691–96, <https://doi.org/10.1093/nar/20.7.1691>.

²⁴² G T Walker et al., "Isothermal in Vitro Amplification of DNA by a Restriction Enzyme/DNA Polymerase System.," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89, no. 1 (January 1, 1992): 392–96.

El OSNA es una de las más novedosas técnicas moleculares y tiene su origen en el denominado método de amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP) en tiempo real, descrito en el año 2000 por Tsugunori Notomi.²⁴³

Ya en sus orígenes Tsugunori describió la posibilidad de emplear el LAMP para la detección, no solo de ADN sino también de ARN utilizando una transcriptasa inversa (RT-LAMP). En su estudio aplicó esta opción para la detección del ARNm del antígeno prostático específico (PSA) en una célula LNCaP (cáncer prostático).²⁴⁴

Tras su descubrimiento, el OSNA fue utilizado inicialmente para el estudio de diferentes virus. Posteriormente, en el año 2007 Masahiko Tsujimoto²⁴⁵ aplicó esta técnica por primera vez para la identificación de infiltración metastásica ganglionar en el cáncer de mama. Desde entonces el método OSNA se ha desarrollado hasta convertirse en la principal técnica de detección intraoperatoria de infiltración ganglionar en el cáncer de mama.^{246 247 248 249 250 251}

²⁴³ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

²⁴⁴ Notomi et al.

²⁴⁵ Masahiko Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients," *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 13, no. 16 (August 15, 2007): 4807–16, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2512>.

²⁴⁶ Tsujimoto et al.

²⁴⁷ Mike Visser et al., "Intra-Operative Rapid Diagnostic Method Based on CK19 mRNA Expression for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer," *International Journal of Cancer* 122, no. 11 (June 1, 2008): 2562–67, <https://doi.org/10.1002/ijc.23451>.

²⁴⁸ Christian Schem et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification-a Molecular Method for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients; Results of the German Study Group," *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 454, no. 2 (February 2009): 203–10, <https://doi.org/10.1007/s00428-008-0703-9>.

²⁴⁹ Yasuhiro Tamaki et al., "Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients: Results of a Multicenter Trial Using the One-Step Nucleic Acid Amplification Assay," *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 15, no. 8 (April 15, 2009): 2879–84, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1881>.

²⁵⁰ K. L. Snook et al., "Multicentre Evaluation of Intraoperative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Nodes in Breast Carcinoma," *The British Journal of Surgery* 98, no. 4 (April 2011): 527–35, <https://doi.org/10.1002/bjs.7347>.

²⁵¹ Miguel Alonso Ruano et al., "An Improved Axillary Staging System Using the OSNA Assay Does Not Modify the Therapeutic Management of Breast Cancer Patients," *Scientific Reports* 4 (July 18, 2014): 5743, <https://doi.org/10.1038/srep05743>.

El método OSNA, además de confirmar la presencia de metástasis ganglionar, permite diferenciar entre infiltración macroscópica y microscópica facilitando la toma de decisiones en el propio acto quirúrgico en el caso del cáncer de mama.^{252 253 254}

En el momento actual se investiga la posibilidad de aplicar esta técnica de amplificación a partir del ARN para el estudio ganglionar de otras neoplasias, como el cáncer gástrico, el pulmonar, el cáncer de endometrio o el cáncer de colon entre otros.^{255 256 257 258 259}

²⁵² Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients."

²⁵³ Marjut Hannele Kristiina Leidenius et al., "The Feasibility of Intraoperative Diagnosis of Sentinel Lymph Node Metastases in Breast Cancer," *Journal of Surgical Oncology* 84, no. 2 (October 2003): 68–73, <https://doi.org/10.1002/jso.10296>.

²⁵⁴ Lucio Fortunato et al., "Intraoperative Examination of Sentinel Nodes in Breast Cancer: Is the Glass Half Full or Half Empty?," *Annals of Surgical Oncology* 11, no. 11 (November 2004): 1005–10, <https://doi.org/10.1245/ASO.2004.12.005>.

²⁵⁵ Koshi Kumagai et al., "Multicenter Study Evaluating the Clinical Performance of the OSNA Assay for the Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Gastric Cancer Patients," *Gastric Cancer: Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association* 17, no. 2 (April 2014): 273–80, <https://doi.org/10.1007/s10120-013-0271-9>.

²⁵⁶ R. S. Croner 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," *British Journal of Cancer* 110, no. 10 (May 13, 2014): 2544–50, <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.170>.

²⁵⁷ F. J. Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients," *Annals of Surgical Oncology* 21, no. 12 (November 2014): 3924–30, <https://doi.org/10.1245/s10434-014-3820-5>.

²⁵⁸ Hirofumi Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients: Results from a Multicenter Clinical Performance Study in Japan," *Annals of Surgical Oncology* 18, no. 7 (July 2011): 1891–98, <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1539-5>.

²⁵⁹ Michio Itabashi et al., "Lymph Node Positivity in One-Step Nucleic Acid Amplification Is a Prognostic Factor for Postoperative Cancer Recurrence in Patients with Stage II Colorectal Cancer: A Prospective, Multicenter Study," *Annals of Surgical Oncology* 27, no. 4 (April 2020): 1077–83, <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07971-y>.

1.D.2. ESTUDIO MOLECULAR

1.D.2.a. BASES DEL ESTUDIO MOLECULAR:

OSNA es un ensayo de diagnóstico molecular automatizado que utiliza la tecnología RT-LAMP como método de amplificación de ácidos nucleicos.

La técnica RT-LAMP consiste en la amplificación de ADNc que se obtiene a partir del ARN. Al iniciarse el proceso a partir de ARN, a diferencia de otras técnicas de amplificación, requiere de una transcriptasa inversa para poderse realizar.

La RT-LAMP no precisa purificación del ARNm; no es necesario separar el ARNm que se va a estudiar del resto de ARNm ya que la propia técnica es capaz de diferenciar el seleccionado.

La amplificación es isotérmica y se realiza a 65°C. Esta característica se consigue mediante la utilización de 6 primers (4 de ellos para la elongación y 2 para aumentar la velocidad). Gracias a las condiciones isotérmicas el proceso puede realizarse en un tiempo más corto que con otras técnicas moleculares (16 minutos en comparación con los más de 60 minutos que requieren técnicas como la CPR).²⁶⁰

²⁶⁰ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

Tabla 11. Definición de conceptos básicos para la interpretación de las bases moleculares del método OSNA.

- ADN (Ácido Desoxirribonucleico): Estructura formada por la unión de muchos desoxirribonucleótidos. La mayoría de las moléculas de ADN poseen dos cadenas antiparalelas (5'-3' y 3'-5') unidas entre sí mediante las bases nitrogenadas, por medio de puentes de hidrógeno.^{261 262}
- ADNc (ADN complementario): es una molécula de ADN complementaria a una molécula de ARNm. Se genera por acción de la enzima transcriptasa inversa.²⁶³
- ARN (ácido ribonucleico): Ácido nucleico de cadena sencilla compuesto por los nucleótidos Adenina, Uracilo, Guanina y Citosina. Se diferencian tres tipos:
 - ARNm o mensajero es el ARN que transporta la información genética presente en los genes hasta los ribosomas, en el citoplasma, donde se realiza la traducción de esa información a proteína.
 - ARNt o de transferencia encargado de dirigir a cada aminoácido a su lugar cuando es requerido en la síntesis proteica.
 - ARNr o ribosómico, formando parte del ribosoma. Es esencial en la actividad enzimática de éste para generar enlaces peptídicos entre aminoácidos adyacentes en el proceso de síntesis de proteínas.²⁶⁴
- Transcriptasa inversa: Enzima procedente del retrovirus que usa como molde la cadena sencilla de ARN para dar lugar a una cadena sencilla de ADNc. La transcriptasa inversa emplea ARNm maduro como molde y por tanto el ADNc no contiene los intrones que poseen los genes eucariotas. Así las secuencias de ADNc corresponden únicamente a secuencias codificadoras de proteínas.
- Cebadores/primers: Pequeña cadena de nucleótidos a partir de la cual la ADN polimerasa inicia la síntesis de una molécula nueva de ADN.
- ADN polimerasa: enzima capaz de transcribir o replicar ácidos nucleicos.²⁶⁵

²⁶¹ J. D. Watson and F. H. C. Crick, "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid," *Nature* 171, no. 4356 (April 1953): 737–38, <https://doi.org/10.1038/171737a0>.

²⁶² Sergio Ferrer, "El Verdadero Sentido de La Vida," *The Journal of FeelSynapss. Issuu*, 2011.

²⁶³ MA Saez Garcia et al., "El genoma humano (Ethical eye: the human genome)," 2002, glosario p. 201, trad. Colección La Mirada de la Ciencia. Madrid: Council of Europe/Editorial Complutense.

²⁶⁴ "ARN: Concepto, Estructura, Funciones y Diferencia Con ADN," accessed March 31, 2020, <https://concepto.de/arn/>.

²⁶⁵ MA Saez Garcia et al., "El genoma humano (Ethical eye: the human genome.)"

1.D.2.b. SELECCIÓN DE MARCADORES TUMORALES:

El método OSNA es un procedimiento automático que se basa en una reacción de amplificación mediada por “bucles” (RT-LAMP) del ARNm en tiempo real.

Durante el desarrollo de los métodos de amplificación, inicialmente dirigido al estudio del cáncer de mama, hubo que realizar una exhaustiva selección de marcadores de ARNm candidatos (FOXA 1, SPDEF, CEA, MGB1, TA- QSTD2 ó MUC1 entre otros).^{266 267}

^{268 269} Los criterios fueron detectar una elevada expresión de dichos marcadores en tejidos de la glándula mamaria y conjuntamente presentar una expresión mínima o ausente en el tejido sano de los ganglios linfáticos. Para la evaluación se utilizaron ganglios linfáticos positivos y negativos desde el punto de vista histopatológico. Posteriormente se seleccionaron los marcadores con mayor expresión del ARNm en ganglios linfáticos positivos para metástasis y con una expresión mínima en ganglios negativos. El estudio demostró que la CK 19 era el marcador más adecuado.

La CK19 es una proteína que se expresa en las células epiteliales y por lo tanto un marcador de estas células.²⁷⁰ Esta citoqueratina en condiciones normales no se expresa en el tejido linfático; sin embargo se puede observar en el tejido linfático infiltrado de pacientes con diferentes tipos de cánceres de células epiteliales, como neoplasias de pulmón, mama, colon y recto, vejiga, cáncer gástrico etc.^{271 272}

²⁶⁶ Tsujimoto et al., “One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients.”

²⁶⁷ M. Mitas et al., “Quantitative Real-Time RT-PCR Detection of Breast Cancer Micrometastasis Using a Multigene Marker Panel,” *International Journal of Cancer* 93, no. 2 (July 15, 2001): 162–71, <https://doi.org/10.1002/ijc.1312>.

²⁶⁸ M. Inokuchi et al., “Quantitative Evaluation of Metastases in Axillary Lymph Nodes of Breast Cancer,” *British Journal of Cancer* 89, no. 9 (November 2003): 1750–56, <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601248>.

²⁶⁹ B. Weigelt et al., “Detection of Metastases in Sentinel Lymph Nodes of Breast Cancer Patients by Multiple MRNA Markers,” *British Journal of Cancer* 90, no. 8 (April 2004): 1531–37, <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601659>.

²⁷⁰ Jürgen Schweizer et al., “New Consensus Nomenclature for Mammalian Keratins,” *The Journal of Cell Biology* 174, no. 2 (July 17, 2006): 169–74, <https://doi.org/10.1083/jcb.200603161>.

²⁷¹ Yoshihisa Yaguchi et al., “One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for the Application of Sentinel Node Concept in Gastric Cancer,” *Annals of Surgical Oncology* 18, no. 8 (August 1, 2011): 2289–96, <https://doi.org/10.1245/s10434-011-1591-9>.

²⁷² Croner 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.”

En el caso del cáncer de colon, se han realizado estudios específicos, comparativos entre la CK19 y otros marcadores tumorales (CEA, FXD3, CK20 and MUC13 mRNAs) demostrándose una sensibilidad del 94,9–95,2% y especificidad del 97,7-97,9% frente a otros marcadores con peores resultados cuando se utilizaba el método OSNA con la RNAm de la CK19.²⁷³

Además, la cantidad de ARNm de CK19 hallada en los ganglios infiltrados se corresponde con el tamaño de los focos metastásicos presentes (macroscópicos, microscópicos o células tumorales aisladas).^{274 275 276}

1.D.2.c. LECTURA DE LOS RESULTADOS:

La RT-LAMP, permite la detección indirecta a tiempo real de la amplificación mediante la turbidimetría.

La turbidimetría es la medición de la luz transmitida a través de una suspensión y posee la ventaja de permitir la valorización cuantitativa, sin separar el producto de la solución. Así, la monitorización se basa en la turbidez producida por la propia reacción.

Durante el proceso de amplificación se produce pirofosfato de magnesio que precipita cuando su concentración alcanza la saturación. La reacción de amplificación tiene lugar en un detector de amplificación génica RD-100i (Sysmex™) o RD-210, su sucesor, que permiten monitorizar la turbidez alcanzada por la concentración de pirofosfato de magnesio producido en la reacción y así monitorizar la amplificación de ARNm-CK19.²⁷⁷

²⁷³ Noriko Yamamoto et al., "An Optimal mRNA Marker for OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification) Based Lymph Node Metastasis Detection in Colorectal Cancer Patients," *Japanese Journal of Clinical Oncology* 43, no. 3 (March 2013): 264–70, <https://doi.org/10.1093/jjco/hys227>.

²⁷⁴ Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients."

²⁷⁵ Inokuchi et al., "Quantitative Evaluation of Metastases in Axillary Lymph Nodes of Breast Cancer."

²⁷⁶ Weigelt et al., "Detection of Metastases in Sentinel Lymph Nodes of Breast Cancer Patients by Multiple mRNA Markers."

²⁷⁷ Y. Mori et al., "Detection of Loop-Mediated Isothermal Amplification Reaction by Turbidity Derived from Magnesium Pyrophosphate Formation," *Biochemical and Biophysical Research Communications* 289, no. 1 (November 23, 2001): 150–54, <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5921>.

El método OSNA discrimina los casos de infiltración positivos de los negativos y es capaz de cuantificar la carga tumoral. Esto ocurre, ya que existe una clara relación entre el número de células tumorales presentes en los ganglios infiltrados, con el número de copias de ARNm-CK19 que se produce. Por lo tanto, permite diferenciar, metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas en los ganglios linfáticos. De esta manera un número de copias de ARNm-CK19 inferior a 250 se considera negativo (pN0); valores comprendidos entre 250 y 5.000 copias corresponden a micrometástasis y valores superiores a las 5.000 copias a macrometástasis.²⁷⁸

<250 copias	→	pN0
250-5.000 copias	→	Micrometastasis pN1(mi)
>5.000copias	→	Metástasis pN1

²⁷⁸ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

1.D.3. APLICACIÓN DEL MÉTODO OSNA EN EL CÁNCER DE COLON.

POTENCIACIÓN DEL MÉTODO OSNA CON LA TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA

Para el carcinoma colorrectal sin metástasis a distancia, el factor pronóstico más importante es la infiltración ganglionar. La existencia de infiltración ganglionar (estadio III de la enfermedad) implica una marcada disminución de la supervivencia; sin embargo, el tratamiento adyuvante en estos pacientes supone una importante mejora en su pronóstico^{279 280}.

El uso del método OSNA en el CCR no tiene como finalidad modificar el tratamiento quirúrgico. Con el estudio de los ganglios mediante el método OSNA se pretende mejorar la estadificación de los pacientes y en consecuencia modificar la actitud a la hora de decidir si el paciente será o no sometido a tratamiento adyuvante.

El método OSNA permite el análisis del tejido ganglionar de cada uno de los ganglios identificados; no obstante, el análisis de muchos ganglios mediante esta técnica molecular supone un coste elevado²⁸¹, aunque algunos estudios ya están demostrando la rentabilidad a largo plazo.²⁸²

En este estudio de investigación se ha pretendido valorar en conjunto el método OSNA aplicado a los ganglios centinela. La técnica del ganglio centinela identifica un número asequible de ganglios (entre 1 y 4) que además, por definición, son los que mayor probabilidad tienen de estar afectados en el caso de existir infiltración ganglionar. Por lo tanto, la utilización del método OSNA junto con la técnica del ganglio centinela pretende mejorar el estudio ganglionar y con ello la estadificación de los pacientes con

²⁷⁹ Shah et al., "Impact of Patient Factors on Recurrence Risk and Time Dependency of Oxaliplatin Benefit in Patients With Colon Cancer."

²⁸⁰ André et al., "Improved Overall Survival with Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial"; André et al., "Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer."

²⁸¹ "Sysmex Spain,," Sysmex, n.d., <https://www.sysmex.es/>. Accessed 3.

²⁸² Sherley Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma," *Applied Health Economics and Health Policy* 17, no. 5 (2019): 655–67, <https://doi.org/10.1007/s40258-019-00482-7>.

carcinoma colorrectal, sin que ello suponga una gran elevación de los costes, como se ha observa en el cáncer de mama^{283 284 285}.

²⁸³ Yuko Saruta and Jaume Puig-Junoy, "Cost and Budget Impact Analysis of an Accurate Intraoperative Sentinel Lymph Node Diagnosis for Breast Cancer Metastasis," *Applied Health Economics and Health Policy* 14, no. 3 (June 2016): 323–35, <https://doi.org/10.1007/s40258-016-0235-4>.

²⁸⁴ María Pilar Guillén-Paredes et al., "El análisis molecular intraoperatorio (one-step nucleic acid amplification) del ganglio centinela como alternativa al estudio histopatológico diferido en el cáncer de mama: análisis coste-beneficio," *Cirugía Española* 89, no. 7 (August 1, 2011): 456–62, <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2011.04.013>.

²⁸⁵ "Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela.," *Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA)* (blog), accessed April 1, 2020, <https://www.aetsa.org/publicacion/eficacia-y-coste-efectividad-de-las-tecnicas-moleculares-en-la-valoracion-intra-operatoria-del-ganglio-centinela/>.

2. HIPÓTESIS

La técnica de identificación de los ganglios centinela y el estudio de los mismos mediante el método molecular OSNA para los pacientes con estadios clínicos precoces de carcinoma colorrectal, mejora la estadificación postoperatoria en comparación con las técnicas de estudio ganglionar convencional y técnicas con múltiples secciones de los ganglios centinela y análisis de los mismos con H-E e IHQ. Esta mejora en la estadificación se debe a que al analizar el cien por cien del tejido ganglionar mediante técnicas moleculares, se aumenta el número de individuos que presentan infiltración ganglionar (estadio III postoperatorio) y por lo tanto, un mayor número de pacientes se podrá beneficiar de tratamiento adyuvante.

3. OBJETIVOS

3.A. OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar la eficacia del método OSNA en la detección de infiltración tumoral de los ganglios centinela en el cáncer de colon.

3.B. OBJETIVO ESPECÍFICO

Comparar la supraestadificación obtenida mediante el método OSNA en el estudio del ganglio centinela con los resultados del estudio anatomopatológico convencional con sección única y tinción con hematoxilina-eosina.

Comparar la supraestadificación obtenida mediante el método OSNA en el estudio del ganglio centinela con la obtenida con el estudio intensivo del ganglio centinela con secciones múltiples y tinción con H-E e inmunohistoquímica.

3.C. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Determinar el porcentaje de pacientes con ganglio centinela como único ganglio afectado (supraestadificación) y tipo de infiltración (metastásica, micrometastásica o células tumorales aisladas).

Determinar si las técnicas moleculares diagnostican mayor número de afectación ganglionar microscópica y células tumorales aisladas que el estudio anatomopatológico convencional.

Determinar si las técnicas moleculares diagnostican mayor número de afectación ganglionar microscópica y células tumorales aisladas que el estudio intensivo del GC con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ.

Determinar la suprestadificación obtenida mediante el estudio molecular de los GC en pacientes con menos de 12 ganglios totales aislados, en comparación con los mismos pacientes (menos de 12 ganglios aislados) pero estudiados mediante técnica convencional.

Determinar la suprestadificación obtenida mediante el estudio molecular de los GC en pacientes con menos de 12 ganglios totales aislados, en comparación con los mismos pacientes (menos de 12 ganglios aislados) pero estudiados mediante técnica intensiva de los GC con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ.

Determinar los falsos negativos, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de la técnica.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.A. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo transversal cruzado unicéntrico, con pacientes diagnosticados de cáncer de colon sin enfermedad a distancia (Estadios clínicos 0, I y II) en los que se valoró la eficacia del estudio ganglionar mediante la técnica molecular OSNA aplicada en los ganglios centinela.

El diagnóstico preoperatorio se realizó en base a la anamnesis, laboratorio (fundamentalmente CEA), colonoscopia con biopsia y tomografía computarizada.

Los pacientes de la muestra fueron sometidos a una intervención quirúrgica con resección oncológica del tumor primario y su aporte linfático y vascular, ya fuera por vía abierta o vía laparoscópica.

Una vez extraída la pieza quirúrgica, durante los primeros minutos se realizó la identificación del ganglio o los ganglios centinela, con el colorante azul de metileno en el mismo quirófano por cirujanos (6 cirujanos colorrectales) con experiencia en la técnica del ganglio centinela por haber participado en estudios previos.

Se enviaron los ganglios centinelas aislados, así como el resto de la pieza quirúrgica para su análisis. En todos los pacientes se analizaron:

- Los ganglios identificados como ganglios centinela (entre 1 y 4 ganglios). Estos ganglios fueron sometidos a estudio molecular, según el método OSNA que analiza la totalidad del ganglio.
- El resto de ganglios (no centinela) hallados en la pieza quirúrgica se estudiaron de forma convencional mediante sección única y tinción con hematoxilina-eosina.

La pieza quirúrgica se estudió de forma convencional según lo establecido.

4.B. ÁMBITO DEL ESTUDIO

Los pacientes seleccionados para este estudio fueron pacientes atendidos en el Hospital Universitario de Araba desde enero del año 2014 hasta marzo de 2016 que cumplían los criterios de inclusión y fueron intervenidos de forma programada.

Todos los pacientes del estudio fueron intervenidos por el mismo grupo de cirujanos que conforman la Unidad de Cirugía Colorrectal del Hospital Universitario de Araba.

La técnica del ganglio centinela fue realizada por los 6 cirujanos con experiencia previa en dicha técnica, evitando así curvas de aprendizaje.

4.C. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se seleccionaron todos aquellos pacientes diagnosticados preoperatoriamente de carcinoma de colon en estadio clínico 0, I y II intervenidos de forma programada y con intención curativa.

Criterios de inclusión

- Neoplasia de colon Estadios preoperatorios 0, I y II
- Mayoría de edad
- Cirugía curativa
- Cirugía electiva
- Consentimiento informado aceptado para participar en el estudio
- Ausencia de lesiones sincrónicas

Criterios de exclusión

- Neoplasia preoperatoria o intraoperatoria Estadio IV
- Neoplasias de recto (por estar participando en otro estudio)
- Menores de edad
- Cirugía paliativa
- Cirugía de urgencia
- No aceptación de participar en el estudio
- Recidiva tumoral
- Lesiones sincrónicas

4.D. MUESTRA DE PACIENTES

Se realizó una selección de cohorte prospectiva siguiendo el orden de intervención quirúrgica en el Servicio de Cirugía del Hospital Universitario de Araba.

El estudio implicó los pacientes intervenidos desde enero de 2014 hasta marzo de 2016. Se incluyeron a todos los individuos que cumplían criterios de inclusión y aceptaron la participación en el estudio.

Todos los pacientes fueron sometidos a cirugía laparotómica o laparoscópica, con resección oncológica. El tratamiento quirúrgico específico recibido por cada uno de los participantes dependió de la localización del tumor siguiendo los principios de la cirugía oncológica.

4.E. MÉTODO

4.E.1. GRUPO OSNA

4.E.1.a. MÉTODO DE DETECCIÓN DEL GANGLIO CENTINELA:

Se realizó la búsqueda de los ganglios centinela ex vivo y con azul de metileno.

El material utilizado para realizar la búsqueda de los GC fue el siguiente: una mesa auxiliar, un paño, guantes estériles, una jeringa de 5ml, 1-2ml de azul de metileno, una aguja hipodérmica, unas pinzas de disección, unas tijeras, gasas o compresas y entre 1 y 4 recipientes donde guardar los GC encontrados.

Tras la resección y extracción de la pieza quirúrgica, un cirujano ayudante realizó la búsqueda de los GC mientras el resto continuaba con la intervención quirúrgica.

El procedimiento de búsqueda de los GC que se repitió con cada individuo fue el siguiente:

- Exposición de la pieza quirúrgica en la mesa auxiliar e identificación de la lesión neoplásica.
- Infiltración de azul de metileno (1-2ml dependiendo del tamaño de la lesión) en la subserosa, rodeando el tumor.
- Masaje de la zona tumoral durante 5-10 minutos, con movimientos circulares, para facilitar la extensión del colorante desde el tumor, por el sistema linfático, hacia los GC.
- Tomando como punto de partida la lesión tumoral, se continuaron los trayectos linfáticos coloreados con azul de metileno mediante una disección cuidadosa hasta localizar los ganglios teñidos o aquellos que aun no estando teñidos se encontraban en íntima relación con los trayectos coloreados.
- Los ganglios identificados como ganglios centinela se enviaron de forma individualizada (en recipientes separados) al servicio de Anatomía Patológica. Estos fueron los que se estudiaron mediante la técnica molecular OSNA.

4.E.1.b. PROCESAMIENTO DEL GC PARA EL ESTUDIO MOLECULAR (OSNA):

Los ganglios identificados como ganglios centinela se enviaron a parte del resto de la pieza al servicio de Anatomía Patológica antes de transcurrida media hora de la extracción de la pieza quirúrgica. Si no podían ser estudiados en la 1ª hora postextracción se congelaron a -80°C.

La manipulación de los ganglios se realizó con material estéril y los manipuladores utilizaron guantes sin polvo y batas.

El primer paso consistió en disecar el ganglio para aislarlo del tejido adiposo que lo rodeaba. A continuación se pesaron y midieron (eje mayor) cada ganglio individualmente. Cuando el peso superó los 600mg se dividieron en dos secciones.

Antes de llevar a cabo la técnica OSNA se aseguró que la neoplasia era positiva para CK19. Una vez confirmado, se dio comienzo el proceso, que se produce en 16 minutos a temperatura isotérmica (60-65°C).

4.E.1.c. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

- Descongelar los reactivos.
- Vortear los reactivos durante 10 segundos (salvo la enzima) y posteriormente centrifugarlos durante 15 segundos (para eliminar burbujas).
- Calibrar la máquina.
- Pesar y medir la muestra (debe pesar entre 50 y 600mg). Cortar la muestra en trozos pequeños.
- Introducir en tubo con 4ml de Lynorhag.
- Triturar durante 1 minuto para conseguir la homogenización.
- Extraer 1ml de homogeneizado y colocarlo en tubo de eppendorf.
- Centrifugar durante 60 segundos.
- Extraer 500µl de la parte central del centrifugado.

- Extraer 20µl y añadir 180µl de Lynorhag. Esta muestra corresponde a la muestra directa del análisis. El resto se guarda a -80°C.
- Se vuelven a extraer 20µl de contenido de la última mezcla y se añaden 180µl de Lynorhag. Corresponde a la muestra diluida.

Tabla 12. Reactivos de RD-100i HTS.

<u>COMPONENTES DE RD-100i HTS</u>
Equipo RD-100i HTS
Reactivos:
- <u>Lynorhag</u> : reactivo de homogeneización. Estabiliza las moléculas de ARNm y las protege de la acción de ribonucleasas y potencia el efecto inhibitor de las sustancias presentes en la muestra de tejido solubilizado.
- <u>Lynoamp</u> : Reactivo de amplificación: Contiene enzimas, primer, controles (positivo y negativo) y calibradores.

4.E.1.d. PROCESO DE AMPLIFICACIÓN MOLECULAR:^{286 287}

1. Extracción de RNA de la muestra mediante un kit de extracción. Posteriormente preparar la solución de la muestra y añadir la solución de reacción e incubarla a 60-65°C. Los primers BIP se hibridan al RNA y mediante la actividad del RNA transcriptasa se sintetiza ADNc.



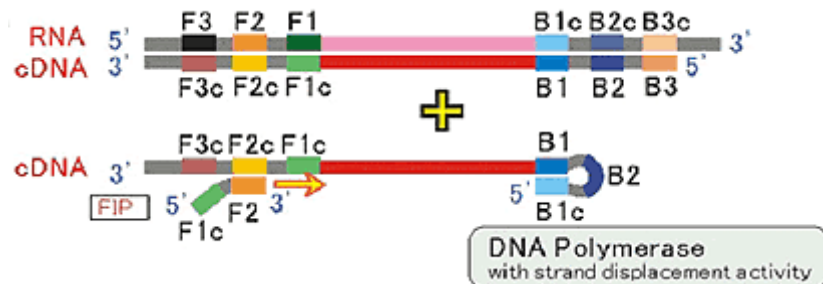
²⁸⁶ K. Nagamine, T. Hase, and T. Notomi, "Accelerated Reaction by Loop-Mediated Isothermal Amplification Using Loop Primers," *Molecular and Cellular Probes* 16, no. 3 (June 2002): 223–29, <https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>.

²⁸⁷ "[Eiken GENOME SITE] - The Principle of LAMP Method," accessed April 1, 2020, http://loopamp.eiken.co.jp/e/lamp/rt_principle.html.

2. El primer B3 se une a la región externa del BIP y con la transcriptasa inversa se sintetiza una nueva cadena de ADNc mientras que la previamente formada se libera.



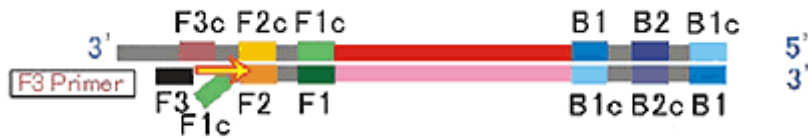
3. Desde el paso (2), el ADNc monocatenario sintetizado a partir de BIP se libera. La FIP luego hibrida con este ADNc monocatenario.



4. Mediante la actividad de la ADN polimerasa (con actividad de desplazamiento de cadena), el extremo 3' de la región F2 en FIP se convierte en el punto de partida para sintetizar la cadena de ADN complementaria.



5. El cebador F3 hibrida con la región exterior de la FIP, y su extremo 3' se convierte en el punto de partida para sintetizar una nueva cadena mientras que al mismo tiempo ocurre la liberación de la cadena de ADN anteriormente formada por FIP.



6. La cadena de ADN sintetizada por el cebador F3 junto con la plantilla de ADN de hebra forma un ADN de doble cadena.



7. La cadena de ADN vinculada al FIP, que se creó en el paso (5), contiene secuencias complementarias en los dos extremos, que se auto-reconocen y forma una estructura en forma de mancuerna/pesa. Esta estructura (7) se convierte en la partida de la amplificación cíclica de LAMP.



8. La estructura de ADN con forma de mancuerna se convierte rápidamente en un ADN tallo-bucle; es decir, se despliega el bucle en el extremo 5' que permitirá posteriormente completar la síntesis de ADN (ADN autoimprimante). Por otro lado, el BIP hibrida con la hebra simple en la región del ADN tallo-bucle e inicia la síntesis de ADN en la etapa (8). Mientras se libera la hebra previamente sintetizada.
9. La cadena simple liberada forma un bucle en el extremo 3' debido a la F1c y F1 complementarias. Posteriormente, a partir del extremo 3' de la región F1,

- comienza la síntesis de ADN utilizando la auto-estructura como plantilla, y libera el BIP-ligado a la cadena complementaria. Así, se forma la estructura (9).
10. La cadena simple liberada, unida previamente al BIP, forma una estructura de mancuerna ya que los dos extremos tienen regiones complementarias F1-F1 y B1c-B1. Esta estructura es la que vuelve a la estructura del paso (7).
 11. Similar al paso (7), la estructura (10) procesa la síntesis de ADN autoimprimante comenzando desde el extremo 3' de la región F1. Además, la FIP se hibrida a la región F2c y empieza a sintetizar la cadena de ADN. Esta cadena de ADN (la unía al FIP) es liberada por el desplazamiento de la cadena de la síntesis de ADN de auto-cebado. En consecuencia, similar a la etapa (7), (8) y (10), una vez más se forma en los pasos (10) y (11) el producto, y la estructura (7).
 12. Con la estructura producida en la etapa (9) (o el paso (12)), el FIP (o BIP) hibrida con la región F2c de cadena sencilla (o región B2c), y la síntesis de ADN continúa por la liberación de ADN de doble cadena. Como resultado de este proceso, se forman estructuras de diferentes tamaños que consisten en repeticiones alternativamente invertidas de la secuencia diana.

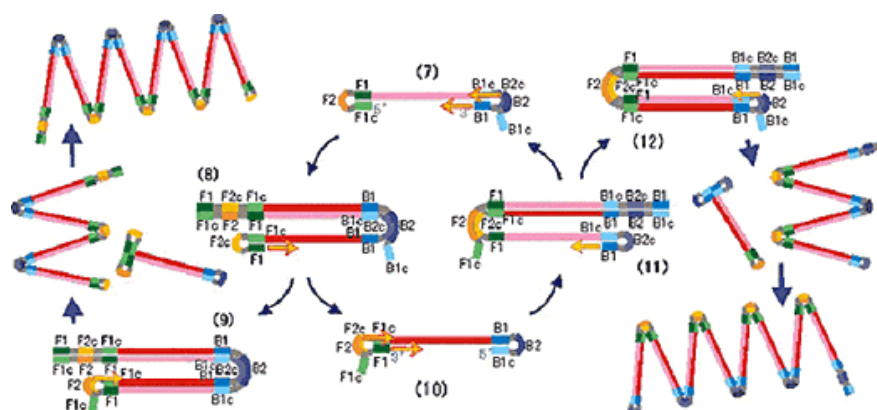


Figura 7. Proceso de amplificación molecular. Tecnología RT-LAMP.²⁸⁸

²⁸⁸ “[Eiken GENOME SITE] - The Principle of LAMP Method.”

4.E.1.e. INTERPRETACIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR DEL GANGLIO CENTINELA:

El método molecular OSNA es una técnica capaz de cuantificar la carga tumoral; de esta manera el estudio realizado por Notomi et al²⁸⁹ concluyó que un número de copias de ARNm-CK19 inferior a 250 se considera células tumorales aisladas pero sin valor sobre el estadio (pN0), valores comprendidos entre 250 y 5.000 copias corresponden a micrometástasis y valores superiores a las 5.000 copias corresponden a metástasis.

4.E.1.f. ESTUDIO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA Y DE LOS GANGLIOS NO CENTINELA:

Una vez realizada la búsqueda de los ganglios centinela y mandados estos de forma individualizada, el resto de la pieza quirúrgica (que incluía colon, mesocolon y sus respectivos ganglios) se remitió al servicio de Anatomía Patológica para un estudio convencional.²⁹⁰

Estudio convencional de los ganglios no centinela

Los patólogos, hicieron una búsqueda minuciosa de los ganglios de la pieza quirúrgica, intentando localizar el mayor número posible de los mismos.

Los ganglios no centinela fueron estudiados de forma convencional. Se realizó una única sección, inclusión en parafina y tinción con hematoxilina-eosina. De esta forma, únicamente se estudió el 1-2% del tejido ganglionar, desperdiciándose el resto.

Estudio convencional de la pieza quirúrgica

El resto de la pieza quirúrgica se estudió de forma convencional.

²⁸⁹ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

²⁹⁰ Washington et al., "Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum."

4.E.2. GRUPOS CONTROL

En este estudio se compararon los datos obtenidos del GRUPO OSNA con 2 grupos control formados por pacientes que cumplían los mismos criterios de inclusión que los pacientes de la muestra.

Descripción de los grupos control:

GRUPO CONTROL "A":

Pacientes con cáncer de colon en los que la pieza se analizó únicamente mediante método histológico convencional,²⁹¹ incluyendo los ganglios linfáticos en los que se realizó una única sección y tinción con hematoxilina eosina. Individuos estadísticamente comparables a los pacientes de la muestra a estudio e intervenidos desde febrero de 2005 hasta enero de 2009.

GRUPO CONTROL "B":

Pacientes con cáncer de colon en los que se realizó la técnica del ganglio centinela ex vivo con azul de metileno y con estudio de los ganglios centinela con múltiples secciones y análisis con H-E e IHQ (3 secciones se estudiaron con hematoxilina-eosina y 3 con inmunohistoquímica). Además, en estos pacientes también se realizó el estudio convencional del resto de los ganglios aislados con sección única y tinción con H-E. Individuos estadísticamente comparables a los pacientes de la muestra a estudio e intervenidos desde febrero de 2009 hasta diciembre de 2013.

²⁹¹ Washington et al.

4.E.2.a. PROCESAMIENTO DE LOS GANGLIOS SEGÚN LA TÉCNICA CONVENCIONAL:

El método de estudio convencional es el que se realiza en el estudio del cáncer de colon siguiendo las recomendaciones de la AJCC.²⁹²

Esta técnica fue la que se utilizó en el análisis de todos los ganglios del grupo control "A" y en el estudio de los ganglios no centinela del grupo control "B" (al igual que en los ganglios no centinela del GRUPO OSNA).

Consiste en la búsqueda exhaustiva de los ganglios por parte del patólogo para identificar cuantos ganglios sea factible y posteriormente proceder a realizar una única sección de cada ganglio, inclusión en parafina y tinción con hematoxilina-eosina.

4.E.2.b. PROCESAMIENTO DEL GANGLIO CENTINELA PARA EL ESTUDIO INTENSIVO CON MÚLTIPLES SECCIONES Y TINCIÓN CON H-E E IHQ:

Fue el método empleado para el estudio de los GC del grupo control "B":

El cirujano realizó la búsqueda en quirófano de los GC mediante la técnica ex vivo con azul de metileno y estos fueron enviados al servicio de Anatomía Patológica de forma individualizada y separados del resto de la pieza quirúrgica.

Se realizaron fotografías macroscópicas de cada GC y se pesaron.

Posteriormente se realizaron cortes macroscópicos seriados de aproximadamente 2mm de grosor con cada ganglio y el conjunto de la pieza se introdujo en una cápsula.

A continuación, se realizó la fijación en formol tamponado al 4% durante 24 horas.

Tras la fijación, se realizaron 6 secciones de 4µm de grosor seriadas del bloque de parafina.

En los cortes realizados en cada ganglio se aplicaron de forma secuencial técnicas de tinción con hematoxilina-eosina en tres secciones y técnicas de inmunohistoquímica con citoqueratina (CAM 5.2) en otras tres secciones.

²⁹² Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

4.E.2.c. INTERPRETACIÓN DEL ESTUDIO CONVENCIONAL Y DEL ESTUDIO CON MÚLTIPLES CORTES:

Lesiones mayores a 2mm se consideraron metástasis; afectación de entre 2mm y 0,2 mm micrometástasis y lesiones menores a 0,2mm, grupos de colonias y células tumorales aisladas.²⁹³

²⁹³ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

5. RESULTADOS

5.A. GRUPO OSNA

5.A.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y QUIRÚRGICOS

5.A.1.a. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:

Desde enero de 2014 y hasta abril de 2016 se realizaron en el HUA 121 intervenciones de cáncer de colon que cumplían criterios de inclusión en el estudio. En esos pacientes se llevó a cabo la técnica del ganglio centinela y los GC localizados fueron estudiados mediante el método OSNA. No se incluyeron aquellos pacientes intervenidos en el turno de tarde por imposibilidad para el procesamiento de los ganglios recogidos en dicho turno.

La media de edad al diagnóstico fue de 67,83 años con una desviación estándar de 11,22. El paciente más joven de la muestra tenía 31 años y el más mayor 90.

La relación hombres mujeres fue de 66,1% de hombres frente a 33,9% de mujeres.

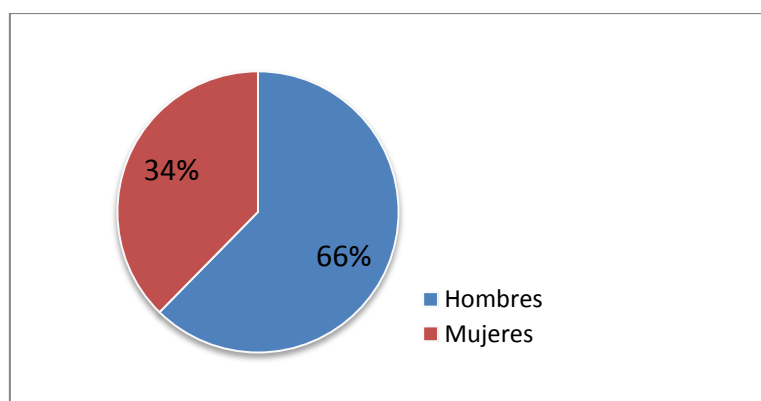


Figura 8. Gráfico circular. Relación entre hombres y mujeres en el cáncer de colon.

5.A.1.b. LOCALIZACIÓN TUMORAL Y TÉCNICAS QUIRÚRGICAS:

5.A.1.b.1. Localización tumoral:

La localización más habitual del tumor en la serie fue el sigma con un porcentaje del 39,7%.

En orden descendente la localización tumoral fue la siguiente: Sigma (39,7%), colon ascendente (16,5%), ciego (14,9%), colon transverso (10,7%), ángulo esplénico (9,1%), ángulo hepático (5,8%) y colon descendente (3,3%).

Cuando se agruparon las localizaciones tumorales teniendo en cuenta la vascularización y el drenaje linfático de cada segmento del colon, se identificaron dos grupos de pacientes

- Los pacientes que presentaron afectación del colon irrigado por la arteria mesentérica superior y sus ramas (ileocólica, cólica derecha y cólica media) que en este estudio supusieron el 47,9% de los pacientes (el tumor se encontraba en ciego, colon ascendente, ángulo hepático y/o en los dos tercios proximales del colon transverso).
- Los pacientes que tenían afectación del colon dependiente de la arteria mesentérica inferior y sus ramas (cólica izquierda y ramas sigmoideas) que en este caso supusieron el 52,1% de los pacientes (c. transverso distal, ángulo esplénico, colon descendente y sigma).

5.A.1.b.2. Técnicas quirúrgicas empleadas:

Cuando se agruparon las localizaciones tumorales teniendo en cuenta el drenaje linfático de las mismas y la resección oncológica que procede a cada localización, la técnica quirúrgica mas empleada fue la hemicolectomía derecha incluyendo la hemicolectomía derecha ampliada (que engloba los tumores de ciego, colon ascendente y colon transversal).

En orden descendente las técnicas más empleadas fueron las siguientes:

Tabla 13. Resumen de técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo OSNA.

1. Hemicolectomía derecha (ampliada)	45,5%
2. Sigmoidectomía	38,8%
3. Hemicolectomía izquierda	8,3%
4. Resección segmentaria de ángulo esplénico	5%
5. Resección segmentaria de colon transversal	2,5%

5.A.1.b.3. Vía de abordaje quirúrgico:

La vía quirúrgica más empleada fue la laparoscópica, llevada a cabo en 88 (73,3%) de los 121 pacientes (en un paciente no se registró la vía de abordaje).

La laparotomía fue empleada en 32 (26,7%) pacientes (en la mayor parte de las ocasiones por tratarse de pacientes con cirugías abdominales previas y/o por dificultades técnicas en otras).

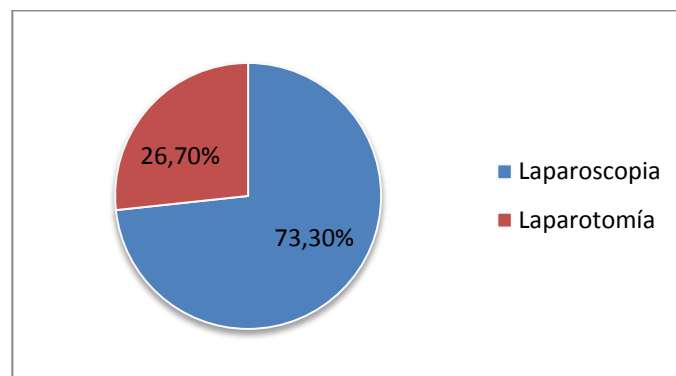


Figura 9. Gráfico circular. Vía de abordaje laparoscópica versus laparotómica.

Tabla 14. Resumen de técnicas quirúrgicas empleadas y vía de abordaje quirúrgico en el grupo OSNA.

	LAPAROSCOPIA	LAPAROTOMÍA
Hemicolectomía derecha (ampliada)	39	16
Resección segmentaria de colon transverso	1	2
Resección segmentaria de ángulo esplénico	4	2
Hemicolectomía izquierda	8	2
Sigmoidectomía	37	10

5.A.1.c. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS (Infiltración local "T"):

El estudio de la infiltración local de la neoplasia mostró que 5 (4,2%) pacientes presentaron únicamente afectación intraepitelial o invasión de la lámina propia (Tis), 19 (16%) invasión de la submucosa (T1), 25 (21%) invasión de la muscularis propia (T2), 57 (47,9%) infiltración a través de la muscularis propia hacia tejidos pericolónicos (T3) y en 13 (10,9%) el tumor alcanzó y sobrepasó el peritoneo visceral (T4).

Estos datos demostraron un predominio de infiltración tipo T2 y T3.

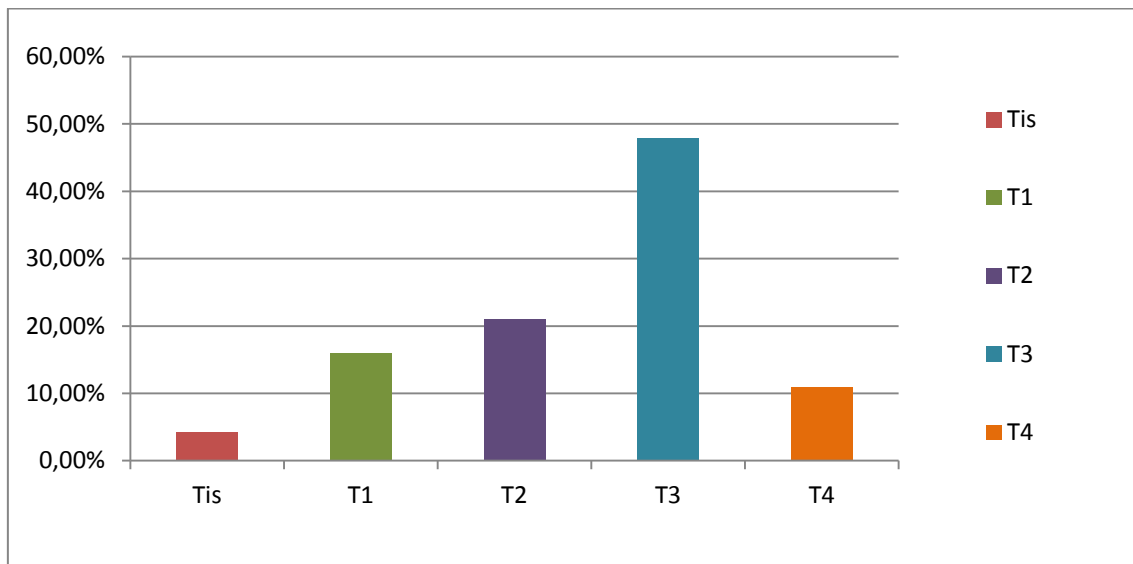


Figura 10. Gráfico de columnas. Infiltración local.

5.A.1.d. ASOCIACIÓN ENTRE INFILTRACIÓN LOCAL "T" Y AFECTACIÓN GANGLIONAR:

Como se muestra en la siguiente tabla, cuanto mayor fue la infiltración local "T" mayor resultó el número de ganglios aislados y el número de ganglios con infiltración; a excepción de T4 donde sí se observaron más ganglios pero la afectación de los mismos por células tumorales fue inferior que en T3.

Tabla 15. Asociación entre infiltración local (T), ganglios localizados y afectación ganglionar.

		N	Media de ganglios aislados	Desviación estándar	Mín	Máx
N total de ganglios extraídos	Tis	5	12,80	3,834	8	17
	T1	19	18,74	11,323	2	49
	T2	25	20,32	7,105	7	34
	T3	57	22,88	9,206	6	48
	T4	13	25,38	12,359	13	61
	Total	119	21,53	9,664	2	61
N positivos	Tis	5	,00	,000	0	0
	T1	19	,63	,831	0	2
	T2	25	,60	1,080	0	4
	T3	57	1,33	1,766	0	8
	T4	13	1,15	1,345	0	3
	Total	119	,99	1,470	0	8

Tabla 16. Resumen de tabla previa. Asociación entre infiltración local (T), ganglios localizados y afectación ganglionar.

T	N	Media de ganglios aislados	Media de ganglios positivos
Tis	5	12,80	0,00
T1	19	18,74	0,63
T2	25	20,32	0,60
T3	57	22,88	1,33
T4	13	25,38	1,15

5.A.2. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR

5.A.2.a. GANGLIOS CENTINELA:

5.A.2.a.1. Identificación de los ganglios centinela:

En el grupo OSNA se detectaron un total de 359 ganglios centinela.

La media de ganglios centinela por paciente fue de 2,97 con una desviación estándar de 1,02.

El rango de GC fue de 5, siendo 1 el mínimo de ganglios centinela hallados en un paciente y 6 el máximo.

Tabla 17. GC en el grupo OSNA.

Número total de GC	359
Media por paciente	2,97
Desviación estándar	1,024
Nº mínimo y máximo de GC	1-6

5.A.2.a.2. Infiltración de los ganglios centinela.

Tipo de infiltración ganglionar:

- Infiltración de los GC:

84 (23,4%) de los 359 ganglios centinela localizados en el grupo OSNA, presentaron algún tipo de afectación ganglionar (metástasis, micrometástasis o células tumorales aisladas).

275 (76,6%) de los 359 ganglios identificados como ganglios centinela no presentaron ningún tipo de afectación ganglionar (N0).

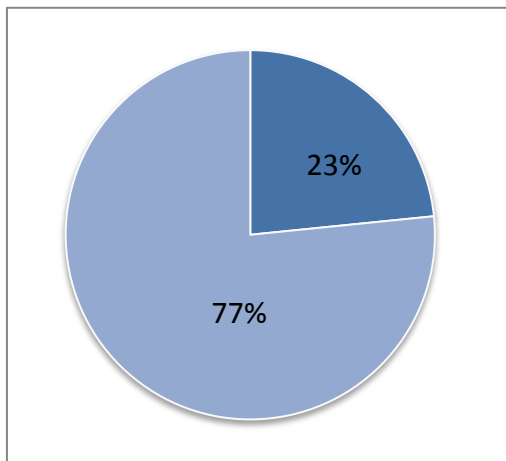


Figura 11. Gráfico circular. Ganglios centinela afectados y no afectados.

En esta gráfica se han considerado ganglios afectados (23%) la infiltración metastásica, micrometastásica y por células tumorales aisladas. Las células tumorales aisladas se consideran NO según la clasificación TNM.²⁹⁴

Si solo se tienen en cuenta los ganglios centinela con infiltración metastásica y micrometastásica, el número de ganglios infiltrados fue de 69 (19%) entre los 359 GC aislados.

²⁹⁴ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

-Clasificación según el tipo de infiltración: Metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas:

Tabla 18. Clasificación de la infiltración ganglionar según el número de copias identificado.

CLASIFICACIÓN DEL MÉTODO OSNA SEGÚN NÚMERO DE COPIAS	
-<250:	ausencia de infiltración o células tumorales aisladas (N0(mol+))
-250-5000:	Infiltración micrometastásica (N1(mi))
->5000:	Infiltración metastásica (N1)

De los 84 GC con algún tipo de afectación ganglionar, 20 GG (23,8%) correspondían a metástasis (>5000 copias), 49 GC (58,33%) a micrometástasis (250-5000 copias) y 15 GC (17,85%) a células tumorales aisladas (<250).

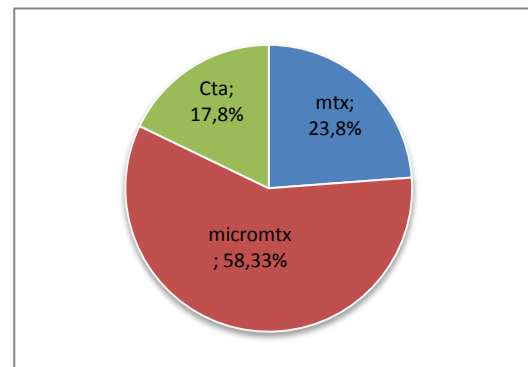


Figura 12. Gráfico circular. Tipo de afectación de los GC.

Considerando únicamente los GC infiltrados por metástasis y micrometástasis la gráfica mostró mayor número de hallazgo de micrometástasis.

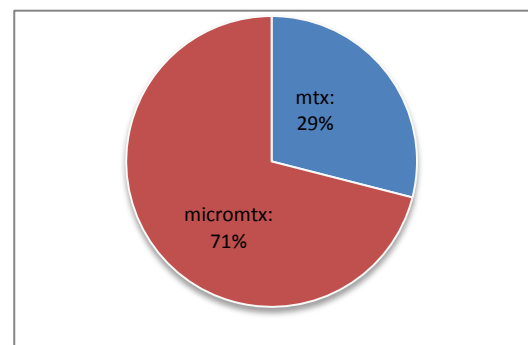


Figura 13. Gráfico circular. Tipo de infiltración metastásica o micrometastásica de los GC

5.A.2.a.3. Pacientes con infiltración de los ganglios centinela:

En el grupo OSNA hubo un total de 48 (39,7%) pacientes entre los 121 que conformaban el grupo, con ganglios centinela infiltrados con metástasis y micrometástasis; 55 (45,8%) si se consideran los pacientes con infiltración de los GC por CTA.

Algunos de los pacientes con GC infiltrados presentaban al mismo tiempo varios tipos de infiltración ganglionar en diferentes ganglios centinela. De esta manera, entre los pacientes, se pueden diferenciar 7 variables de infiltración ganglionar:

- Solo infiltración metastásica en uno o en varios GC
- Solo infiltración micrometastásica en uno o varios GC
- Solo infiltración de células tumorales aisladas en uno o varios GC
- Infiltración metastásica y micrometastásica en diferentes GC
- Infiltración metastásiaca y células tumorales aisladas en diferentes GC
- Infiltración micrometastásica y células tumorales aisladas en diferentes GC
- Los tres tipos de infiltración al mismo tiempo en al menos 3 GC

Tabla 19. Tipo de infiltración de los GC y número de pacientes afectados.

Infiltración ganglionar (GC)	Pacientes
Metástasis (Mtx)	9
Micrometástasis (micro)	25
Células tumorales aisladas (CTA)	7
Mtx + micro	8
Mtx + Cta	1
Micro + Cta	5
Mtx + micro + Cta	0

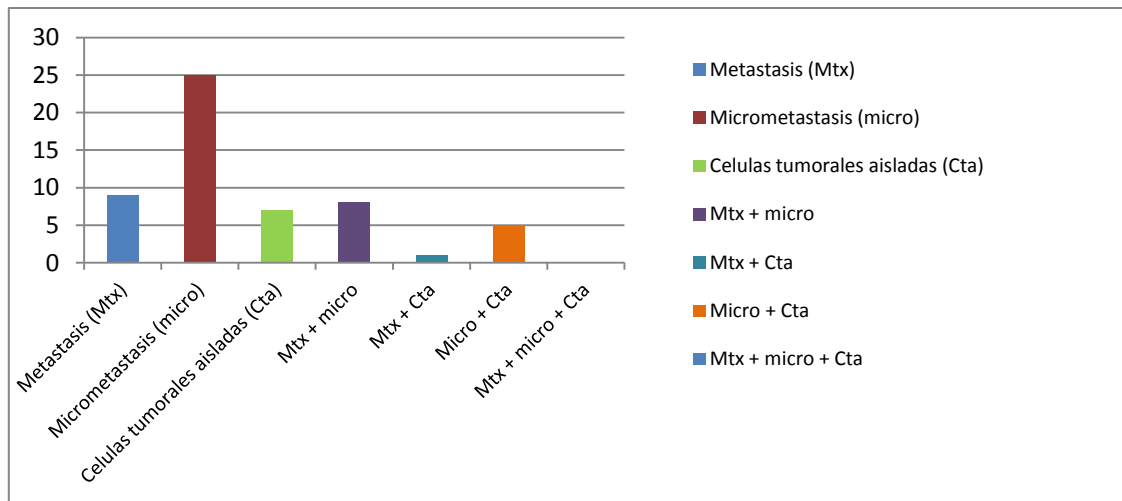


Figura 14. Gráfico de columnas. Pacientes con infiltración de los GC. Tipo de infiltración ganglionar.

En aquellos pacientes con GC+ que conjuntamente presentaban varios tipos de infiltración ganglionar; considerando para la clasificación los ganglios con mayor número de copias (mtx>micro>cta), se observó que de los 48 pacientes con GC+, 18 (37,5%) presentaban metástasis y 30 (62,5%) micrometástasis.

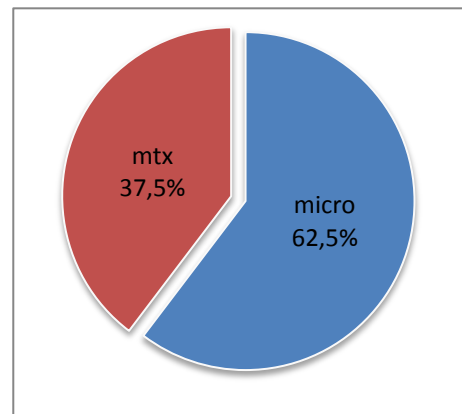


Figura 15. Gráfico circular. Infiltración metastásica o micrometastásica de los GC.

Si se hubiesen considerado los pacientes con CTA, el número de pacientes con afectación de los GC hubiera ascendido a 55 (45,45%) de 121 pacientes. Así, de estos 55 pacientes, aquellos con infiltración metastásica supondrían el 32,72%, con infiltración micrometastásica el 54,54% y los pacientes con infiltración de los GC por CTA el 12,78% (7 de 55 pacientes).

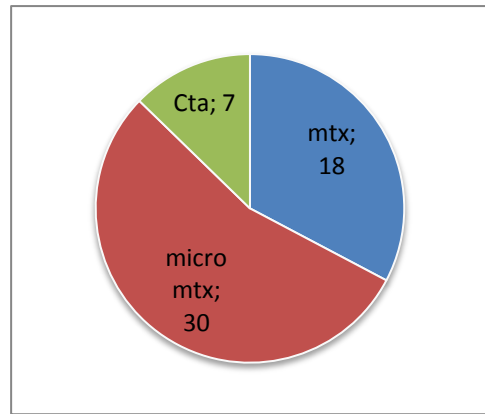


Figura 16. Gráfico circular. Infiltración por metástasis, micrometástasis o CTA en los pacientes con GC afectados.

5.A.2.a.4. Tamaño de los ganglios centinela:

La media de tamaño obtenida de los ganglios centinela positivos fue de 1,21 cm con un rango de 1,50cm, siendo el más grande de 2cm y el más pequeño de 0,50cm.

La media del tamaño obtenida de los ganglios centinela negativos fue de 1,11cm. Con un rango de 3,2cm siendo el de mayor tamaño de 3,5cm y el de menor tamaño de 0,30cm.

5.A.2.a.5. Relación entre los ganglios centinela afectados y la infiltración tumoral local:

En la siguiente tabla se observa la relación entre los pacientes con infiltración de los GC por metástasis y micrometástasis (48 pacientes) y la infiltración tumoral local "T":

Tabla 20. Relación entre la infiltración local (T) y pacientes con GC positivos para metástasis y micrometástasis.

Infiltración local	Pacientes con GC+ (% dentro de cada grupo de infiltración local)	(% de 48 pacientes con GC+)
Tis	0 pacientes de 5 (0,00%)	0,00%
T1	6 pacientes de 19 (31,5%)	12,5%
T2	8 pacientes de 25 (32%)	16,66%
T3	25 pacientes de 57 (43,85%)	52,08%
T4	7 pacientes de 13 (53,84%)	14,58%

En 2 pacientes de la muestra no se registró la infiltración local (T).

En la siguiente tabla se muestra la relación entre los pacientes con afectación de los GC por metástasis, micrometástasis y CTA (55 pacientes) y el tipo de infiltración local:

Tabla 21. Relación entre la infiltración local (T) y pacientes con GC positivos para metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas.

Infiltración local	Pacientes con GC+ (% dentro de cada grupo de infiltración local correspondiente)	(% de 55 pacientes)
Tis	1 pacientes de 5 (20%)*	1,81%
T1	7 pacientes de 19 (36,84%)	12,72%
T2	9 pacientes de 25 (36%)	16,36%
T3	28 pacientes de 57 (49,12%)	50,9%
T4	8 pacientes de 13 (61,54%)	14,54%

En 2 pacientes de la muestra no se registró la infiltración local (T).

**Un paciente con infiltración local Tis presentó afectación de un GC por células tumorales aisladas. Teóricamente la infiltración local intraepitelial no presenta capacidad de provocar infiltración linfática ni vascular. No obstante, las CTA se consideran NO sin valor sobre el pronóstico según la TNM 8ª edición.²⁹⁵*

En ambas tablas se demuestra que a mayor infiltración local (T), mayor fue el porcentaje de pacientes con infiltración de los GC.

²⁹⁵ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

5.A.2.b. ESTUDIO DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS NO CENTINELA (GnoC):

5.A.2.b.1. Identificación de los ganglios no centinela:

En los 121 pacientes de la muestra se identificaron un total de 2600 ganglios linfáticos.

De los 2600 ganglios linfáticos, 359 (13,80%) correspondían a ganglios centinela y 2241 (86,19%) a ganglios no centinela.

La media de ganglios por paciente, considerando tanto los GnoC como los GC fue de 21,49 con una desviación estándar de 9,58.

La media de GnoC identificados por paciente fue de 18,52 con una desviación estándar de 9,47 y un rango de 56, siendo el mínimo de GnoC de 0 y el máximo de 56.

Hubo 13 pacientes con menos de 12 ganglios identificados incluyendo los GC y los no centinela (se comentará más adelante en el apartado 5.D.).

5.A.2.b.2. Infiltración de los ganglios no centinela. Tipo de infiltración:

De los 2241 ganglios no centinela, 52 GnoC (2,32%) presentaron infiltración mediante el estudio convencional.

Tabla 22. Clasificación de la infiltración ganglionar según la técnica de estudio convencional con sección única y tinción con H-E.²⁹⁶

->2mm: Metástasis (N1)
-2mm-0,2mm: Micrometástasis (N1(mi))
-<0,2mm: Células tumorales aisladas (N0(I+))

En este estudio no se registró el tipo de infiltración que presentaban los GnoC pero únicamente se consideraron positivos (N+) las infiltraciones mayores a 0,2mm; es decir, las metástasis y micrometástasis según las últimas actualizaciones de la AJCC.²⁹⁷

²⁹⁶ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

²⁹⁷ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

5.A.2.b.3. Pacientes con infiltración ganglionar:

Los 52 ganglios no centinela infiltrados pertenecían a 25 pacientes.

Por lo tanto, el método convencional permitió identificar 25 (20,7%) de 121 pacientes en estadio III de la enfermedad.

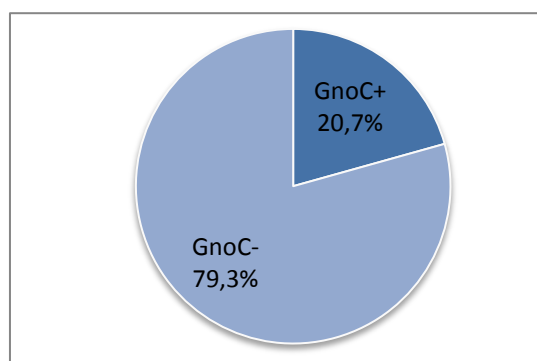


Figura 17. Gráfico circular. Detección de pacientes con infiltración ganglionar mediante el estudio de los GnoC.

5.A.2.b.4. Relación entre los ganglios no centinela positivos y la infiltración tumoral local:

Ningún paciente con infiltración mucosa (Tis) presentó ganglios no centinela infiltrados. Entre los pacientes con invasión de la submucosa (T1) 2 tuvieron afectación de los GnoC. En el grupo con afectación de la muscular propia (T2) 1 paciente presentó GnoC afectados. Entre los pacientes T3, en 18 se identificó afectación de los GnoC y entre los T4, 4 tenían GnoC infiltrados.

Tabla 23. Relación entre los GnoC positivos y la infiltración local (T).

Infiltración local	GnoC+ (% dentro de cada grupo de infiltración local correspondiente)
Tis	0 (0,00%)
T1	2 (10,52%)
T2	1 (4%)
T3	18 (31,57%)
T4	4 (30,76%)

Se evidenció mayor infiltración ganglionar en los pacientes con infiltración local T3 y T4.

5.A.2.c. COMPARACIÓN DE LA INFILTRACIÓN DE LOS GC Y LOS GnoC:

La afectación ganglionar observada mediante el estudio convencional de los **ganglios no centinela** fue de 52 (2,32%) entre los 2241 ganglios no centinela.

La afectación de los **ganglios centinela** fue de 69 GC+ (19,22%) de entre los 359 GC identificados en el grupo, considerando metástasis y micrometástasis; o de 84 GC afectados (23,39%) de 359 GC, considerando también las células tumorales aisladas.

La diferencia entre el estudio de los GnoC y los GC resultó estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

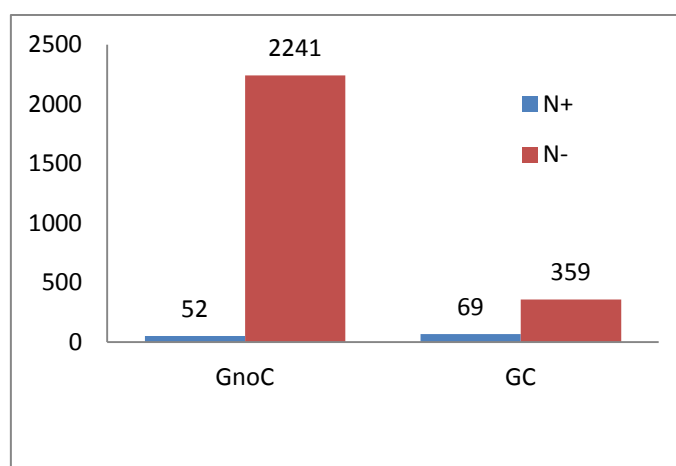


Figura 18. Gráfico de columnas. Comparación de la infiltración de los GC y los GnoC.

5.A.3. PACIENTES EN ESTADIO III (E-III)

5.A.3.a. PACIENTES EN ESTADIO III SEGÚN EL ESTUDIO DE LOS GC Y LOS GNOC:

El estudio conjunto de los GC mediante el método OSNA y de los GnoC mediante el método convencional identificó 57 (47,1%) pacientes en E-III de los 121 que conformaban el grupo.

El estudio molecular de los GC identificó 48 (39,7%) pacientes en E-III del CC entre los 121 del grupo OSNA.

El estudio convencional de los GnoC identificó 25 (20,7%) pacientes en E-III de los 121.

5.A.3.b. SUPRAESTADIFICACIÓN DENTRO DE LA MUESTRA: GANGLIO CENTINELA ÚNICO GANGLIO INFILTRADO.

5.A.3.b.1. Supraestadificación:

Tabla 24. Concepto de "supraestadificación".

CONCEPTO: Pacientes identificados como N+ (estadio III) mediante el estudio de los GC con el método OSNA, pero que en el estudio convencional de los GnoC hubiesen sido clasificados N0 (estadios precoces de la enfermedad (EI y II)).

Por lo tanto, los pacientes supraestadificados serán aquellos con GC positivos y resto de GnoC negativos.

Se observaron GC positivos para metástasis y micrometástasis con resto de GnoC negativos en 32 (26,4%) de los 121 pacientes del estudio.

Así, en este grupo de estudio se obtuvo una supraestadificación del 26,4%.

Supraestadificación → 26,4%

Si se hubiesen tenido en cuenta los pacientes que presentaban infiltración de los GC por células tumorales aisladas con el resto de ganglios negativos, habría que considerar 5 (4,1%) pacientes más supraestadificados con un porcentaje sumatorio de 30,5%.

SUPRAESTADIFICACIÓN
26,4% → mtx y micro
30,5% → mtx, micro y CTA

5.A.3.b.2. Tipo de infiltración de los ganglios centinela en los pacientes supraestadificados:

De los 32 pacientes con afectación exclusiva de los GC, 8 (25%) presentaron GC infiltrados a expensas de infiltración metastásica* y 24 (75%) micrometastásica.

Esta distribución demostró mayor hallazgo de infiltración micrometastásica mediante esta técnica.

**Nota: Para aquellos pacientes que presentaron diferentes GC con distintos tipos de infiltración se consideró la de mayor tamaño (mtx>micro>cta).*

Entre los 8 pacientes con infiltración metastásica, 2 de ellos presentaron al mismo tiempo ganglios con metástasis y ganglios con micrometástasis.

5.A.3.c. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DIAGNÓSTICA:

En la siguiente tabla se describe el análisis de validez del estudio ganglionar mediante el método OSNA atendiendo a la infiltración de los GC por metástasis y micrometástasis.

Tabla 25. Tabla de 2x2 de la prueba diagnóstica y parámetros obtenidos de la misma, considerando pacientes en E-III aquellos con infiltración metastásica y/o micrometastásica.

	Enfermos N+ Columna N+≥1	Sanos N- Columna N+0=	Total
GC + (GC+ SI)	48	0	48
GC - (GC+ NO)	9	64	73
total	57	64	121

		IC 95%
Sensibilidad	84,2%	74,7% a 93,7%
Especificidad	100%	100% a 100%
Valor predictivo positivo	100%	100% a 100%
Valor predictivo negativo	87,7%	80,1% a 95,2%

Si se da valor al hallazgo de infiltración por células tumorales aisladas en los GC; aunque se consideren estos N0, los valores varían:

Tabla 26. Tabla de 2x2 de la prueba diagnóstica y parámetros obtenidos de la misma, considerando pacientes en E-III aquellos con infiltración metastásica, micrometastásica y/o con células tumorales aisladas.

	Enfermos N+ Columna N+≥1	Sanos N- Columna N+0=	Total
GC + (GC+ SI)	50	5	55
GC - (GC+ NO)	7	59	66
total	57	64	121

		IC 95%
Sensibilidad	87,7%	79,2% a 96,2%
Especificidad	92,2%	85,6% a 98,8%
Valor predictivo positivo	90,9%	83,3% a 98,5%
Valor predictivo negativo	89,4%	82,0% a 96,8%

5.A.3.c.1. Falsos negativos:

Se consideraron falsos negativos de la técnica aquellos pacientes que fueron estadificados en E-III del CC por el hallazgo de infiltración en los ganglios no centinela, sin que se identificase afectación ganglionar en los ganglios centinela. De esta manera, la tasa de falsos negativos del estudio fue de 5,78% (7 de los 121 pacientes).

Falsos negativos → 5,78%

Si no se hubiese tenido en cuenta la afectación por células tumorales aisladas, el porcentaje de falsos negativos ascendería a 7,43% (9 de 121 pacientes).

-Relación entre la infiltración local (T) y los falsos negativos:

De los 7 pacientes sin afectación de los GC y con GnoC positivos, 2 correspondían a pacientes con infiltración local T1 y 5 a infiltración local T3. Por lo tanto, solo se observaron FN en la infiltración local T1 y T3, siendo el porcentaje dentro de cada grupo de infiltración local (T) mayor para T1, sin diferencias estadísticamente significativas ($P=0,81$). Por lo que en este estudio no se observó relación entre la infiltración local (T) y los FN de la técnica del ganglio centinela con estudio molecular OSNA.

Se puede observar la relación y porcentaje dentro de cada grupo en la siguiente tabla:

Tabla 27. Relación entre la infiltración local (T) y los falsos negativos.

Infiltración local (T)	Número FN (GC sin afectación y GNoC+)	N total (%)
Tis	0	5 (0%)
T1	2	19 (10,5%)
T2	0	25 (0%)
T3*	5	57 (8,77%)
T4	0	13 (0%)

**Si se consideran FN aquellos pacientes con infiltración de los GC únicamente metastásica o micrometastásica y no por células tumorales aisladas, habría que considerar 2 pacientes mas (5+2) como FN en el grupo con infiltración local T3, ascendiendo el porcentaje de FN dentro de este grupo de 8,77% a 12,28%.*

-Relación entre la localización tumoral, la resección quirúrgica y los falsos negativos:

De los 7 pacientes con GnoC positivos y GC sin ningún tipo de afectación, en 3 se había realizado una resección segmentaria de ángulo esplénico, en 3 sigmoidectomía y en 1 hemicolectomía izquierda. Por lo tanto los 7 pacientes fueron sometidos a resecciones asociadas a la arteria mesentérica inferior.

Como se observa en la siguiente tabla, la resección segmentaria de ángulo esplénico obtuvo mayor tasa de FN.

Tabla 28. Relación entre la localización tumoral, la técnica quirúrgica empleada y los falsos negativos.

Resección quirúrgica	FN	n total del grupo (%)
Hemicolectomía derecha (ampliada)*	0	55 (0%)
Resección segmentaria de colon transverso	0	3 (0%)
Resección segmentaria de ángulo esplénico	3	6 (50%)
Hemicolectomía izquierda	1	10 (10%)
Sigmoidectomía*	3	47 (6,38%)

**Si se consideran falsos negativos los pacientes con GC afectados únicamente por CTA y con GnoC positivos, 1 paciente correspondería a una resección de hemicolectomía derecha (1,81%) y otro a una sigmoidectomía ascendiendo el porcentaje de este grupo a 8,51%.*

5.A.4. PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS AISLADOS

En este estudio (grupo OSNA) se identificaron menos de 12 ganglios en 13 (10,7%) de los 121 pacientes.

La media de ganglios por paciente dentro de este grupo fue de 7,77 con una desviación estándar de 2,08.

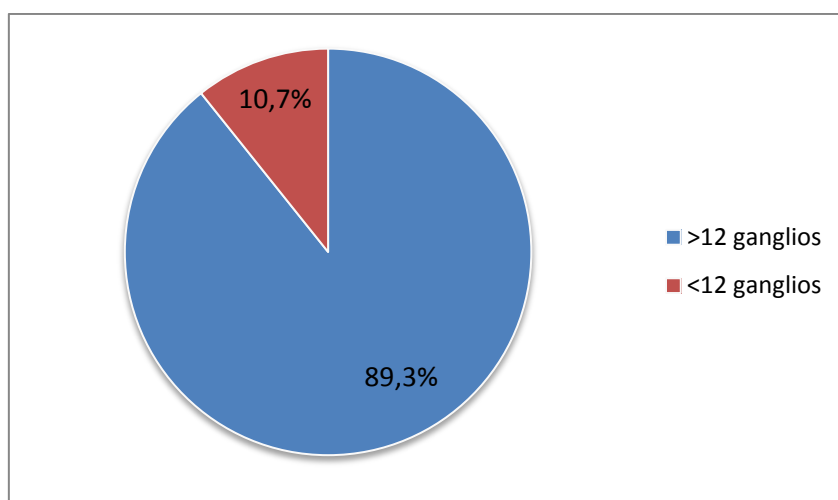


Figura 19. Gráfico circular. Pacientes con menos de 12 ganglios.

5.A.4.a. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:

La edad media de los pacientes con menos de 12 ganglios fue de 64,15 años.

La distribución hombres/mujeres de la muestra de pacientes con menos de 12 ganglios fue de 12 hombres frente a 1 mujer.

En cuanto a la intervención quirúrgica realizada en estos pacientes con menos de 12 ganglios aislados, a 1 paciente se le realizó hemicolectomía derecha, a 3 resección segmentaria de ángulo esplénico, a 2 hemicolectomía izquierda y a 7 sigmoidectomía. Cuando se valoraron el porcentaje de las intervenciones quirúrgicas de cada localización se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 29. Relación entre la intervención quirúrgica realizada y el número de pacientes con menos de 12 ganglios.

Intervención quirúrgica	Intervenciones con <12 ganglios (% dentro de cada intervención)
Hemicolectomía derecha (ampliada)	1 (1,8%)
Resección segmentaria de c. transversa	0 (0,0%)
Resección segmentaria de ángulo esplénico	3 (50%)
Sigmoidectomía	7 (14,9%)
Hemicolectomía izquierda	2 (20%)

Estos datos mostraron que en este estudio los pacientes en los que se realizó resección segmentaria de ángulo esplénico, tuvieron más riesgo de una incorrecta estadificación por no alcanzar el número mínimo de ganglios a estudio en el 50% de los casos.

De los 13 pacientes que conformaron este grupo, 10 (76,92%) presentan infiltración local de tipo Tis, T1 ó T2. Lo que demostró mayor riesgo de incorrecta estadificación por no alcanzar el mínimo de 12 ganglios, en pacientes con menor infiltración local.

5.A.4.b. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR:

5.A.4.b.1. Ganglios centinela:

En los 13 pacientes que conformaron el grupo con menos de 12 ganglios, se obtuvieron un total de 37 ganglios centinela.

La media de GC por pacientes fue de 2,85.

-Infiltración de los ganglios centinela. Tipo de infiltración ganglionar:

De los 37 GC de este grupo de pacientes con menos de 12 ganglios, se contabilizaron 6 (16,21%) GC infiltrados. Teniendo en cuenta los ganglios infiltrados por CTA ascendería a 7 (18,91%) GC afectados.

Entre los 6 GC infiltrados, hubo 1 (16,66%) con afectación metastásica y 5 (83,33%) con infiltración micrometastásica. Un ganglio (16,66%) presentó células tumorales aisladas.

-Pacientes con infiltración de los GC:

Los ganglios centinela con infiltración pertenecían a un total de 4 (30,76%) de los 13 pacientes que conformaron la muestra, considerando las metástasis y las micrometástasis (5 (38,46%) pacientes si se consideran las células tumorales aisladas).

Pacientes con <12 ganglios y GC+

GC+ (mtx + micro): 30,76%

*GC+ (mtx + micro + cta): 38,46%

5.A.4.b.2. Ganglios no centinela:

Entre los 13 pacientes que conformaron el grupo, se contabilizaron un total de 64 GnoC. La media fue de 4,9 GnoC por paciente.

-Infiltración de los ganglios no centinela. Tipo de infiltración:

Entre los 64 GnoC hubo un total de 4 (6,25%) ganglios positivos.

Los GnoC solo se consideraron positivos cuando la infiltración fue metastásica o micrometastásica.

-Pacientes con infiltración de los GnoC:

2 (15,38%) de los 13 pacientes con menos de 12 ganglios presentaron infiltración de los GnoC.

Pacientes con <12 ganglios y GnoC+
--

15,38%

5.A.4.c. PACIENTES EN ESTADIO III CON MENOS DE 12 GANGLIOS:

5.A.4.c.1. Comparación de los resultados obtenidos con los GC y los GnoC:

En el subgrupo de pacientes del grupo OSNA con menos de 12 ganglios identificados, el análisis conjunto de los GC mediante el método OSNA y los GnoC mediante técnica convencional, identificó 5 (38,46%) pacientes con afectación ganglionar y por lo tanto, en estadio III del CC.

El estudio convencional de los GnoC permitió identificar 2 (15,38%) pacientes con afectación ganglionar entre los 13 pacientes que conformaban el subgrupo.

El estudio de los GC con el método OSNA identificó 4 (30,76%) pacientes con infiltración ganglionar metastásica y micrometastásica (3 de ellos con micrometástasis y uno con metástasis).

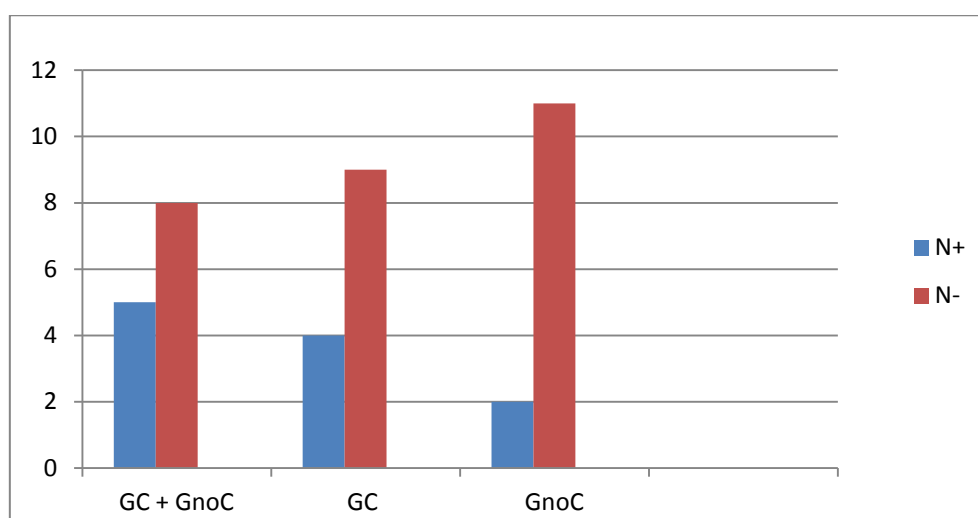


Figura 20. Gráfico de columnas. Pacientes con menos de 12 ganglios. La afectación ganglionar según el estudio de los GC y de los GnoC.

5.A.4.c.2 supraestadificación dentro del grupo OSNA con menos de 12 ganglios:

En el subgrupo de pacientes con menos de 12 ganglios del grupo OSNA, 3 (23,07%) pacientes presentaron infiltración de los GC mientras que el resto de GnoC fueron negativos.

Así, en este grupo de estudio se obtuvo una supraestadificación del 23,07%.

Supraestadificación (mtx y micromtx): 23,07%

Todos los pacientes supraestadificados lo fueron por el hallazgo de infiltración tipo micrometastásica en los GC.

Si se hubiesen considerado los pacientes que presentaron afectación de los GC por las CTA, 4 (30,76%) de los 13 pacientes hubieran sido supraestadificados.

Supraestadificación (mtx, micromtx y CTA): 30,76%
--

Estos resultados de supraestadificación fueron similares a los obtenidos en la muestra total de 121 pacientes, en la que la supraestadificación, considerando metástasis y micrometástasis, fue de 26,4% y añadiendo las CTA ascendía a 30,05%.

5.B. COMPARACIÓN CON EL GRUPO CONTROL "A"

GRUPO CONTROL "A":

El grupo control "A" se compuso por pacientes con cáncer de colon en los que la pieza quirúrgica se analizó únicamente mediante el método histológico convencional. Por lo tanto, en los ganglios linfáticos identificados por los patólogos se realizó una única sección y tinción con hematoxilina eosina.

Se seleccionaron pacientes intervenidos desde febrero de 2005 hasta enero de 2009.

Los criterios de inclusión y exclusión fueron los mismos que se emplearon posteriormente para el grupo OSNA.

Los individuos de esta muestra conformaron un grupo control estadísticamente comparable a los pacientes de la muestra a estudio.

La mayoría de los cirujanos que participaron en los procedimientos quirúrgicos del grupo control "A" fueron los mismos que los del grupo OSNA, a excepción de dos que ya no se encontraban en la misma sección y fueron sustituidos por 2 nuevos cirujanos.

5.B.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y QUIRÚRGICOS

5.B.1.a. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:

El grupo control "A" lo conformaron 157 pacientes.

La edad media de la muestra fue de 69,06 años con una desviación estándar de 10,65.

De los 157 pacientes de la muestra, 99 fueron hombres (63,1%) y 58 mujeres (36,9%).

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

La distribución de los pacientes por edad ($p=0,15$) y sexo ($p=0,59$) en ambos grupos (grupo control "A" y grupo OSNA) fueron similares sin que se observasen diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 30. Comparación de la edad del grupo control "A" y el grupo OSNA.

	Origen	N	Media	Desviación estándar
EDAD	Grupo OSNA	120	67,83	11,222
	Control "A"	157	69,06	10,657

Tabla 31. Comparación en cuanto al sexo del grupo control "A" y el grupo OSNA.

			Técnica OSNA	Control "A"	
SEXO	Hombre	% dentro de origen	66,1%	63,1%	64,4%
	Mujer	% dentro de origen	33,9%	36,9%	35,6%
		% dentro de origen	100,0%	100,0%	100,0%

5.B.1.b. LOCALIZACIÓN TUMORAL Y TÉCNICAS QUIRÚRGICAS:

La localización de los tumores por orden decreciente fue la siguiente:

- Sigma (42,0%)
- Ciego (26,1%)
- Colon ascendente (11,5%)
- Ángulo hepático (10,2%)
- Colon transversal (5,7%)
- Ángulo esplénico (4,5%)

En cuanto a las técnicas quirúrgicas empleadas en la siguiente tabla se muestra el resumen:

Tabla 32. Técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "A".

Hemicolectomía derecha (ampliada)	82 (52,2%)
Resección segmentaria de colon transversal	2 (1,3%)
Resección segmentaria de ángulo esplénico	0 (0,00%)
Hemicolectomía izquierda	7 (4,5%)
Sigmoidectomía	65 (41,4%)
Colectomía total	1 (0,6%)

Cuando se agruparon las intervenciones quirúrgicas según la localización tumoral y la vascularización, se observó la siguiente distribución (se ha prescindido en esta tabla de la colectomía total y de la resección segmentaria de ángulo esplénico por presentar irrigación por ambas vías y por no existir casos en todos los grupos del estudio (grupo OSNA y grupos control):

Tabla 33. Técnicas quirúrgicas empleadas agrupadas por territorio vascular en el grupo control "A".

Localización dependiente de a. mesentérica superior: (hemicolectomía derecha+/-ampliada, resección segmentaria de colon transversal)	84 (53,5%)
Localización dependiente de a. mesentérica inferior: (hemicolectomía izquierda y sigmoidectomía)	72 (45,9%)

La vía de acceso fue abierta (laparotomía) en 81 (51,6%) pacientes y laparoscópica en 76 (48,4%).

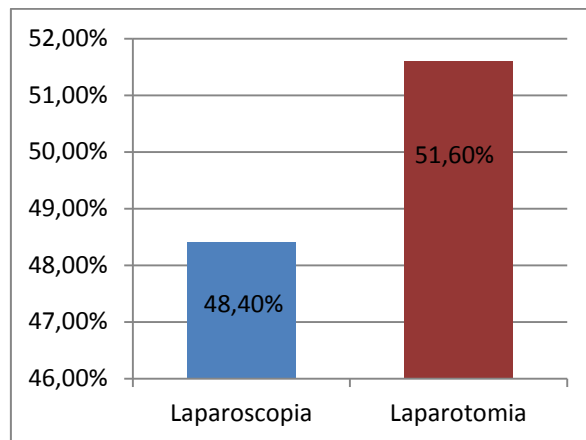


Figura 21. Gráfico de columnas. Vía de abordaje quirúrgico.

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

La localización tumoral mostró una distribución diferente, estadísticamente significativa ($p=0,043$) en ambos grupos; pero esto fue debido al alto número de variables y a que algunas de las localización eran muy poco frecuentes. Sin embargo, cuando se agruparon las localizaciones según la irrigación (dependiente de la arteria mesentérica superior o inferior) y los procesos quirúrgicos realizados, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,57$).

Tabla 34. Localización tumoral y técnica quirúrgica empleada. Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA.

Localización tumoral	Control "A"	Grupo OSNA	TOTAL
Dependiente de a. mesentérica superior	84 (53,5%)	58 (48%)	142
Dependiente de la a. mesentérica inferior	72 (45,9%)	57 (47,1%)	129

En cuanto a la vía de abordaje, se observó una importante diferencia entre ambos grupos ($p=0,001$)

- En el grupo control "A" 76 (48,4) pacientes se intervinieron por vía laparoscópica y 81 (51,6%) pacientes por vía laparotómica
- En el grupo OSNA, en 87 (73,3%) pacientes se empleó la vía laparoscópica y solo se utilizó el abordaje abierto en 32 (26,7%) de los 120 pacientes.

En 1 paciente no se registró la vía de abordaje.

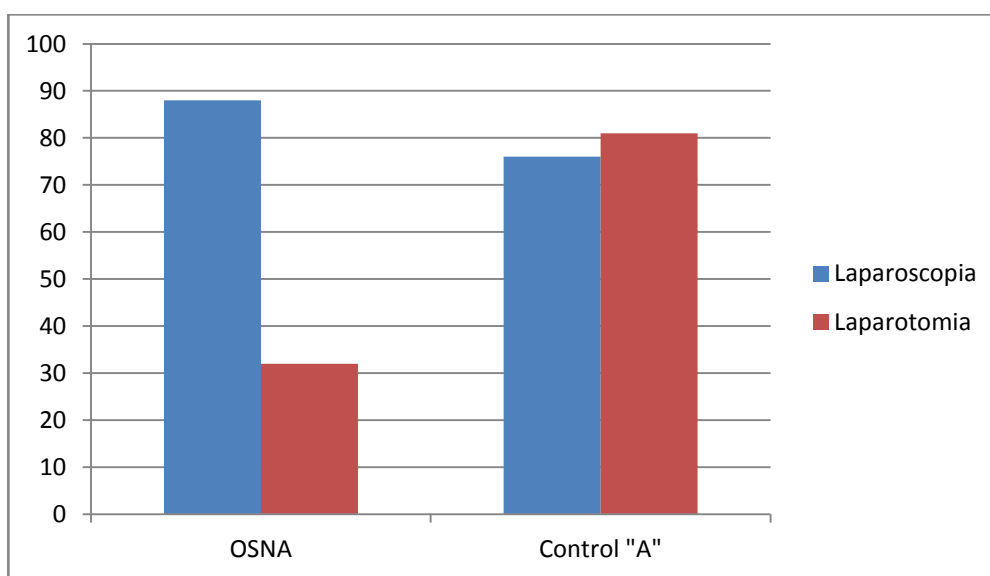


Figura 22. Gráfico de columnas. Comparación de la vía de abordaje del grupo control "A" y del grupo OSNA.

5.B.1.c. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS (Infiltración local "T"):

En el grupo control "A", el 9,6% de los pacientes presentó infiltración in situ (pTis), el 6,4% invasión de la submucosa (T1), el 20,4% de la muscularis propia (T2), el 56,7% infiltración de la subserosa/tejidos pericolónicos (T3) y el 7,0% afectación del peritoneo visceral (T4).

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

Aunque la distribución mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,029$), en los dos grupos se obtuvo predominio de infiltración tipo T2 y T3.

Así, se observó que en los estadios T2 y T3, los grupos eran homogéneos.

Tabla 35. Infiltración tumoral local (T). Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA.

Tabla cruzada					
P=0.029			origen		Total
			Grupo OSNA	Control "A"	
T	Tis	Recuento	5	15	20
		% dentro de origen	4,2%	9,6%	7,2%
	T1	Recuento	19	10	29
		% dentro de origen	16,0%	6,4%	10,5%
	T2	Recuento	25	32	57
		% dentro de origen	21,0%	20,4%	20,7%
	T3	Recuento	57	89	146
		% dentro de origen	47,9%	56,7%	52,9%
	T4	Recuento	13	11	24
		% dentro de origen	10,9%	7,0%	8,7%
Total	Recuento	119	157	276	
	% dentro de origen	100,0%	100,0%	100,0%	

5.B.2. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR

En el grupo control "A" se identificaron 2.206 ganglios (no se realizó búsqueda de GC por lo que todos ellos fueron ganglios no centinela).

La media de ganglios por paciente fue de 14,05 con una desviación estándar de 8,03.

El número mínimo de ganglios fue de 0 y el máximo de 40 con un rango de 40.

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

En el grupo control "A" se identificaron un total de 2.206 ganglios entre los 157 pacientes.

En el grupo OSNA se localizaron un total de 2.600 ganglios (GC + GnoC) entre los 121 pacientes. Estos se pueden desglosar en GC y GnoC :

- *En el grupo OSNA se localizaron 359 GC*
- *En el grupo OSNA se localizaron 2.241 GnoC*

En el grupo control "A" se identificó una media de 14,05 ganglios por pacientes mientras que en el grupo OSNA la media fue de 21,49. La diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

5.B.2.a. ANÁLISIS DE LA INFILTRACIÓN GANGLIONAR:

De los 2.206 ganglios del grupo control "A", 123 (5,57%) presentaron algún tipo de infiltración ganglionar (metástasis o micrometástasis).

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

En el grupo control "A" se localizaron 123 (5,57%) ganglios positivos entre los 2.206 ganglios.

En el grupo OSNA se localizaron 121 (4,65%) ganglios positivos (GC y GnoC) de 2.600 ganglios.

Por lo tanto, en el grupo control "A" se identificaron más ganglios positivos, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,14$). Esto pudo ser debido a que los pacientes del grupo control "A" presentaban mayor número de infiltración ganglionar por pacientes N+ (estadio III) como se analiza más adelante.

5.B.2.b. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE PACIENTES EN E-III.

SUPRAESTADIFICACIÓN:

En el grupo control "A", de los 157 pacientes que lo conformaban, 32 (20,4%) presentaron infiltración ganglionar y fueron diagnosticados de estadio III de la enfermedad mediante el método convencional.

Comparación del grupo control "A" con el grupo OSNA:

En el grupo control "A", de los 157 pacientes, 32 (20,4%) presentaron infiltración ganglionar.

En el grupo OSNA, de 121 pacientes, 57 (47,1%) presentaron infiltración ganglionar (en GC o GnoC).

Tabla 36. Pacientes con ganglios positivos (E-III). Comparación entre el grupo control "A" y el grupo OSNA.

P<0,001			origen	
			Grupo OSNA	Grupo control “A”
N_positivos_DIC	negativos	Recuento	64	125
		% dentro de origen	52,9%	79,6%
	positivos	Recuento	57	32
		% dentro de origen	47,1%	20,4%
Total		Recuento	121	157
		% dentro de origen	100.0%	100.0%

Se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre ambos resultados. A esta diferenciase se le denominó "supraestadificación entre grupos":

SUPRAESTADIFICACIÓN grupo OSNA frente a control "A" →

26,7%

$p<0,001$

Si solo se hubiesen comparado los pacientes del grupo OSNA diagnosticados de E-III mediante el estudio convencional (atendiendo únicamente a los GnoC), los resultados de pacientes en estadio III de ambos grupos hubiesen sido muy parecidos, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,95$):

- *En el grupo control "A", los pacientes con ganglios infiltrados (E-III) fueron 32 (20,4%) de 157.*
- *En el grupo OSNA los pacientes con GnoC+ fueron 25 (20,7%) de 121.*

Tabla 37. Comparación de pacientes en E-III en el grupo control "A" y el grupo OSNA: en la 1ª fila se han considerado únicamente los pacinetes diagnosticados de E-III por el hallazgo de infiltración en los GnoC. En la 2ª fila se han tenido en cuenta los pacientes diagnosticados de E-III por infiltración tanto en GnoC como en GC.

	<i>Grupo control "A"</i> <i>(% de pacientes)</i>	<i>Grupo OSNA</i> <i>(% de pacientes)</i>	<i>Diferencia</i> <i>(p-valor)</i>
<i>GnoC+</i>	20,4%	20,7%	0,3% ($p=0,95$)
<i>GC+ más GnoC+</i>	20,4%	47,1%	26,7% ($p<0,001$)

Estos datos demuestran que la diferencia obtenida entre el grupo control "A" y el grupo OSNA fue consecuencia de la búsqueda y estudio de los GC mediante el método OSNA.

Por lo tanto, la supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "A" se debió al estudio molecular de los GC.

5.B.3. PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS

5.B.3.a. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:

En el grupo control "A" conformado por 157 pacientes, se identificaron menos de 12 ganglios en 64 (40,8%) de los 157 pacientes.

La edad media de los pacientes con menos de 12 ganglios fue de 70,7 años.

La distribución hombres/ mujeres de la muestra fue de 37/27.

En cuanto a la intervención quirúrgica que se les practicó a los pacientes con menos de 12 ganglios: a 27 pacientes se les realizó una hemicolectomía derecha (+/-ampliada), a 1 resección segmentaria colon transverso, a 32 sigmoidectomía y a 4 pacientes hemicolectomía izquierda.

Cuando se valoró el porcentaje de las intervenciones quirúrgicas se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 38. Relación entre técnicas quirúrgicas empleadas y pacientes con menos de 12 ganglios en el grupo control "A".

Intervención quirúrgica	Intervenciones con <12 ganglios (% dentro del total de cada intervención)
Hemicolectomía derecha (ampliada)	27 (32,9% del total)
Resección segmentaria de colon transverso	1 (50% del total)
Sigmoidectomía	32 (49% del total)
Hemicolectomia izquierda	4 (57% del total)

En cuanto al tipo de infiltración local; En el grupo control "A", en pacientes con menos de 12 ganglios identificados, se observó que el 12,5% fueron Tis, el 9,4% presentó invasión de la submucosa (T1), el 26,6% invasión de la muscular propia (T2), el 45,3% infiltración a través de la muscularis propia hacia tejidos pericolónicos (T3) y en el 6,3% el tumor alcanzó y sobrepasó el peritoneo visceral (T4).

Estos datos demostraron un predominio de infiltración tipo T2 y T3.

Comparación del grupo control "A" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "A" el número de pacientes con menos de 12 ganglios fue de 64 (40,8%).

En el grupo OSNA se obtuvieron menos de 12 ganglios en 13 (10,7%) de los 121 pacientes.

Estos datos demostraron una diferencia estadísticamente significativamente ($p<0,001$).

También se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,018$) en la relación hombres-mujeres:

- En el grupo control "A" con menos de 12 ganglios, 37 (57,8%) fueron hombres y 27 (42,2%) mujeres.*
- En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, 12 fueron varones (93,03%) y 1 mujer (7,69%).*

En cuanto a las técnicas quirúrgicas empleadas:

- En el grupo control "A" se observó mayor número de pacientes con menos de 12 ganglios identificados en todas las intervenciones en comparación con el grupo OSNA (salvo en la resección segmentaria de ángulo esplénico por no haber ningún paciente en esta muestra con esta variable).*
- Tanto en el grupo control "A" como en el OSNA, los pacientes con más riesgo de obtener menos de 12 ganglios fueron aquellos con resecciones segmentarias:*

- *En el grupo control A la resección segmentaria de colon transverso se realizó en 2 pacientes y en uno (50%) no se alcanzaron los 12 ganglios identificados.*
- *En el grupo OSNA la resección segmentaria de ángulo esplénico se realizó en 6 pacientes, de los cuales en 3 (50%) no se alcanzó el mínimo de 12 ganglios identificados.*
- *Al fusionar las técnicas quirúrgicas empleadas según la vascularización y dejando aparte la resección segmentaria de ángulo esplénico (por presentar vascularización de ambos pedículos vasculares); en ambos grupos se observó mayor número de pacientes con menos de 12 ganglios identificados en las intervenciones que implicaban el pedículo vascular de la a. mesentérica inferior, siendo la sigmoidectomía la intervención que con mayor frecuencia presentó menos de 12 ganglios:*
 - *En el grupo control "A" las intervenciones dependientes de la a. mesentérica superior supusieron el 43,8% del total y las dependientes de la a. mesentérica inferior el 56,3% (principalmente a expensas de la sigmoidectomía).*
 - *En el grupo OSNA las intervenciones dependientes de la a. mesentérica superior fueron el 7,7% del total y las de la a. mesentérica inferior el 69,2% (también a expensas de la sigmoidectomía).*

Tabla 39. Comparación de las intervenciones realizadas en el grupo control "A" y en el grupo OSNA con menos de 12 ganglios identificados.

Intervención quirúrgica	Grupo control "A"	Grupo OSNA
Hemicolectomía derecha (ampliada)	27 (42,2%)	1 (7,7%)
Resección segmentaria c. transverso	1 (1,6%)	0 (0,0%)
Resección segmentaria de a. esplénico	0 (0,0%)	3 (23,1%)
Sigmoidectomía	32 (50,0%)	7 (53,8%)
Hemicolectomía izquierda	4 (6,3%)	2 (15,4%)

La infiltración local (T) mostró diferencias en la distribución ($p=0,018$):

Tabla 40. Comparación de la infiltración local (T) en el grupo control "A" y grupo OSNA con menos de 12 ganglios.

<i>Infiltración local (T)</i>	<i>Grupo control "A"</i>	<i>Grupo OSNA</i>
<i>Tis</i>	8 (12,5%)	2 (15,38%)
<i>T1</i>	6 (9,4%)	5 (38,46%)
<i>T2</i>	17 (26,6%)	3 (23,07%)
<i>T3</i>	29 (45,3%)	3 (23,07%)
<i>T4</i>	4 (6,3%)	0 (0,00%)

En el grupo control "A", 50 (78,2%) pacientes con menos de 12 ganglios presentaron infiltración T2-4 y solo 14 (21,8%) pacientes infiltración Tis-T1.

En el grupo OSNA 6 (46,14%) pacientes con menos de 12 ganglios presentaron una infiltración local T2-4 mientras que más de la mitad de los pacientes (53,86%) tuvieron una infiltración local precoz (Tis-T1)

5.B.3.b. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR:

Entre los 64 pacientes con menos de 12 ganglios aislados, se contabilizaron un total de 431 ganglios.

La media de ganglios por paciente fue de 6,73.

5.B.3.b.1. Infiltración ganglionar en pacientes con menos de 12 ganglios del grupo control "A":

De los 431 ganglios aislados en este grupo de pacientes, 25 (5,80%) presentaron infiltración con metástasis o micrometástasis.

Comparación del grupo control "A" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "A" con menos de 12 ganglios se contabilizaron 25 (5,80%) ganglios infiltrados.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, se identificaron un total de 10 ganglios infiltrados (9,90%) (considerando los GC y los GnoC).

La diferencia de ganglios infiltrados obtenidos en el grupo control "A" y el grupo OSNA no fue estadísticamente significativa ($p=0,13$).

Desglosando el total de los ganglios en GC y GnoC en el grupo OSNA; la diferencia entre los GnoC del grupo OSNA con menos de 12 ganglios y el grupo control "A" con menos de 12 ganglios, tampoco hubiese mostrado diferencias estadísticamente significativas, siendo el p-valor más cercano a 1 ($p=0,88$).

Tabla 41. Comparación de la infiltración ganglionar en el grupo control "A" y el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, desglosando los GC y los GnoC en el grupo OSNA.

	<i>N total (<12ganglios)</i>	<i>N+</i>	<i>%N+</i>
<i>Control "A"</i>	431	25	5,80%
<i>OSNA (solo GnoC)</i>	64	4	6,25%
<i>OSNA (GnoC + GC)</i>	101 (64GnoC+37GC)	10	9,90%

5.B.3.c. PACIENTES EN E-III CON MENOS DE 12 GANGLIOS.

SUPRAESTADIFICACIÓN EN PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS:

De los 64 pacientes con menos de 12 ganglios aislados en el grupo control "A", 11 (17,18%) presentaron infiltración ganglionar.

Comparación del grupo control "A" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "A" con menos de 12 ganglios, 11 (17,18%) de los 64 pacientes presentaron infiltración ganglionar.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, 5 (38,46%) de los 13 pacientes presentaron infiltración ganglionar (considerando GC y GnoC).

La diferencia obtenida entre ambos grupos no es estadísticamente significativa ($p=0,08$). Esta diferencia se ha considerado supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional en pacientes con menos de 12 ganglios:

Supraestadificación (<12 ganglios):

38,46 – 17,18 →

21,28% $p=0,08$

Si en el grupo OSNA con menos de 12 ganglios solo se hubiesen tenido en cuenta los pacientes con GnoC infiltrados (2 pacientes (15,38%)) los datos se hubiesen aproximado a los obtenidos en el grupo control "A" (17,18%). ($p=0,87$)

5.C. COMPARACIÓN CON EL GRUPO CONTROL "B"

GRUPO CONTROL "B":

El grupo control "B" se conformó por pacientes con adenocarcinoma de colon en los que se realizó la técnica del ganglio centinela ex vivo y con azul de metileno. Los ganglios centinela fueron estudiados mediante técnicas intensivas con 6 cortes y tinción con hematoxilina eosina e inmunohistoquímica, mientras que el resto de la pieza quirúrgica y los ganglios se estudiaron con técnicas convencionales.

La muestra se compuso por pacientes diagnosticados de cáncer de colon e intervenidos de forma programada en el HUA desde el año 2009 hasta el año 2013. Los criterios de inclusión y exclusión fueron los mismos que se emplearon posteriormente para el estudio OSNA.

Los cirujanos que participaron en los procedimientos quirúrgicos y en la búsqueda ganglionar fueron los mismos que participaron en las intervenciones quirúrgicas del grupo control "A".

5.C.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y QUIRÚRGICOS

5.C.1.a. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:

El grupo control B lo conformaron 277 pacientes.

La media de edad de los pacientes fue de 68,88 años con una desviación estándar de 10,11. El paciente más joven tenía 41 años y el más mayor 90.

La distribución hombres/mujeres fue de 187 hombres frente a 90 mujeres.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

La distribución de los pacientes por edad y sexo en ambos estudios fueron similares sin diferencias significativas ($p=0,37$ y $p=0,87$ respectivamente).

En los dos grupos la media de edad se encontraba entre los 67-68 años con una desviación estándar de 10-11 años.

En cuanto al sexo, en ambos estudios el porcentaje de varones fue mayor con una diferencia de aproximada de 2/1.

Tabla 42. Comparación en cuanto al sexo del grupo control "B" y el grupo OSNA.

			origen		Total
			OSNA	Control "B"	
SEXO	Hombre	Recuento	80	187	267
		% dentro de origen	66,1%	67,5%	67,1%
	Mujer	Recuento	41	90	131
		% dentro de origen	33,9%	32,5%	32,9%
Total		Recuento	121	277	398
		% dentro de origen	100,0%	100,0%	100,0%

5.C.1.b. LOCALIZACIÓN TUMORAL Y TÉCNICAS QUIRÚRGICAS:

En orden descendente, las localizaciones tumorales más frecuentes fueron la siguientes:

- Sigma: 120 pacientes (43,3%)
- Ciego: 49 pacientes (17,7%)
- Colon ascendente: 36 pacientes (13,0%)
- Ángulo hepático del colon: 5 pacientes (9,0%)
- Colon transversal: 24 pacientes (8,7%)
- Ángulo esplénico del colon: 15 pacientes (5,4%)
- Colon descendente: 8 pacientes (2,9%)

Resumen de las técnicas quirúrgicas empleadas:

Tabla 43. Técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "B".

Intervención quirúrgica	Frecuencia (%)
Hemicolectomía derecha (ampliada)	120 (43,3%)
Resección segmentaria de c. transversal	3 (1,1%)
Resección segmentaria de ángulo esplénico	4 (1,4%)
Hemicolectomía izquierda	21 (7,6%)
Sigmoidectomía	109 (39,4%)
Colectomía total	20 (7,2%)

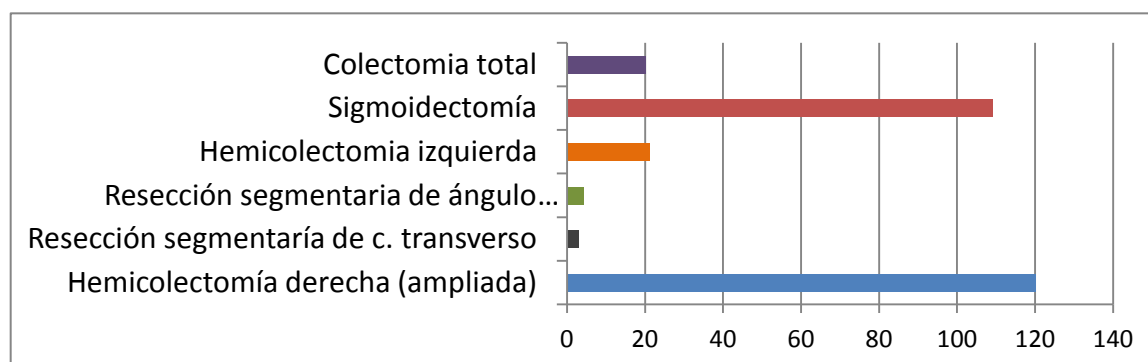


Figura 23. Gráfico de columnas. Técnica quirúrgica empleada.

De los 277 pacientes, 174 (62,8%) se intervinieron por vía laparoscópica.

El resto de los 103 pacientes (37,2%) se intervinieron por vía abierta (laparotomía).

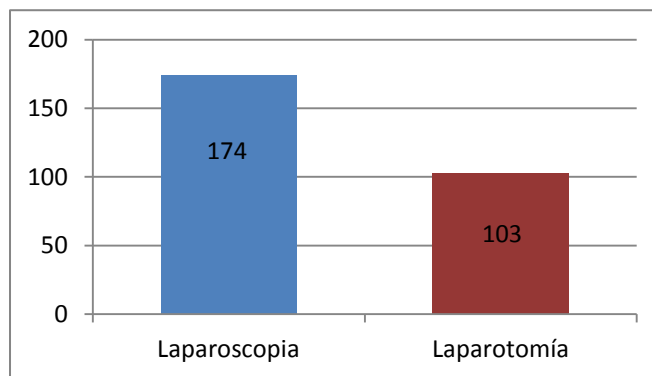


Figura 24. Gráfico de columnas. Cirugía laparoscópica versus laparotómica en el grupo control "B".

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

Como se observa en la tabla 43, las técnicas quirúrgicas empleadas en ambos estudios mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,004$). Sin embargo, en los dos grupos las técnicas más empleadas fueron la hemicolectomía derecha y la sigmoidectomía.

Cuando se agruparon las técnicas quirúrgicas por territorios vasculares descartando las resección de ángulo esplénico y las colectomías totales (tabla 45) no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,76$).

Tabla 44. Técnicas quirúrgicas empleadas. Comparación entre el grupo control "B" y el grupo OSNA.

			origen		Total
			OSNA	Control "B"	
Intervención	hemicolectomía derecha (ampliada)	Recuento	55	120	175
		% dentro de origen	45,5%	43,3%	44,0%
	Resección segmentaria de colon transverso	Recuento	3	3	6
		% dentro de origen	2,5%	1,1%	1,5%
	Resección segmentada de ángulo esplénico	Recuento	6	4	10
		% dentro de origen	5,0%	1,4%	2,5%
	Hemicolectomía izquierda	Recuento	10	21	31
		% dentro de origen	8,3%	7,6%	7,8%
	Sigmoidectomía	Recuento	47	109	156
		% dentro de origen	38,8%	39,4%	39,2%
	Colectomía total	Recuento	0	20	20
		% dentro de origen	0,0%	7,2%	5,0%
Total	Recuento	121	277	398	
	% dentro de origen	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla 45. Comparación de técnicas quirúrgicas empleadas en el grupo control "B" y grupo OSNA al agrupar las técnicas por territorios vasculares.

	Control "B"	OSNA
Localización dependiente de a. mesentérica superior: (hemicolectomía derecha+/-ampliada, resección segmentaria de colon transverso)	123 (44,4%)	58 (48%)
Localización dependiente de a. mesentérica inferior: (hemicolectomía izquierda y sigmoidectomía)	130 (47%)	57 (47,1%)

En los pacientes del grupo control "B" tratados entre los años 2009 y 2013, el 62,8% se intervino por vía laparoscópica.

En el grupo OSNA, con pacientes intervenidos desde 2014 hasta 2016, el 73,3% se intervino por vía laparoscópica.

La vía de abordaje mostró diferencias estadísticamente significativa ($p=0,042$) entre el grupo control "B" y el grupo OSNA a favor del aumento del uso de la vía laparoscópica en los últimos años.

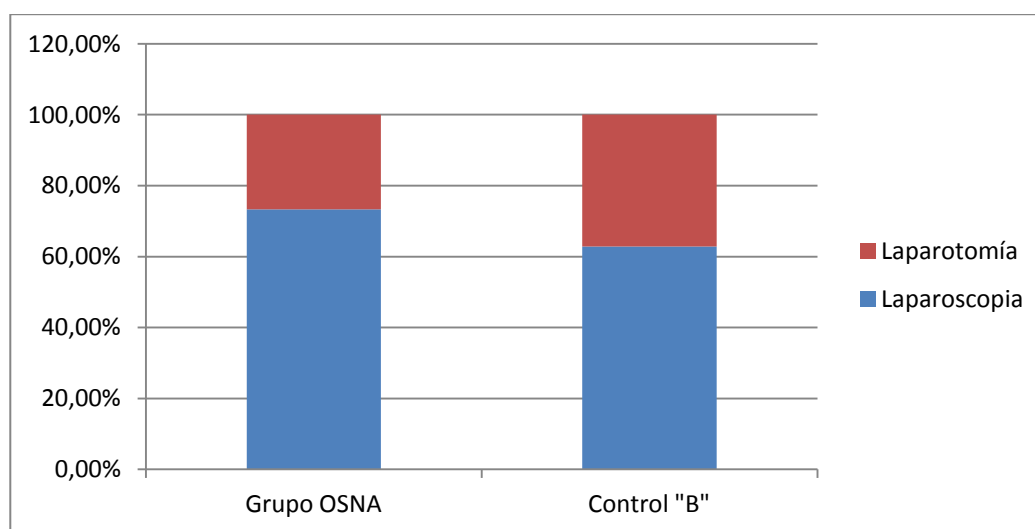


Figura 25. Gráfico de columnas. Vía de abordaje quirúrgico en el grupo OSNA y el grupo control "B".

5.C.1.c. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS (Infiltración local "T"):

De los 277 pacientes del grupo control "B", 19 presentaron infiltración Tis, 24 afectación de la submucosa (T1), 41 infiltración de la muscular propia (T2), 163 pacientes tenían infiltración T3 y 30 pacientes T4.

Tabla 46. Infiltración local (T) en el grupo control "B".

Infiltración local "T"	Frecuencia (Porcentaje)
Tis	19 (6,9%)
T1	24 (8,7%)
T2	41 (14,8%)
T3	163 (58,8%)
T4	30 (10,8%)

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

Los datos histológicos de la infiltración local (T) en el grupo control "B" y el grupo OSNA, no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,067$). En ambos grupos el porcentaje más alto se encontró en pacientes con infiltración pT3. En el grupo control "B" el 58,8% de los pacientes presentó infiltración pT3 y en el grupo OSNA el 47,9% de los casos.

Tabla 47. Comparación de la infiltración local (T) en el grupo control "B" y el grupo OSNA.

Infiltración local "T"	Control "B"	Grpo OSNA
Tis	19 (6,9%)	5 (4,2%)
T1	24 (8,7%)	19 (16%)
T2	41 (14,8%)	25 (21%)
T3	163 (58,8%)	57 (47,9%)
T4	30 (10,8%)	13 (10,9%)

5.C.2. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR

En el grupo control "B" se identificaron un total de 5.680 ganglios (GC y GnoC).

La media de ganglios por paciente fue de 20,51 con una desviación estándar 11,24.

El número mínimo de ganglios por paciente fue de 2 y el máximo de 76.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" la media de ganglios por pacientes fue de 20,51.

En el grupo OSNA la media de ganglios por paciente fue de 21,49.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas ($p=0,37$).

5.C.2.a. GANGLIOS CENTINELA:

En el grupo control "B" se identificaron un total de 771 ganglios centinela.

La media de GC por paciente fue de 2,78 con una desviación estándar de 1,2.

El rango de GC localizados por paciente fue de 0 a 6.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" la media de GC por paciente fue de 2,78 con una desviación estándar de 1,2.

En el grupo OSNA la media fue de 2,97 con una desviación estándar de 1,02.

La media de GC por paciente fue similar en ambos grupos sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,39$).

5.C.2.a.1. Infiltración de los ganglios centinela.

Tipo de infiltración ganglionar:

En el grupo control "B", de los 771 GC, 117 (15,17%) presentaron infiltración metastásica o micrometastásica. Si se hubiesen añadido los GC con infiltración por CTA el número de GC afectados hubiese ascendido a 143 (18,54%).

De los 117 GC infiltrados, 87 (74,35%) presentaron infiltración metastásica (infiltración de >2mm) y 30 (25,64%) micrometastásica (infiltración de 0,2-2mm).

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B", el 15,17% de los GC presentaron infiltración ganglionar.

En el grupo OSNA, el 19,22% de los GC presentaron infiltración ganglionar.

La diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,088$).

Considerando los GC con CTA el porcentaje hubiese ascendido a 18,54% en el grupo control "B" y a 23,39% en el grupo OSNA.

En cuanto al tipo de infiltración ganglionar metastásica y micrometastásica, sí se observaron diferencias significativas ($p<0,05$). En el grupo control "B" los GC positivos lo fueron principalmente a expensas de las metástasis mientras que en el grupo OSNA lo fueron a expensas de las micrometástasis:

Tabla 48. Comparación de los GC infiltrados por metástasis o micrometástasis en el grupo control "B" y el grupo OSNA.

GC+	Metástasis	Micrometástasis
Grupo Control "B" (117 GC+)	87 (74,35%)	30 (25,64%)
Grupo OSNA (69 GC+)	20 (28,98%)	49 (71,01%)

5.C.2.a.2. Pacientes con infiltración de los GC:

De los 277 pacientes del grupo control "B", los ganglios centinela positivos para metástasis y micrometástasis correspondieron a 73 (26,4%) pacientes.

Si se hubiesen considerado positivos los GC con células tumorales aisladas, el número de pacientes con GC afectados hubiese ascendido a 85 (30,9%).

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" los GC+ (mtx y micro) correspondieron a 73 (26,4%) pacientes.

En el grupo OSNA los GC+ se observaron en 48 (39,7%) individuos.

Esta diferencia fue estadísticamente significativa a favor del método OSNA ($p=0,008$).

Cuando se consideraron las células tumorales aisladas, en el grupo control "B" el porcentaje ascendió hasta 30,9% y en el grupo OSNA hasta 45,5% ($p=0,005$).

5.C.2.b. GANGLIOS NO CENTINELA:

En el grupo control "B" se identificaron 4.909 ganglios no centinela.

La media de GnoC por paciente fue de 17,71 con una desviación estándar de 10,95.

El número mínimo de ganglios no centinela fue de 0 y el máximo de 72.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" la media de GnoC por paciente fue de 17,71.

En el grupo OSNA la media de GnoC por pacientes fue de 18,52 con una desviación estándar de 9,47.

No se obserbaron diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,24$).

5.C.2.b.1. Infiltración de los ganglios no centinela:

De los 4.909 GnoC, 167 (3,40%) presentaron algún tipo de infiltración ganglionar mediante el método convencional con hematoxilina-eosina.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

La infiltración de los GnoC en el grupo control "B" fue del 3,40%.

En el grupo OSNA la infiltración de los GnoC fue de 2,32%.

La diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,014$). Esta diferencia pudo ser debida al hallazgo de mas ganglios infiltrados por cada paciente en E-III; ya que en el siguiente apartado se puede observar que la diferencia de pacientes con GnoC positivos en el grupo control B y el grupo OSNA no fue significativa.

5.C.2.b.2. Pacientes con infiltración de los GnoC:

De los 277 pacientes que conformaron el grupo control "B", 44 (15,88%) presentaron infiltración ganglionar diagnosticado por el método de estudio convencional.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B", 44 (15,88%) pacientes fueron diagnosticados de E-III mediante el estudio convencional de los GnoC.

En el grupo OSNA, 25 (20,7%) pacientes fueron diagnosticados de E-III mediante el estudio convencional de los GnoC.

Esta diferencia porcentual no fue estadísticamente significativa ($p=0,24$).

5.C.2.c. COMPARACIÓN ENTRE LOS GC Y LOS GNOC EN EL GRUPO CONTROL "B":

En el grupo control "B", de los 4.909 GnoC, 167 (3,40%) presentaron infiltración ganglionar mediante el método convencional.

En este mismo grupo control, de los 771 GC, 117 (15,17%) fueron positivos para metástasis y/o micrometástasis.

La diferencia entre la infiltración de los GnoC y los GC fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

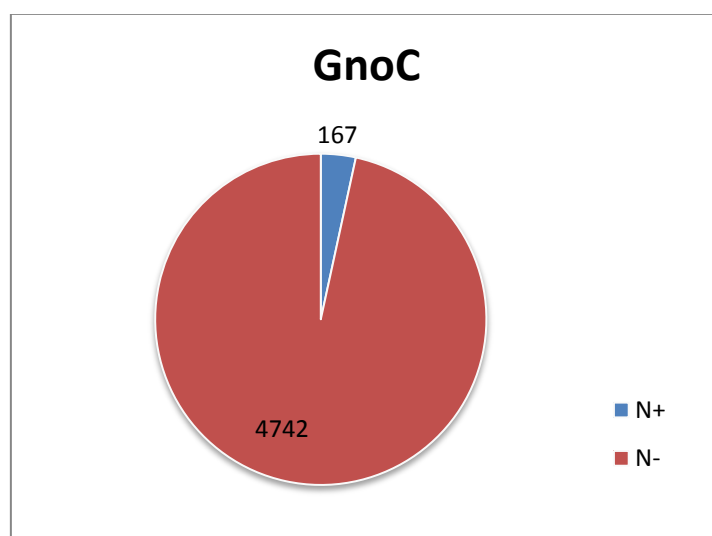


Figura 26. Gráfico circular. GnoC infiltrados y no infiltrados en el grupo control "B".

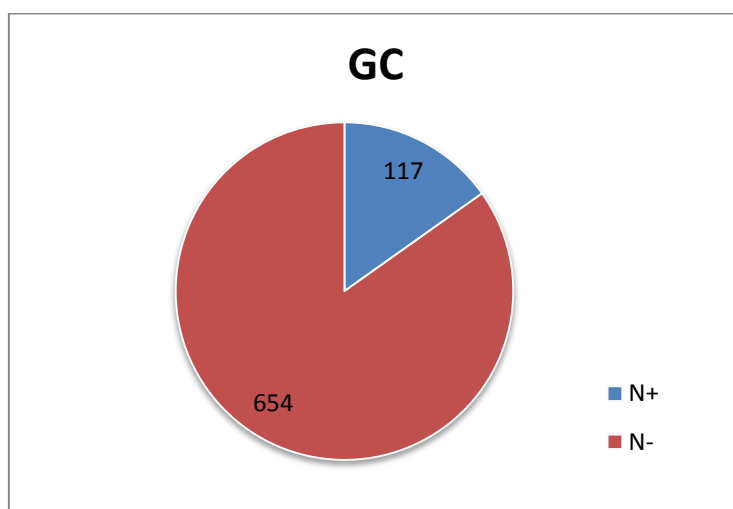


Figura 27. Gráfico circular. GC infiltrados y no infiltrados en el grupo control "B".

5.C.3. PACIENTES EN ESTADIO III DEL GRUPO CONTROL "B"

5.C.3.a. PACIENTES EN ESTADIO III SEGÚN EL ESTUDIO DE LOS GC Y LOS GNOC EN EL GRUPO CONTROL "B":

El estudio conjunto de los GC mediante el método intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ y de los GnoC mediante el método convencional, identificó entre los 277 pacientes que conformaban el grupo control "B", 87 (31,4%) en E-III del CC.

El estudio intensivo de los GC identificó 73 (26,4%) pacientes en E-III.

El estudio convencional de los GnoC identificó 44 (15,88%) pacientes en E-III.

La comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA se explica en los siguientes apartados junto a la valoración de la supraestadificación.

**5.C.3.b. SUPRAESTADIFICACIÓN DENTRO DE LA MUESTRA (GRUPO CONTROL "B").
PACIENTES CON INFILTRACIÓN GANGLIONAR (E-III) ÚNICAMENTE DE LOS GC:**

5.C.3.b.1. Supraestadificación del grupo control "B":

De los 277 pacientes del grupo control "B", 43 (15,52%) presentaron positividad para metástasis y/o micrometástasis en los GC, con el resto de los GnoC negativos.

Estos datos demostraron que el 15,52% de los pacientes diagnosticados de E-III, lo fueron gracias al estudio intensivo de los GC.

SUPRAESTADIFICACIÓN grupo control "B" →

15,5%

Entre los 277 pacientes del grupo control "B", hubo 9 (3,24%), que únicamente presentaron afectación de los GC con CTA. Si se hubiesen añadido a los resultados de supraestadificación, esta hubiese alcanzado el 18,77%, con 52 pacientes.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" los pacientes que únicamente presentaron GC+ (con resto de GnoC negativos) fueron 43 (15,5%) del total de 277 pacientes.

En el grupo OSNA los pacientes con GC+ con resto de GnoC negativos fueron 32 (26,45%).

Se observó una diferencia de supraestadificación entre ambas técnicas de estudio de 10,95%. La diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,01$).

Diferencia de la SUPRAESTADIFICACIÓN

del grupo OSNA frente al control "B" →

OSNA → 26,45%

Control "B" → 15,5%

Diferencia → 10,95%

$p<0,01$

5.C.3.b.2. Tipo de infiltración de los GC en los pacientes supraestadificados:

En el grupo control "B", en los 43 pacientes con infiltración únicamente de los GC se observó lo siguiente:

- En 29 (67,44%) pacientes la infiltración fue metastásica.
- En 14 (32,55%) pacientes la infiltración fue micrometastásica.

(5 pacientes presentaron tanto infiltración metastásica como micrometastásica en diferentes GC al mismo tiempo. Estos fueron clasificados entre los pacientes con infiltración metastásica teniendo en cuenta siempre, en primer lugar, el implante de mayor tamaño).

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" la mayoría de los GC infiltrados fueron por infiltración metastásica (67,44%) mientras que en el grupo OSNA, el 75% (24 pacientes de 32) presentaron GC como único ganglio positivo a expensas de identificación de micrometástasis ($p < 0,01$).

**5.C.3.c. SUPRAESTADIFICACIÓN DEL GRUPO OSNA FRENTE AL GRUPO CONTROL "B":
PACIENTES CON INFILTRACIÓN GANGLIONAR TANTO DE GC COMO DE GNOG:**

En el grupo control "B" se identificaron un total de 87 (31,4%) pacientes en estadio III gracias al estudio intensivo de los GC y al estudio convencional de los GnoC.

El estudio intensivo de los GC identificó 73 (26,4%) pacientes en E-III.

El estudio convencional de los GnoC identificó 44 (15,88%) pacientes en E-III.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" se identificaron un total de 87 (31,4%) pacientes en E-III (mediante el estudio de los GC con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ y el estudio de los GnoC con el método convencional).

En el grupo OSNA hubo un total de 57 (47,1%) pacientes en estadio III (al estudiar los GC con técnicas moleculares y los GnoC con técnica convencional).

La diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($P=0,003$).

Total de pacientes en E-III (GC + Gnoc):

Grupo control "B" → 31,4%

Grupo OSNA → 47,1%

Diferencia 47,1% - 31,4% = 15,7% $p=0,003$

5.C.3.c.1. Supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "B":

La diferencia obtenida entre los pacientes en E-III de ambos grupos (tanto los identificados mediante el estudio de los GC como los diagnosticados mediante el estudio convencional de los GnoC) fue lo que se consideró la supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "B" teniendo en cuenta el estudio intensivo de los GC y el convencional de los GnoC.

Supraestadificación OSNA frente a control "B" → 15,7%

5.C.4. PACIENTES DEL GRUPO CONTROL "B" CON MENOS DE 12 GANGLIOS

5.C.4.a. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y QUIRÚRGICOS:

En el grupo control "B" conformado por 277 participantes, se cuantificaron 60 (21,7%) pacientes con menos de 12 ganglios identificados.

La media de edad de los pacientes con menos de 12 ganglios fue de 70,06 años.

La distribución hombres/ mujeres de la muestra fue de 3/1.

En cuanto a las intervenciones quirúrgicas a las que se sometieron los pacientes con menos de 12 ganglios: a 21 pacientes se les realizó una hemicolectomía derecha (±ampliada), a 4 resección segmentaria de ángulo esplénico o colon transverso, a 30 sigmoidectomía, a 4 pacientes hemicolectomía izquierda y a 1 paciente una colectomía total.

Cuando se valoró el porcentaje de las intervenciones quirúrgicas de cada localización se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 49. Relación entre técnicas quirúrgicas empleadas y porcentaje de pacientes con menos de 12 ganglios en el grupo control "B".

Intervención quirúrgica	<12 ganglios	Nº intervenciones por localización	% pacientes <12 ganglios por técnica quirúrgica
Hemicolectomía derecha (ampliada)	21	120	17,5%
Resección segmentaria de ángulo esplénico/colon transverso	4	7	57,14%
Sigmoidectomía	30	109	27,52%
Hemicolectomía izquierda	4	21	19,04%
Colectomía total	1	20	5%

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo

OSNA:

El número de pacientes con menos de 12 ganglios identificados fue estadísticamente menor en el grupo OSNA con 13 pacientes (10,7%) ($p=0,009$).

La media de edad fue de 64 años en el grupo OSNA y 70 en el grupo control "B" ($p=0,014$) siendo los pacientes con menos de 12 ganglios identificados más jóvenes en el grupo OSNA.

En los dos grupos fue más habitual el hallazgo inferior a 12 ganglios en varones con respecto a mujeres ($p=0,064$).

En ambos grupos la intervención quirúrgica que con mayor prevalencia obtuvo menos de 12 ganglios fue la resección segmentaria de ángulo esplénico.

Tabla 50. Comparación de las técnicas quirúrgicas empleadas en los grupos control "B" y OSNA con menos de 12 ganglios identificados.

Intervención quirúrgica	Control "B" <12 ganglios (% dentro de cada intervención)	Grupo OSNA <12 ganglios (% dentro de cada intervención)
Hemicolectomía derecha (ampliada)	21 (17,5%)	1 (1,8%)
Resección segmentaria de c. transverso/a. esplénico	4 (57,14%)	3 (50,0%)
Sigmoidectomía	30 (27,52%)	7 (14,9%)
Hemicolectomía izquierda	4 (19,04%)	2 (20,0%)
Hemicolectomía izquierda	1 (5%)	0 (0,0%)

5.C.4.b. ANÁLISIS DEL ESTUDIO GANGLIONAR:

5.C.4.b.1. Ganglios centinela:

En el grupo control "B", entre los 60 pacientes que conformaban el grupo con menos de 12 ganglios, en 4 pacientes hubo fallo en la técnica de búsqueda del ganglio centinela.

Se obtuvieron un total de 124 GC con una media de 2,28 GC por paciente.

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, en 4 (6,66%) pacientes hubo fallo en la técnica de búsqueda de los GC.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, no hubo ningun fallo (0,00%) en la técnica de búsqueda ganglionar.

La media de GC por pacientes del grupo control "B" con menos de 12 ganglios fue de 2,28.

La media de GC por paciente en el subgrupo de pacientes con menos de 12 ganglios del grupo OSNA fue de 2,85.

La diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,038$).

-Infiltración de los ganglios centinela. Tipo de infiltración ganglionar:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios identificados, hubo 124 GC. De estos 124 GC, 16 (12,90%) presentaron infiltración para metástasis y/o micrometástasis.

De los 16 GC infiltrados, 13 (81,25%) GC infiltrados lo eran para metástasis y 3 (18,75%) para micrometástasis. Si se hubieran considerado las células tumorales aisladas, se hubieran contabilizado 17 GC afectados.

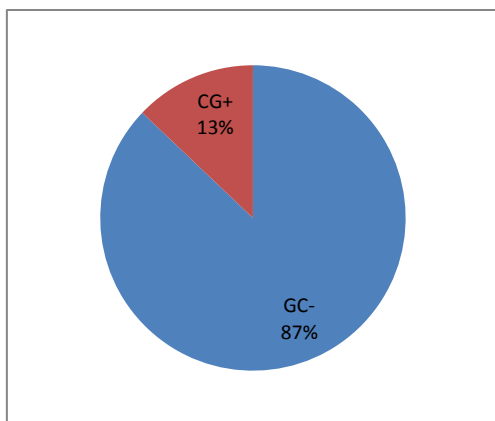


Figura 29. Gráfico circular. GC infiltrados y no infiltrados.

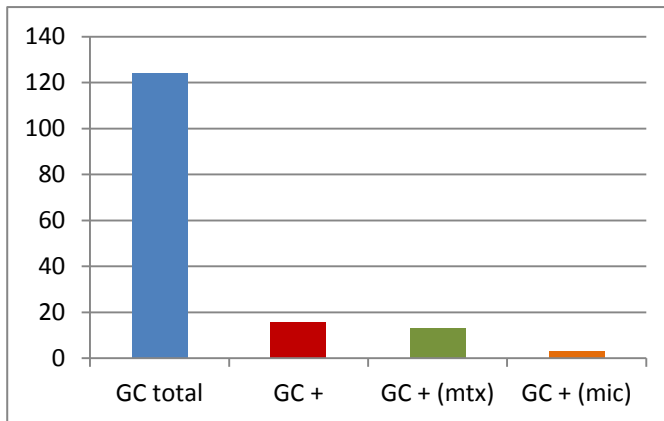


Figura 28. Gráfico de columnas. Tipo de infiltración de los GC.

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, 16 (12,90%) de los 124 GC identificados, presentaron infiltración ganglionar.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, 6 (16,21%) de los 37 GC identificados presentaron infiltración ganglionar.

La diferencia entre ambos grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,60$).

En cuanto al tipo de infiltración de los GC; en el grupo control "B", de los 16 GC infiltrados, 13 (81,25%) lo fueron para metástasis y 3 (18,75%) para micrometástasis.

En el grupo OSNA, entre los 6 GC infiltrados, 1 (16,66%) lo fue con afectación metastásica y 5 (83,33%) con infiltración micrometastásica.

La diferencia fue significativa ($p=0,005$) con mayor número de micrometástasis halladas mediante el método OSNA.

-Pacientes con infiltración de los GC:

De los 60 pacientes que conformaron el grupo control "B" con menos de 12 ganglios identificados, 14 (23,33%) presentaron GC infiltrados con metástasis y/o micrometástasis.

* (El GC infiltrado con CTA se daba conjuntamente en un paciente que ya presentaba otros GC infiltrado con metástasis).

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, el estudio de los GC identificó 14 (23,33%) pacientes en E-III.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, el estudio molecular de los GC identificó 4 (30,76%) pacientes en E-III del CC.

La diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,57$).

5.C.4.b.2. Ganglios no centinela:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, se contabilizaron 381 GnoC entre los 60 pacientes que conformaron el grupo.

La media de GnoC por paciente fue de 6,35.

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

La media de GnoC en el grupo control "B" con menos de 12 ganglios fue de 6,35.

La media de GnoC en el grupo OSNA con menos de 12 ganglios fue de 4,92.

La diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,03$).

-Infiltración de los ganglios no centinela. Tipo de infiltración:

De los 381 GnoC, 4 (1,04%) presentaron infiltración ganglionar.

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo

OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, 4 (1,04%) de los 381 GnoC fueron positivos.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, 4 (6,25%) de los 64 GnoC fueron positivos.

La diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,003$).

-Pacientes con infiltración de los GnoC:

De los 60 pacientes con menos de 12 ganglios del grupo control "B", 3 (5,0%) presentaron GnoC con infiltración ganglionar.

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo

OSNA:

El estudio convencional de los GnoC del grupo control "B" con menos de 12 ganglios, diagnosticó a 3 (5,0%) pacientes en E-III del CC.

El estudio convencional de los GnoC del grupo OSNA con menos de 12 ganglios diagnosticó 2 (15,38%) pacientes de 13 que conformaban el grupo en E-III.

La diferencia no fue significativa ($p=0,17$)

5.C.4.c. SUPRAESTADIFICACIÓN EN PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS

5.C.4.c.1. Pacientes con GC positivo como único ganglio infiltrado. Supraestadificación:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, 13 pacientes (21,66%) presentaron infiltración ganglionar en los GC con resto de GnoC negativos (supraestadificación).

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

La supraestadificación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios fue del 21,66%.

La supraestadificación del grupo OSNA con menos de 12 ganglios fue de 23,07%. La diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,91$).

5.C.4.c.2. Tipo de infiltración de los GC en los pacientes supraestadificados:

De los 13 pacientes que únicamente presentaron infiltración de GC en el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, 10 (76,92%) presentaban infiltración metastásica y 3 (23,07%) micrometastásica. (Uno de los 10 pacientes con infiltración metastásica presentaba al mismo tiempo otro GC con infiltración micrometastásica pero se ha clasificado teniendo en cuenta el implante de mayor tamaño).

Comparación del grupo control "B" con menos de 12 ganglios con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, el 76,92% de los pacientes supraestadificados lo fueron por el hallazgo de infiltración de metástasis y el 23,07% por el hallazgo de micrometástasis.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios, los 3 pacientes supraestadificados lo fueron a expensas de micrometástasis (100% de los pacientes supraestadificados).

Estos resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,03$) entre las dos técnicas de estudio intensivo ganglionar.

5.C.4.c.3 Pacientes con infiltración ganglionar (estadio III) tanto de ganglios centinela como de ganglios no centinela.

Supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "B" en pacientes con menos de 12 ganglios:

-Pacientes con infiltración ganglionar (Estadio III) tanto de GC como de GnoC:

De los 60 pacientes que conformaron el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, se identificaron un total de 16 (26,66%) pacientes con ganglios positivos (GC y GnoC). Por lo tanto en este grupo, el 26,66% de los pacientes correspondió al E-III del CC.

El estudio intensivo de los GC identificó 14 pacientes (23,33%) en E-III.

El estudio convencional de los GnoC identificó 3 pacientes (5,00%) en E-III.

Comparación del grupo control "B" con el grupo OSNA:

En el grupo control "B" con menos de 12 ganglios se diagnosticaron un total de 16 (26,66%) pacientes en E-III.

En el grupo OSNA con menos de 12 ganglios hubo un total de 5 (38,46%) pacientes en E-III.

La diferencia entre el grupo control "B" y el grupo OSNA no fue estadísticamente significativa ($p=0,39$).

Total de pacientes en E-III (GC + Gnoc) con <de 12 ganglios:

Grupo control "B" → 22,66%

Grupo OSNA → 38,46%

$p=0,39$

-Supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "B" en pacientes con menos de 12 ganglios:

La diferencia obtenida entre los pacientes en E-III de ambos grupos (tanto los identificados mediante el estudio de los GC como los diagnosticados mediante el estudio convencional de los GnoC) es lo que se consideró la supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "B" teniendo en cuenta el estudio intensivo de los GC y el convencional de los GnoC.

Supraestadificación OSNA frente a control "B" en pacientes con

<12 ganglios →

38,46% - 26,66% → 11,8% ($p=0,39$)

6.DISCUSIÓN

6.A. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON

6.A.1. IMPORTANCIA DE LA INFILTRACIÓN GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON

La correcta estadificación de los pacientes con carcinoma colorrectal es el factor pronóstico más importante para poder ofrecer el tratamiento más adecuado a cada individuo.

En el cáncer de colon sin metástasis a distancia, el tratamiento principal siempre es la resección quirúrgica oncológica. En los pacientes con estadios precoces de la enfermedad (E-0, I y II) el tratamiento finalizará con la cirugía salvo que presenten factores de mal pronóstico^{298 299 300 301 302 303 304} por los que sea recomendable completar el tratamiento con quimioterapia (afectación perineural, infiltración linfovascular, bajo grado de diferenciación, tumores perforados y/o oclusivos, márgenes afectos o indeterminados, menos de 12 ganglios localizados y comorbilidades asociadas a los pacientes). Sin embargo, en aquellos individuos en los que exista afectación ganglionar (Estadio III), estará indicado el tratamiento adyuvante, salvo que el paciente padezca algún antecedente que lo contraindique.³⁰⁵

La presencia de afectación ganglionar no identificada durante el estudio de la pieza quirúrgica conlleva a error en la estadificación, infraestadificando a pacientes en estadios iniciales de la enfermedad cuando realmente se encuentran en estadios más avanzados. Esta situación puede provocar un mal planteamiento terapéutico del paciente que no será sometido a quimioterapia adyuvante y por lo tanto, se estará

²⁹⁸ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society.

²⁹⁹ Ueno et al., "Risk Factors for an Adverse Outcome in Early Invasive Colorectal Carcinoma."

³⁰⁰ Seitz et al., "Is Endoscopic Polypectomy an Adequate Therapy for Malignant Colorectal Adenomas?"

³⁰¹ Morson et al., "Histopathology and Prognosis of Malignant Colorectal Polyps Treated by Endoscopic Polypectomy."

³⁰² Haggitt et al., "Prognostic Factors in Colorectal Carcinomas Arising in Adenomas."

³⁰³ Netzer et al., "Significance of Histologic Criteria for the Management of Patients with Malignant Colorectal Polyps and Polypectomy."

³⁰⁴ Carolyn C. Compton, "Optimal Pathologic Staging: Defining Stage II Disease," *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 13, no. 22 Pt 2 (November 15, 2007): 6862s–70, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1398>.

³⁰⁵ Schmoll et al., "ESMO Consensus Guidelines for Management of Patients with Colon and Rectal Cancer. a Personalized Approach to Clinical Decision Making."

infratratando su enfermedad. En definitiva, no se estará completando correctamente el tratamiento; lo que perjudicará en su pronóstico.³⁰⁶

Los últimos datos de la SEER en cuanto a supervivencia global del cáncer de colon a 5 años, contemplan una supervivencia media de 64,4% (datos registrados para 2009-2015). Cuando se valoran los datos por estadios absolutos del CC (estadios I,II, III y IV), se estiman supervivencias de 89,9% para el estadio I y II, 71,3% para el estadio III y 14,2% para el E-IV.³⁰⁷ Sin embargo, estudios anteriores registrados por subestadios demostraron en los datos registrados en la SEER (2004-2010) peor pronóstico en algunos pacientes en E-II que en pacientes en E-III. Se observó que en los pacientes en estadio IIB la supervivencia a 5 años era del 72,2% mientras que en los pacientes en E-IIIA ascendía hasta el 83,4%.³⁰⁸ Se desconoce el motivo de estos datos, ya que se prevé mejor pronóstico para los estadios más precoces. Sin embargo, podría ser consecuencia de factores de mal pronóstico no detectados o conocidos en los pacientes en estadio IIB o se podría pensar que algunos de los pacientes estadificados en este subgrupo, realmente podrían estar infraestadificados.³⁰⁹

Por lo tanto la presencia o ausencia de infiltración ganglionar adquiere una importancia muy relevante en esta enfermedad. De esta manera, una correcta estadificación es imprescindible para elegir el tratamiento más beneficioso para cada paciente.

La infiltración ganglionar es el factor pronóstico mas importante en el CCR sin metástasis a distancia

³⁰⁶ Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

³⁰⁷ "Cancer of the Colon and Rectum - Cancer Stat Facts," SEER, accessed April 1, 2020, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>.

³⁰⁸ Jessica B. O'Connell, Melinda A. Maggard, and Clifford Y. Ko, "Colon Cancer Survival Rates with the New American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging," *Journal of the National Cancer Institute* 96, no. 19 (October 6, 2004): 1420–25, <https://doi.org/10.1093/jnci/djh275>.

³⁰⁹ Compton, "Optimal Pathologic Staging."

6.A.2. NÚMERO MÍNIMO DE GANGLIOS ESTUDIADOS PARA UNA CORRECTA ESTADIFICACIÓN

Tras una cirugía oncológica la pieza quirúrgica es estudiada por el patólogo que procede a la minuciosa búsqueda e identificación ganglionar.

El patólogo siempre debe localizar tantos ganglios como sea posible. Cuanto mayor sea el número de ganglios, mayor certeza habrá de la presencia o ausencia de infiltración tumoral en los mismos. Existen múltiples estudios que confirman que la supervivencia aumenta cuanto mayor es el número de ganglios localizados y más aun si estos son negativos.^{310 311 312 313 314 315 316 317}

En el año 1996 Goldstein³¹⁸ ya hablaba de la necesidad de establecer un número mínimo de ganglios estudiados para obtener una correcta estadificación. Observó que con un número de ganglios igual o superior a 17 obtenía mayor número de pacientes en estadio III. Posteriormente diferentes autores trataron de establecer el número

³¹⁰ Swanson et al., "The Prognosis of T3N0 Colon Cancer Is Dependent on the Number of Lymph Nodes Examined."

³¹¹ Chen and Bilchik, "More Extensive Nodal Dissection Improves Survival for Stages I to III of Colon Cancer."

³¹² Chang et al., "Lymph Node Evaluation and Survival after Curative Resection of Colon Cancer."

³¹³ Le Voyer et al., "Colon Cancer Survival Is Associated with Increasing Number of Lymph Nodes Analyzed."

³¹⁴ Hong Hwa Chen et al., "Pathological Examination of 12 Regional Lymph Nodes and Long-Term Survival in Stages I-III Colon Cancer Patients: An Analysis of 2,056 Consecutive Patients in Two Branches of Same Institution," *International Journal of Colorectal Disease* 25, no. 11 (November 2010): 1333–41, <https://doi.org/10.1007/s00384-010-1020-8>.

³¹⁵ Paul M. Johnson et al., "Increasing Negative Lymph Node Count Is Independently Associated with Improved Long-Term Survival in Stage IIIB and IIIC Colon Cancer," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 24, no. 22 (August 1, 2006): 3570–75, <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.8866>.

³¹⁶ M. G. A. Norwood et al., "Lymph Node Retrieval in Colorectal Cancer Resection Specimens: National Standards Are Achievable, and Low Numbers Are Associated with Reduced Survival," *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 12, no. 4 (April 2010): 304–9, <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2009.01788.x>.

³¹⁷ J. Lykke et al., "The Relation between Lymph Node Status and Survival in Stage I-III Colon Cancer: Results from a Prospective Nationwide Cohort Study," *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 15, no. 5 (May 2013): 559–65, <https://doi.org/10.1111/codi.12059>.

³¹⁸ Goldstein et al., "Lymph Node Recovery from Colorectal Resection Specimens Removed for Adenocarcinoma. Trends over Time and a Recommendation for a Minimum Number of Lymph Nodes to Be Recovered."

mínimo de ganglios estudiados para neoplasias con diferentes grados de infiltración local de la pared (T1-4).^{319 320}

Aunque algunos estudios contradicen la premisa de que un mayor número de ganglios mejora la estadificación,^{321 322 323} hoy en día se considera que el estudio patológico debe procurar identificar un mínimo de 12 ganglios para conseguir una estadificación adecuada. La recomendación del mínimo de 12 ganglios fue descrita por Fielding et al.³²⁴ y adoptada posteriormente por la AJCC/UICC.³²⁵ Sin embargo, cuando se establece el mínimo de 12 ganglios, no se están teniendo en cuenta otras variables que podrían estar asociadas a la infiltración ganglionar como la infiltración tumoral de la pared (pT), el grado de diferenciación tumoral, la invasión linfovascular y perineural, o en el caso del cáncer de recto la neoadyuvancia previa a la cirugía.

**La AJCC/UICC establece el número mínimo de ganglios
estudiados en 12 para una correcta estadificación**

³¹⁹ G. Burdy et al., "Identifying Patients with T3-T4 Node-Negative Colon Cancer at High Risk of Recurrence," *Diseases of the Colon and Rectum* 44, no. 11 (November 2001): 1682–88, <https://doi.org/10.1007/bf02234390>.

³²⁰ Natalie E. Joseph et al., "Accuracy of Determining Nodal Negativity in Colorectal Cancer on the Basis of the Number of Nodes Retrieved on Resection," *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 3 (April 2003): 213–18, <https://doi.org/10.1245/aso.2003.03.059>.

³²¹ Helen M. Parsons et al., "Association between Lymph Node Evaluation for Colon Cancer and Node Positivity over the Past 20 Years," *JAMA* 306, no. 10 (September 14, 2011): 1089–97, <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1285>.

³²² Sandra L. Wong et al., "Hospital Lymph Node Examination Rates and Survival after Resection for Colon Cancer," *JAMA* 298, no. 18 (November 14, 2007): 2149–54, <https://doi.org/10.1001/jama.298.18.2149>.

³²³ Luke Bui et al., "Lymph Node Counts, Rates of Positive Lymph Nodes, and Patient Survival for Colon Cancer Surgery in Ontario, Canada: A Population-Based Study," *Journal of Surgical Oncology* 93, no. 6 (May 1, 2006): 439–45, <https://doi.org/10.1002/jso.20499>.

³²⁴ L. P. Fielding et al., "Clinicopathological Staging for Colorectal Cancer: An International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT)," *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 6, no. 4 (August 1991): 325–44, <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1991.tb00867.x>.

³²⁵ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

6.A.3. RATIO DE GANGLIOS LINFÁTICOS

El ratio es la proporción entre ganglios infiltrados y el total de ganglios aislados.

Se considera un predictor independiente de la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.

Cuanto mayor sea el numero de ganglios aislados y menor los ganglios infiltrados, mejor será la supervivencia; aunque aún no se han establecido los valores de corte.

Aun no está clara la razón de la relación entre el número total de ganglios en la muestra y los resultados; sin embargo parece estar asociado a que el mayor número de ganglios puede reflejar una mejor calidad de la cirugía y una resección más completa del pedículo mesentérico.^{326 327}

Cuanto mayor sea el número de ganglios identificados y menor el de ganglios infiltrados, mejores serán la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad

³²⁶ Adam C. Berger et al., "Colon Cancer Survival Is Associated with Decreasing Ratio of Metastatic to Examined Lymph Nodes," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, no. 34 (December 1, 2005): 8706–12, <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.8852>.

³²⁷ W. Ceelen, Y. Van Nieuwenhove, and P. Pattyn, "Prognostic Value of the Lymph Node Ratio in Stage III Colorectal Cancer: A Systematic Review," *Annals of Surgical Oncology* 17, no. 11 (November 2010): 2847–55, <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1158-1>.

6.A.4. ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL

Los protocolos actuales establecen el estudio sistemático de los ganglios linfáticos del cáncer de colon con búsqueda de cuantos ganglios sean detectables, cortes de los mismos para la obtención de una sección ganglionar de cada uno de los ganglios linfáticos y tinción con hematoxilina-eosina.³²⁸ Esta forma de análisis ganglionar conlleva limitaciones que pueden poner en peligro la correcta estadificación del paciente:

-El patólogo realiza la búsqueda intensiva mediante visión y palpación del mesocolon, intentando localizar la totalidad de los ganglios de una pieza. Por lo tanto se trata de una labor muy dependiente del profesional que lo realiza.

-Además, se añade a la propia dificultad de la búsqueda, que los ganglios muchas veces son menores a los 5mm por lo que cuesta mucho diferenciarlos del tejido graso adyacente.^{329 330}

-Existen diferentes técnicas que intentan facilitar la búsqueda ganglionar como el aclaramiento de grasas o la tinción con azul de metileno, aunque no hay evidencia suficiente para sugerir que estas técnicas incrementen el conteo de ganglios linfáticos totales.³³¹

-Una vez localizados los ganglios, en el estudio convencional, se realiza una sección única transversal de los mismos y estudio de la sección con técnicas de hematoxilina-eosina. Por lo tanto, el estudio convencional únicamente estudia el 1-2% del total del tejido ganglionar.^{332 333 334 335} Esto significa que el resto del

³²⁸ Washington et al., "Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum."

³²⁹ L. Herrera-Ornelas et al., "Metastases in Small Lymph Nodes from Colon Cancer," *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 122, no. 11 (November 1987): 1253–56, <https://doi.org/10.1001/archsurg.1987.01400230039006>.

³³⁰ M. A. Rodriguez-Bigas et al., "Clinical Significance of Colorectal Cancer: Metastases in Lymph Nodes < 5 Mm in Size," *Annals of Surgical Oncology* 3, no. 2 (March 1996): 124–30, <https://doi.org/10.1007/bf02305790>.

³³¹ Nima Abbassi-Ghadi et al., "Techniques to Increase Lymph Node Harvest from Gastrointestinal Cancer Specimens: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Histopathology* 61, no. 4 (2012): 531–42, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2012.04357.x>.

³³² Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

tejido ganglionar (98-99%) queda sin analizar por lo que podrían pasar desapercibidas metástasis ganglionares si el corte de sección no coincide con la zona afectada.^{336 337}

Tabla 51. Limitaciones del estudio convencional.

Limitaciones del estudio convencional:
.-Patólogo dependiente
.-Tamaño ganglionar
.-Falta de técnicas que faciliten la búsqueda ganglionar
.-Estudio del 1-2% de tejido ganglionar

³³³ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

³³⁴ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

³³⁵ Natalia Rakislova et al., "Lymph Node Pooling: A Feasible and Efficient Method of Lymph Node Molecular Staging in Colorectal Carcinoma," *Journal of Translational Medicine* 15, no. 1 (14 2017): 14, <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1114-3>.

³³⁶ Anton J. Bilchik et al., "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer: Preliminary Results," *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 141, no. 6 (June 2006): 527–33; discussion 533-534, <https://doi.org/10.1001/archsurg.141.6.527>.

³³⁷ J. B. Wild et al., "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer? A Systematic Review and Meta-Analysis," *Techniques in Coloproctology* 21, no. 9 (September 2017): 693–99, <https://doi.org/10.1007/s10151-017-1690-0>.

6.A.5. TÉCNICAS DE ESTUDIO INTENSIVO

Con todo lo anterior y con el fin de mejorar el estudio ganglionar en el cáncer de colon, han surgido técnicas de estudio intensivo, tales como:

-Realización de múltiples cortes/secciones en los ganglios localizados: Consiste en no realizar una única sección ganglionar sino en ampliar el porcentaje del ganglio estudiado realizando múltiples cortes del mismo. *Esta técnica se llevó a cabo en el grupo control "B" para el estudio de los ganglios centinela.*

-Técnicas de inmunohistoquímica: Se utilizan anticuerpos marcados (CAM 5.2) que se unen de forma específica a proteínas presentes en las células tumorales. De esta forma se evidencia la presencia de células tumorales en el tejido ganglionar infiltrado. *Esta técnica se llevó a cabo en el grupo control "B" para el estudio de los ganglios centinela.*

-Técnicas moleculares: Consisten en la amplificación de ácidos nucleídos presentes en las células tumorales y por lo tanto solo localizables en ganglios infiltrados. Tienen como ventaja el estudio del tejido ganglionar en su totalidad por lo que en el caso de existir infiltración ganglionar por pequeña que esta sea será detectada. *Esta es la técnica que se empleó en el estudio actual (grupo OSNA) para la valoración de los ganglios centinela.*

**El estudio intensivo de los ganglios permite analizar
un porcentaje mayor del tejido ganglionar,
aumentando la probabilidad de localizar infiltración
en caso de existir**

6.B. JUSTIFICACIÓN DEL USO DE LA TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER DE COLON

6.B.1. IMPORTANCIA DE LA IDENTIFICACIÓN DEL GANGLIO CENTINELA EN EL CÁNCER DE COLON

Siendo la infiltración ganglionar el factor pronóstico mas importante en el cáncer de colon sin metástasis a distancia, y teniendo en cuenta las dificultades que plantea un correcto análisis ganglionar y las limitaciones descritas del estudio convencional, se desarrolla la idea de mejorar la estadificación con técnicas de estudio intensivas como las descritas anteriormente.

Tanto los análisis ganglionares intensivos con múltiples secciones como con métodos moleculares han demostrado su eficacia y utilidad en diferentes estudios obteniendo mejores resultados que el análisis convencional^{338 339 340 341}. Aun así, la realización de estas técnicas en la totalidad de los ganglios de una pieza quirúrgica requiere un alto coste económico y de recursos que no lo hacen factible en nuestro medio.^{342 343}

De esta forma surge la idea de aplicar las técnicas de estudio intensivo, no a la totalidad de los ganglios de la pieza quirúrgica, sino a aquellos con mayor probabilidad de estar infiltrados: los "**ganglios centinela (GC)**".

El ganglio centinela es el primer ganglio en recibir el aporte linfático desde el tejido tumoral y por lo tanto el que más probabilidades tiene de estar infiltrado en el caso de que exista diseminación linfática.

³³⁸ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

³³⁹ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

³⁴⁰ Esposito et al., "Sentinel Lymph Node Analysis in Colorectal Cancer Patients Using One-Step Nucleic Acid Amplification in Combination With Fluorescence and Indocyanine Green."

³⁴¹ Wild et al., "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer?"

³⁴² "Sysmex Spain."

³⁴³ Rakislova et al., "Lymph Node Pooling."

**El GC es el que más probabilidades tiene de estar
infiltrado cuando existe diseminación linfática**

La técnica del ganglio centinela tiene como objetivo localizar entre uno y cuatro ganglios con mayor probabilidad de estar infiltrados, con el fin de realizar en ellos estudios más intensivos (múltiples secciones, IHQ, métodos moleculares) que permitan mejorar la identificación de la infiltración tumoral.

**La técnica del ganglio centinela permite realizar estudios
intensivos en los ganglios con mayor riesgo de infiltración
tumoral, mejorando la calidad del estudio ganglionar con
una menor elevación del coste**

6.B.2. JUSTIFICACIÓN DEL USO DE LA TÉCNICA *EX VIVO*

La búsqueda de los ganglios centinela puede realizarse *in vivo*, en la propia intervención, cuando aun no se ha realizado la resección quirúrgica; o *ex vivo*, una vez extraída la pieza quirúrgica. Ambas técnicas están validadas y presentan buenos resultados^{344 345} y no existen estudios comparativos que demuestren la superioridad de una de las vías.^{346 347 348 349}

En nuestro estudio se realizó la técnica *ex vivo* por las ventajas que presenta con respecto al método *in vivo*:

- Al realizarse sobre la pieza quirúrgica ya extirpada, no modifica la técnica quirúrgica ni prolonga los tiempos de la misma. Un cirujano realiza la búsqueda de los ganglios centinela mientras que el resto del equipo quirúrgico continúa con la intervención.

- No requiere manipulación del tumor durante el acto quirúrgico (cuando todavía está en el paciente). Durante el proceso quirúrgico es recomendable disminuir al máximo la manipulación tumoral para evitar diseminación del mismo por la cavidad abdominal. En las técnicas *ex vivo* el tumor o zona peritumoral se manipulan (inyección de marcadores, masaje...) una vez la pieza quirúrgica ha sido retirada.

- No requiere modificación de la vía de abordaje (laparotomía versus laparoscopia) ya que el proceso se lleva a cabo una vez extraída la pieza quirúrgica. La técnica *in vivo* es mas laboriosa cuando se intenta realizar por vía laparoscópica.³⁵⁰

³⁴⁴ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

³⁴⁵ T. F. Wood et al., "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer: In Vivo, Ex Vivo, and Laparoscopic Techniques," *Annals of Surgical Oncology* 8, no. 2 (March 2001): 150–57, <https://doi.org/10.1007/s10434-001-0150-1>.

³⁴⁶ Tuech et al., "Sentinel Node Mapping in Colon Carcinoma."

³⁴⁷ Park et al., "Comparison of Ex Vivo and in Vivo Injection of Blue Dye in Sentinel Lymph Node Mapping for Colorectal Cancer."

³⁴⁸ Wood et al., "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer."

³⁴⁹ Mauro Roseano et al., "Sentinel Lymph Node Mapping in the Management of Colorectal Cancer: Preliminary Report," *Tumori* 89, no. 4 (August 2003): 412–16.

³⁵⁰ Wood et al., "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer."

-No se requieren técnicas previas a la cirugía o durante la misma como pudiera ser una colonoscopia para infiltrar los marcadores, con lo que se disminuyen riesgos y molestias para el paciente.³⁵¹ Además de evitar la participación de otros servicios (medicina nuclear, endoscopistas...).

-Al no infiltrar los colorantes/marcadores in vivo, se evitan posibles reacciones alérgicas en el paciente.^{352 353 354 355}

-Experiencia previa de nuestro servicio en el uso de esta técnica, que cuenta con más de 250 casos.³⁵⁶

Una vez extraída la pieza quirúrgica y tras aplicar los colorantes en la subserosa rodeando el tumor, la expansión de los mismos por la red linfática se da sin ninguna dificultad mediante movimientos circulares (masaje circular). Las paredes de los capilares linfáticos ofrecen escasa resistencia a la entrada de sustancias (presentan mayor permeabilidad que los capilares del sistema sanguíneo). Además al haberse seccionado en la cirugía las terminaciones nerviosas que pudieran provocar vasoespasmo, predomina la vasodilatación que favorece el movimiento de los marcadores por el sistema linfático.³⁵⁷

³⁵¹ Su Young Kim, Hyun-Soo Kim, and Hong Jun Park, "Adverse Events Related to Colonoscopy: Global Trends and Future Challenges," *World Journal of Gastroenterology* 25, no. 2 (January 14, 2019): 190–204, <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i2.190>.

³⁵² Wood et al., "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer."

³⁵³ Kuerer, Wayne, and Ross, "Anaphylaxis during Breast Cancer Lymphatic Mapping."

³⁵⁴ Leong et al., "Adverse Reactions to Isosulfan Blue during Selective Sentinel Lymph Node Dissection in Melanoma."

³⁵⁵ Sprung, Tully, and Ziser, "Anaphylactic Reactions to Isosulfan Blue Dye during Sentinel Node Lymphadenectomy for Breast Cancer."

³⁵⁶ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

³⁵⁷ Wood et al., "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer."

Tabla 52. Ventajas de las técnicas ex vivo.

-No modifica la técnica quirúrgica, la vía de abordaje ni el tiempo quirúrgico -No se manipula el tumor en la cavidad abdominal -No requiere colaboración de otros servicios -Disminuyen los riesgos asociados a técnicas complementarias -Se evitan reacciones adversas -Experiencia de nuestro servicio

6.B.3. JUSTIFICACIÓN DEL USO DE AZUL DE METILENO

El azul de metileno es un colorante vital con un elevado peso molecular. En nuestro estudio optamos por este colorante por múltiples razones:

.-Disponibilidad: En nuestro servicio, el azul de metileno se ha utilizado históricamente para la identificación de fístulas, por lo que se dispone de él.

.-Facilidad en el manejo: su alto peso molecular dificulta su extravasación desde los vasos linfáticos y permite su difusión por los mismos, facilitando la búsqueda de los ganglios centinela,^{358 359 360} que pueden observarse a simple vista, sin hacer uso de otros utensilios para su localización (como ocurre por ejemplo con el radiotrazador que precisa de gammacámara).

.-El uso de azul de metileno permite prescindir de otros servicios como digestivo o medicina nuclear.

.-Se trata de un colorante muy económico del que se dispone en todos los hospitales.

.-En nuestro servicio existe una amplia experiencia de más 250 casos desde 2009 con muy buenos resultados.³⁶¹

Tabla 53. Ventajas del azul de metileno.

-Disponibilidad
-Fácil manejo
-No precisa colaboración de otros servicios
-Económico
-Experiencia de nuestro servicio

³⁵⁸ Bustos-Fierro et al., "Azul de Metileno y Azul Patente V."

³⁵⁹ PubChem, "Methylene Blue."

³⁶⁰ Gil, "Azul de metileno."

³⁶¹ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

6.B.4. CURVA DE APRENDIZAJE

La técnica del ganglio centinela es un método de búsqueda ganglionar fácilmente reproducible y con una curva de aprendizaje relativamente corta.

Según diferentes autores, la curva de aprendizaje se estabiliza a partir de de los 5-10 primeros casos con una identificación ganglionar que alcanza el 98-100% de las piezas analizadas.^{362 363}

*En nuestro estudio, los 5 cirujanos que participaron realizando la búsqueda del ganglio centinela, ya contaban con una experiencia acumulada por cirujano de más de 40 casos por haber participado en estudios previos desde 2009.*³⁶⁴

Por lo tanto, todos los participantes del estudio habían superado la curva de aprendizaje.

Curva de aprendizaje estimada por cirujano: 5-10 casos

³⁶² Juan C. Paramo et al., "Validation of Sentinel Node Mapping in Patients with Colon Cancer," *Annals of Surgical Oncology* 9, no. 6 (July 2002): 550–54, <https://doi.org/10.1007/bf02573890>.

³⁶³ C. Codignola et al., "Is There Any Role for Sentinel Node Mapping in Colorectal Cancer Staging? Personal Experience and Review of the Literature," *Japanese Journal of Clinical Oncology* 35, no. 11 (November 1, 2005): 645–50, <https://doi.org/10.1093/jjco/hyi182>.

³⁶⁴ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

6.B.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO INTENSIVO DE LOS GANGLIOS CENTINELA

El uso de técnicas intensivas pretende optimizar el diagnóstico de infiltración ganglionar con el fin de mejorar la estadificación de los pacientes.

El interés de la búsqueda de los ganglios centinela reside en que una vez identificados los ganglios con más riesgo o probabilidad de estar infiltrados, estos se pueden estudiar con las denominadas técnicas intensivas para así aumentar la posibilidad de localizar infiltración tumoral en el caso de que exista.

Las técnicas intensivas, permiten analizar un mayor porcentaje del tejido ganglionar (incluso la totalidad del ganglio en el caso de las técnicas moleculares) por lo que se pueden identificar más infiltraciones, infiltraciones de menor tamaño (micrometástasis y células tumorales aisladas) o aquellas que con técnicas convencionales podrían haber quedado fuera del corte de estudio.

Al aplicar las técnicas intensivas únicamente a los ganglios con mayor riesgo de infiltración (GC) se rentabilizan los recursos.

El estudio intensivo de los GC no repercute en el análisis del resto de la pieza quirúrgica; en nuestra investigación, los ganglios no centinela se estudiaron mediante el método convencional independientemente de los resultados obtenidos en los GC, siempre intentando superar el mínimo de 12 ganglios.

Tabla 54. Objetivo del estudio intensivo de los GC.

<u>Objetivo: Mejorar la estadificación</u>
-Se estudia un porcentaje mayor del tejido ganglionar
-Se localizan infiltraciones de menor tamaño
-No modifica el estudio del resto de la pieza quirúrgica
-El coste económico es asumible

6.C. JUSTIFICACIÓN DEL USO DEL MÉTODO OSNA

6.C.1. EL MÉTODO OSNA EN EL ESTUDIO GANGLIONAR

El método OSNA es una técnica de estudio molecular que mediante amplificación de ADNc creado a partir del ARNm de la CK19, puede identificar infiltración tumoral en la totalidad del tejido ganglionar.³⁶⁵

En la actualidad el método OSNA es la principal técnica de detección de infiltración ganglionar en el cáncer de mama,^{366 367 368 369 370 371} mejorando la estadificación tumoral y modificando el tratamiento quirúrgico según los hallazgos.

A día de hoy se investiga la utilidad del método OSNA en otros tumores, entre ellos el cáncer de colon.^{372 373 374 375}

La aplicación del método OSNA en el CC ha demostrado, en diferentes trabajos publicados hasta la fecha actual, índices de supraestadificación de hasta un 15-25%.³⁷⁶

³⁶⁵ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

³⁶⁶ Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients."

³⁶⁷ Visser et al., "Intra-Operative Rapid Diagnostic Method Based on CK19 MRNA Expression for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer."

³⁶⁸ Schem et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification-a Molecular Method for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients; Results of the German Study Group."

³⁶⁹ Tamaki et al., "Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients."

³⁷⁰ Snook et al., "Multicentre Evaluation of Intraoperative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Nodes in Breast Carcinoma."

³⁷¹ Leidenius et al., "The Feasibility of Intraoperative Diagnosis of Sentinel Lymph Node Metastases in Breast Cancer."

³⁷² Kumagai et al., "Multicenter Study Evaluating the Clinical Performance of the OSNA Assay for the Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Gastric Cancer Patients."

³⁷³ Croner 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."

³⁷⁴ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

³⁷⁵ Itabashi et al., "Lymph Node Positivity in One-Step Nucleic Acid Amplification Is a Prognostic Factor for Postoperative Cancer Recurrence in Patients with Stage II Colorectal Cancer."

³⁷⁶ Croner 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."

³⁷⁷ ³⁷⁸ ³⁷⁹ ³⁸⁰ Lo cual, significa que hasta un 15-25% de pacientes que mediante técnica convencional hubiesen sido estadificados en fases precoces de la enfermedad (EO-II), gracias a la utilización del método OSNA son clasificados en estadios más avanzados y por ello se pueden beneficiar del tratamiento con quimioterapia adyuvante.

Varios estudios han demostrado supraestadificación de hasta el 15-25% en el cáncer de colon al aplicar el método OSNA en el estudio ganglionar

³⁷⁷ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

³⁷⁸ Ulrich Güller 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* 118, no. 24 (December 15, 2012): 6039–45, <https://doi.org/10.1002/cncr.27667>.

³⁷⁹ Maria José Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study: A Multicentre Study in Portugal," *Acta Medica Portuguesa* 31, no. 11 (November 30, 2018): 661–69, <https://doi.org/10.20344/amp.9696>.

³⁸⁰ Rakislova et al., "Lymph Node Pooling."

6.C.2. VENTAJAS Y LIMITACIONES DEL MÉTODO OSNA

6.C.2.a. VENTAJAS DE LA UTILIZACIÓN DEL MÉTODO OSNA:

- Se trata de un método sencillo con una alta sensibilidad (95,6%) y especificidad (96,7%).³⁸¹
- Presenta un índice de concordancia con métodos de análisis histológicos del 96,5%.^{382 383 384 385 386}
- Es reproducible, lo que facilita la estandarización de la técnica.³⁸⁷
- Permite congelar alícuotas del homogeneizado del ganglio para futuros estudios.
- Disminuye la carga de trabajo del patólogo.
- Se puede estudiar la totalidad del tejido ganglionar, no únicamente una sección del mismo como ocurre con los métodos convencionales.^{388 389}
- Con el método OSNA se pueden identificar metástasis ganglionares durante el procedimiento quirúrgico (tarda 16 minutos en obtener resultados) si así se desea y modificar la técnica quirúrgica si es preciso, como en el cáncer de mama.³⁹⁰ Esta ventaja no es útil para el cáncer de colon.

³⁸¹ "Sysmex Spain."

³⁸² Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients."

³⁸³ Visser et al., "Intra-Operative Rapid Diagnostic Method Based on CK19 MRNA Expression for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer."

³⁸⁴ Schem et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification-a Molecular Method for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients; Results of the German Study Group."

³⁸⁵ Tamaki et al., "Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients."

³⁸⁶ Snook et al., "Multicentre Evaluation of Intraoperative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Nodes in Breast Carcinoma."

³⁸⁷ Bernet Vegué Laia et al., "Molecular Diagnosis of Sentinel Lymph Nodes for Breast Cancer: One Step Ahead for Standardization," *Diagnostic Molecular Pathology: The American Journal of Surgical Pathology, Part B* 20, no. 1 (March 2011): 18–21, <https://doi.org/10.1097/PDM.0b013e3181eb9b30>.

³⁸⁸ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

³⁸⁹ Rakislova et al., "Lymph Node Pooling."

³⁹⁰ "Sysmex Spain."

6.C.2.b. LIMITACIONES DEL MÉTODO OSNA:

- El método OSNA se basa en la identificación de ARNm que codifica la proteína CK19.³⁹¹ En las escasas situaciones en las que el tumor no expresa esta proteína, no se debe realizar el estudio molecular de los GC ya que independientemente de que estén o no infiltrados, la prueba no podrá identificar la infiltración ganglionar. Sin embargo, no existe literatura al respecto para el CC.
- Para la realización del método OSNA, se aconseja utilizar la totalidad del ganglio para poder hacer el estudio del 100% del tejido ganglionar o al menos una sección de gran tamaño del mismo y este se tritura y centrifuga para obtener un homogeneizado. De esta manera, queda imposibilitada la realización de estudios histológicos posteriores, el estudio de la infiltración capsular, el número de focos metastásicos o la localización de los mismos dentro del ganglio.³⁹²
- Tiene un coste elevado por lo que en nuestro medio no es factible aplicarlo a la totalidad de los ganglios encontrados durante el estudio histológico. No obstante ya existen investigaciones que defienden su rentabilidad a largo plazo.³⁹³

³⁹¹ J. Košťun et al., "[One-Step Nucleic Acid Amplification method - what is the future of sentinel lymph node management?]," *Ceska Gynekologie* 83, no. 1 (Winter 2018): 57–61.

³⁹² Wild et al., "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer?"

³⁹³ Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

6.C.3. INTERPRETACIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR DEL GANGLIO CENTINELA

El método molecular OSNA es una técnica capaz de cuantificar la carga tumoral de los ganglios linfáticos. Cuando se localizan menos de 250 copias de ARNm-CK19 se considera células tumorales aisladas pero sin valor sobre el estadio (pN0), valores entre 250 y 5.000 copias corresponden a micrometástasis y valores superiores a las 5.000 copias corresponden a metástasis.³⁹⁴

A día de hoy, en el cáncer de mama, se investiga para obtener unos límites de cortes de copias de ARNm más exactos para definir mejor qué pacientes se beneficiarían de la linfadenectomía axilar.^{395 396 397 398}

Para el cáncer de colon el interés de unos cortes de copias más estrictos radicaría en ajustar mejor aquellos pacientes que se beneficiarían de la quimioterapia adyuvante, pero no cambiaría el procedimiento quirúrgico.

Tabla 55. Valores de referencia para metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas en el método OSNA.

Células tumorales aisladas <250
Micrometástasis 250-5.000
Metástasis >5.000

³⁹⁴ Notomi et al., "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA."

³⁹⁵ Irene Terrenato et al., "A Cut-off of 2150 Cytokeratin 19 MRNA Copy Number in Sentinel Lymph Node May Be a Powerful Predictor of Non-Sentinel Lymph Node Status in Breast Cancer Patients," *PloS One* 12, no. 2 (2017): e0171517, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171517>.

³⁹⁶ Tomo Osako et al., "A New Molecular-Based Lymph Node Staging Classification Determines the Prognosis of Breast Cancer Patients," *British Journal of Cancer* 117, no. 10 (November 7, 2017): 1470–77, <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.311>.

³⁹⁷ Simonetta Buglioni et al., "Quantitative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node May Be Predictive of Axillary Node Status in Breast Cancer Classified by Molecular Subtypes," *PLOS ONE* 8, no. 3 (March 22, 2013): e58823, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058823>.

³⁹⁸ Isabelle de Mascarel et al., "Distinction between Isolated Tumor Cells and Micrometastases in Breast Cancer: Is It Reliable and Useful?," *Cancer* 112, no. 8 (April 15, 2008): 1672–78, <https://doi.org/10.1002/cncr.23368>.

Se ha demostrado que los pacientes con micrometástasis presentan peor pronóstico que aquellos sin ningún tipo de infiltración ganglionar.^{399 400 401 402 403 404} Por otro lado, no queda tan claro el valor de las células tumorales aisladas y la mayoría de las investigaciones defienden la ausencia de implicación en el pronóstico; aunque existe algún estudio contrario a esta idea.⁴⁰⁵

Con todo lo anterior, según la última actualización de la AJCC con la 8ª edición de TNM,⁴⁰⁶ se consideran estadios III del CCR aquellos pacientes con infiltración ganglionar metastásica y micrometastásica.^{407 408} Por lo tanto la última actualización de la AJCC considera a las micrometástasis y a las metástasis (N+).

Según la última revisión de la AJCC se consideran N+ las infiltraciones metastásicas y micrometastásicas

Se consideran N+ las infiltraciones diagnosticadas mediante el método OSNA con un número de copias superior a 250

³⁹⁹ D. a. M. Sloothak 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," *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 40, no. 3 (March 2014): 263–69, <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2013.12.002>.

⁴⁰⁰ P. Hermanek et al., "International Union Against Cancer. Classification of Isolated Tumor Cells and Micrometastasis," *Cancer* 86, no. 12 (December 15, 1999): 2668–73.

⁴⁰¹ Douglas Iddings et al., "The Prognostic Effect of Micrometastases in Previously Staged Lymph Node Negative (N0) Colorectal Carcinoma: A Meta-Analysis," *Annals of Surgical Oncology* 13, no. 11 (November 2006): 1386–92, <https://doi.org/10.1245/s10434-006-9120-y>.

⁴⁰² Saad Sirop et al., "Detection and Prognostic Impact of Micrometastasis in Colorectal Cancer," *Journal of Surgical Oncology* 103, no. 6 (May 1, 2011): 534–37, <https://doi.org/10.1002/jso.21793>.

⁴⁰³ Sloothak et al., "The Prognostic Value of Micrometastases and Isolated Tumour Cells in Histologically Negative Lymph Nodes of Patients with Colorectal Cancer."

⁴⁰⁴ Daniel G. Nicastrì et al., "Is Occult Lymph Node Disease in Colorectal Cancer Patients Clinically Significant? A Review of the Relevant Literature," *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD* 9, no. 5 (November 2007): 563–71, <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2007.070032>.

⁴⁰⁵ B. Weixler et al., "Isolated Tumor Cells in Stage I & II Colon Cancer Patients Are Associated with Significantly Worse Disease-Free and Overall Survival," *BMC Cancer* 16 (February 16, 2016): 106, <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2130-7>.

⁴⁰⁶ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

⁴⁰⁷ Wild et al., "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer?"

⁴⁰⁸ Elliot Weisemberg, "TNM Staging of Colorectal Carcinoma (AJCC 8th Edition)," accessed April 2, 2020, <http://www.pathologyoutlines.com/topic/colontumorstaging8ed.html>.

6.D. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

6.D.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

6.D.1.a. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:

El riesgo de CCR aumenta con la edad a partir de los 40-50 años. Es poco habitual el diagnóstico antes de esta edad aunque se está observando un aumento en la incidencia de pacientes jóvenes y más frecuentemente en colon izquierdo y en recto.⁴⁰⁹ El riesgo aumenta cada década subsiguiente a partir de los 50 años siendo más común el diagnóstico alrededor de los 70 años de edad.⁴¹⁰

Aumento del riesgo con la edad.

Diagnóstico más frecuente alrededor de los 70 años

En cuanto al **sexo** es una neoplasia que se observa con mayor frecuencia en varones con una incidencia al menos un 25% mayor en los hombre que en las mujeres.^{411 412}

Más frecuente en varones

⁴⁰⁹ Donald M. Davis et al., "Is It Time to Lower the Recommended Screening Age for Colorectal Cancer?," *Journal of the American College of Surgeons* 213, no. 3 (September 2011): 352–61, <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2011.04.033>.

⁴¹⁰ "Las cifras del cáncer en España 2016."

⁴¹¹ Jemal et al., "Cancer Statistics, 2010."

⁴¹² "Las cifras del cáncer en España 2016."

Los resultados de este estudio de investigación concuerdan con la literatura actual. En la siguiente tabla se observan los datos obtenidos tanto en el grupo OSNA, como en los grupos control "A" y "B" sin que se observen diferencias estadísticamente significativas entre ellos:

Tabla 56. Edad media al diagnóstico y relación H:M del Cáncer de colon en los tres grupos del estudio.

	<i>Edad media</i>	<i>Relación H:M</i>
<i>OSNA</i>	<i>67,83±11,22</i>	<i>80:41</i>
<i>Control "A"</i>	<i>69,09±10,65</i>	<i>99:58</i>
<i>Control "B"</i>	<i>68,88±10,11</i>	<i>187:90</i>

6.D.1.b. LOCALIZACIÓN TUMORAL Y TÉCNICAS QUIRÚRGICAS EMPLEADAS:

La **localización tumoral** está siendo a día de hoy un tema de interés, ya que se ha observado que existen diferencias biológicas y genéticas entre los tumores del colon derecho y el colon izquierdo que les confieren características diferentes que afectan a al pronóstico y a la supervivencia.^{413 414 415 416} En la mayoría de los estudios la distribución de los pacientes según presenten tumores en colon derecho (irrigados por la a. mesentérica superior) o colon izquierdo (irrigados por la a. mesentérica inferior) no muestra grandes diferencias, aunque sí parece observarse mayor número de pacientes con tumores en colon izquierdo.^{417 418 419}

**Distribución: levemente mayor en colon izquierdo
(dependiente de la a. mesentérica inferior)**

En cuanto a las **técnicas quirúrgicas** empleadas, la resección oncológica realizada se establece según la localización tumoral.

**Técnicas quirúrgicas oncológicas en relación al
pedículo linfovascular que corresponda a cada
localización tumoral**

⁴¹³ Xing-Kang He et al., "Different Anatomical Subsites of Colon Cancer and Mortality: A Population-Based Study," *Gastroenterology Research and Practice* 2018 (2018): 7153685, <https://doi.org/10.1155/2018/7153685>.

⁴¹⁴ Toru Aoyama et al., "Clinical Impact of Tumor Location on the Colon Cancer Survival and Recurrence: Analyses of Pooled Data from Three Large Phase III Randomized Clinical Trials," *Cancer Medicine* 6, no. 11 (November 2017): 2523–30, <https://doi.org/10.1002/cam4.1208>.

⁴¹⁵ Tomokazu Kishiki et al., "The Impact of Tumor Location on the Biological and Oncological Differences of Colon Cancer: Multi-Institutional Propensity Score-Matched Study," *American Journal of Surgery* 217, no. 1 (2019): 46–52, <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2018.07.005>.

⁴¹⁶ Abdullah Sakin et al., "Prognostic Significance of Primary Tumor Localization in Stage II and III Colon Cancer," *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 10, no. 11 (November 15, 2018): 410–20, <https://doi.org/10.4251/wjgo.v10.i11.410>.

⁴¹⁷ Aoyama et al., "Clinical Impact of Tumor Location on the Colon Cancer Survival and Recurrence."

⁴¹⁸ Kishiki et al., "The Impact of Tumor Location on the Biological and Oncological Differences of Colon Cancer."

⁴¹⁹ Sakin et al., "Prognostic Significance of Primary Tumor Localization in Stage II and III Colon Cancer."

En el estudio actual con método "OSNA", los pacientes que presentaban afectación del colon irrigado por la a. mesentérica superior y sus ramas (ileocólica, cólica derecha y cólica media) y que por lo tanto fueron sometidos a una hemicolectomía derecha/(ampliada) supusieron el 47,9% de los pacientes; mientras que los pacientes con afectación del colon dependiente de las a. mesentérica inferior y sus ramas alcanzaron el 52,1% de los pacientes (c. transversal distal, ángulo esplénico, colon descendente y sigma).

En el grupo control "A", el 53,5% de los tumores correspondían al colon derecho y el 46,9% al colon izquierdo; y en el grupo control "B" el 44,4% se encontraban en el colon derecho y el 48,4% en colon izquierdo.

Las diferencias no son significativas y confirman los resultados de otros estudios.^{420 421}

422

⁴²⁰ Aoyama et al., "Clinical Impact of Tumor Location on the Colon Cancer Survival and Recurrence."

⁴²¹ Kishiki et al., "The Impact of Tumor Location on the Biological and Oncological Differences of Colon Cancer."

⁴²² Sakin et al., "Prognostic Significance of Primary Tumor Localization in Stage II and III Colon Cancer."

6.D.1.c. VÍA DE ABORDAJE QUIRÚRGICO:

Desde que entre 1985 y 1988 se publicasen las primeras colecistectomías laparoscópicas en diferentes países (Dr. Erich Muhe en Alemania, Philippe Mouret, François Dubois y Jacques Perissat en Francia y Barry McKernan y Eddie Joe Reddick en EEUU),^{423 424 425 426 427 428 429} esta vía de abordaje quirúrgico ha ido mejorando en tecnología y en técnica. Aunque en la década de los noventa la aplicación de la laparoscopia creó controversia para el manejo de patología oncológica y hubo estudios en contra de la misma por sospecha de aumento del riesgo de la diseminación celular del tumor y de metástasis del puerto,^{430 431} estudios posteriores demostraron que los resultados oncológicos de la cirugía laparoscópica del cáncer colorrectal eran superponibles a los de la cirugía abierta.^{432 433 434 435 436 437 438 439}

⁴²³ E. Mühe, "296. Die erste Cholecystektomie durch das Laparoskop," *Langenbecks Archiv für Chirurgie* 369, no. 1 (December 1, 1986): 804–804, <https://doi.org/10.1007/BF01274615>.

⁴²⁴ E. Mühe, "Long-Term Follow-up after Laparoscopic Cholecystectomy," *Endoscopy* 24, no. 9 (November 1992): 754–58, <https://doi.org/10.1055/s-2007-1009119>.

⁴²⁵ Jacques Périssat, "Laparoscopic Surgery: A Pioneer's Point of View," *World Journal of Surgery* 23, no. 8 (August 1, 1999): 863–68, <https://doi.org/10.1007/s002689900590>.

⁴²⁶ Eddie J. Reddick et al., "Laparoscopic Laser Cholecystectomy," *Laser Medicine and Surgery News and Advances* 7, no. 1 (February 1, 1989): 38–40, <https://doi.org/10.1089/lms.1989.7.1.38>.

⁴²⁷ F. Dubois et al., "Coelioscopic Cholecystectomy. Preliminary Report of 36 Cases.," *Annals of Surgery* 211, no. 1 (January 1990): 60–62.

⁴²⁸ Reddick, "Gallbladder, Gallstones Removed with YAG and KTP Lasers.," *Clinical Laser Monthly*, 1988, 126–27.

⁴²⁹ Antonio García Ruiz, Leopoldo Gutiérrez Rodríguez, and Jorge Cueto García, "Evolución histórica de la cirugía laparoscópica," . . pp, n.d., 14.

⁴³⁰ F. J. Berends et al., "Subcutaneous Metastases after Laparoscopic Colectomy," *Lancet (London, England)* 344, no. 8914 (July 2, 1994): 58, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)91079-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91079-0).

⁴³¹ Z. Döbrönte, T. Wittmann, and G. Karácsony, "Rapid Development of Malignant Metastases in the Abdominal Wall after Laparoscopy," *Endoscopy* 10, no. 2 (May 1978): 127–30, <https://doi.org/10.1055/s-0028-1098280>.

⁴³² W. T. Reilly et al., "Wound Recurrence Following Conventional Treatment of Colorectal Cancer. A Rare but Perhaps Underestimated Problem," *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 2 (February 1996): 200–207, <https://doi.org/10.1007/bf02068076>.

⁴³³ P. Vukasin et al., "Wound Recurrence Following Laparoscopic Colon Cancer Resection. Results of the American Society of Colon and Rectal Surgeons Laparoscopic Registry," *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 10 Suppl (October 1996): S20–23, <https://doi.org/10.1007/bf02053801>.

⁴³⁴ Antonio M. Lacy et al., "Laparoscopy-Assisted Colectomy versus Open Colectomy for Treatment of Non-Metastatic Colon Cancer: A Randomised Trial," *Lancet (London, England)* 359, no. 9325 (June 29, 2002): 2224–29, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09290-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09290-5).

⁴³⁵ M. E. Franklin et al., "Prospective Comparison of Open vs. Laparoscopic Colon Surgery for Carcinoma. Five-Year Results," *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 10 Suppl (October 1996): S35–46, <https://doi.org/10.1007/bf02053804>.

⁴³⁶ J. W. Milsom et al., "A Prospective, Randomized Trial Comparing Laparoscopic versus Conventional Techniques in Colorectal Cancer Surgery: A Preliminary Report," *Journal of the American College of*

Así en las últimas décadas la cirugía laparoscópica ha ido ganando cada vez más peso tanto para cirugías no oncológicas como para las oncológicas, incluyendo el cáncer de colon.

En el grupo control "A" en el que se incluyeron pacientes operados entre 2005 y 2009, más de la mitad de las intervenciones se llevaron a cabo por abordaje abierto (55,29%) mientras que en el grupo control "B" (con pacientes intervenidos entre 2009 y 2014) la vía laparoscópica fue tomando más fuerza (62,8%) y en el estudio actual (grupo OSNA), el 73,3% de los pacientes fue intervenido por esta vía de acceso.

Por lo tanto, se confirma que el uso de las técnicas laparoscópicas es cada vez mayor en nuestro servicio al igual que ocurre en el resto de grupos.

Tabla 57. Observaciones de la vía de abordaje laparoscópica.

- **Incremento del uso de la vía laparoscópica en todos los grupos**
 - **No condiciona peores resecciones oncológicas**
 - **No aumenta el riesgo de diseminación tumoral**

Surgeons 187, no. 1 (July 1998): 46–54; discussion 54–55, [https://doi.org/10.1016/s1072-7515\(98\)00132-x](https://doi.org/10.1016/s1072-7515(98)00132-x).

⁴³⁷ D. Lechaux, G. Trebuchet, and J. L. Le Calve, "Five-Year Results of 206 Laparoscopic Left Colectomies for Cancer," *Surgical Endoscopy* 16, no. 10 (October 2002): 1409–12, <https://doi.org/10.1007/s00464-002-9011-7>.

⁴³⁸ H. Hasegawa et al., "Randomized Controlled Trial of Laparoscopic versus Open Colectomy for Advanced Colorectal Cancer," *Surgical Endoscopy* 17, no. 4 (April 2003): 636–40, <https://doi.org/10.1007/s00464-002-8516-4>.

⁴³⁹ Norlan Bressler Hernández et al., "Cirugía laparoscópica en cáncer colorrectal. Laparoscopic surgery in colorectal cancer.," 2011, 10.

6.D.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO GANGLIONAR

6.D.2.a. GANGLIOS LINFÁTICOS IDENTIFICADOS:

6.D.2.a.1. Ganglios centinela y ganglios no centinela:

Desde que se aceptase en 2002 por la American Joint Committee on Cancer (AJCC)⁴⁴⁰ y la International Union Against Cancer (UICC)⁴⁴¹ la conveniencia del estudio de al menos 12 ganglios, basándose en las primeras recomendaciones formales realizadas a partir de los estudios de Hermanek⁴⁴² y Scott et al⁴⁴³ en 1990, algunos trabajos han demostrado que ha habido un aumento progresivo en el número de ganglios obtenidos en las piezas quirúrgicas del carcinoma colorrectal.^{444 445}

En el grupo OSNA se identificaron un total de 2.600 ganglios linfáticos (centinelas y no centinelas), con una media por paciente de 21,49 ganglios.

En el estudio control "A" se identificaron una media de 14,05 ganglios por paciente y en el grupo control "B" una media de 20,50 ganglios por paciente. El análisis de estos datos demuestra el aumento progresivo del número de ganglios identificados en los últimos años tal y como se ha objetivado en otros grupos. En los tres grupos se superó el mínimo de 12 ganglios indicando una correcta resección quirúrgica oncológica y un minucioso estudio histológico.

⁴⁴⁰ Frederick L. Greene et al., *AJCC Cancer Staging Manual* (Springer Science & Business Media, 2002).

⁴⁴¹ L.H. Sobin and Ch. Wittekind, *TNM Classification of Malignant Tumours, 6th Edition | UICC*, 6th ed. (L.H. Sobin, Ch. Wittekind, 2002), <https://www.uicc.org/resources/tnm-classification-malignant-tumours-6th-edition>.

⁴⁴² P. Hermanek, "Oncologic Surgery/Pathologic-Anatomic Viewpoint.," *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*, 1991, 277–81.

⁴⁴³ K. W. Scott and R. H. Grace, "Detection of Lymph Node Metastases in Colorectal Carcinoma before and after Fat Clearance," *The British Journal of Surgery* 76, no. 11 (November 1989): 1165–67, <https://doi.org/10.1002/bjs.1800761118>.

⁴⁴⁴ Cristina N. Budde et al., "Increasing the Number of Lymph Nodes Examined after Colectomy Does Not Improve Colon Cancer Staging," *Journal of the American College of Surgeons* 218, no. 5 (May 2014): 1004–11, <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2014.01.039>.

⁴⁴⁵ G. Dimofte et al., "Mean Number of Lymph Nodes in Colonic Cancer Specimen: Possible Quality Control Index for Surgical Performance," *Chirurgia (Bucharest, Romania: 1990)* 106, no. 6 (December 2011): 759–64.

Aumento progresivo en la identificación ganglionar.

La media de ganglios por paciente supera los 12 ganglios

6.D.2.a.2. Ganglios no centinela identificados:

En el grupo control "A" no se diferenciaron GC y ganglios no centinela.

En el grupo OSNA la media de GnoC por paciente fue de 18,52 y en el grupo control "B" la media de GnoC por paciente fue de 17,71. La diferencia entre el grupo OSNA y el grupo control "B" no fue estadísticamente significativa.

6.D.2.a.3.. Ganglios centinela identificados.

Tasa de identificación de los GC:

La tasa de identificación de los GC en la mayoría de los trabajos se encuentra por encima del 95%,^{446 447 448 449 450 451 452 453 454} sin embargo existen publicaciones con

⁴⁴⁶ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁴⁴⁷ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁴⁴⁸ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁴⁴⁹ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁴⁵⁰ José Domingo Sardón Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon" (<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>, Universidad del País Vasco - Euskal Herriko Unibertsitatea, 2011), <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=181190>.

⁴⁵¹ George Tsioulis et al., "A Novel Lymphatic Mapping Technique to Improve Localization and Staging of Early Colon Cancer during Laparoscopic Colectomy," *The American Surgeon* 68 (July 1, 2002): 561–65.

⁴⁵² A. J. Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis: A Multicenter Phase II Trial," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 19, no. 4 (February 15, 2001): 1128–36, <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.4.1128>.

⁴⁵³ Gokhan Yagci et al., "Detection of Micrometastases and Skip Metastases with Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum," *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 2 (December 6, 2006): 167–73, <https://doi.org/10.1007/s00384-006-0132-7>.

⁴⁵⁴ Stojanoski et al., "Sentinel Lymph Node Detection in Colorectal Cancer – First Experience."

tasas más bajas,^{455 456 457} en la mayoría de los casos asociado a menor experiencia del equipo quirúrgico que realiza la búsqueda ganglionar.

*En este estudio de investigación (grupo OSNA) solo hubo 1 paciente de 121 en el que el uso excesivo de azul de metileno imposibilitó la búsqueda ganglionar. En el resto de los pacientes se identificaron GC sin incidencias. Así, la tasa de identificación del ganglio centinela fue del 99,17%. Estos resultados se deben a la experiencia previa del equipo quirúrgico con la técnica de identificación del ganglio centinela.*⁴⁵⁸

Tasas de identificación del GC habituales >95%

Tasa de identificación del GC en el grupo OSNA → 99,17%

Del total de 2.600 ganglios identificados en el grupo OSNA, 359 (13,80%) fueron ganglios centinela. La media de GC por paciente fue de 2,97 con una desviación estándar de 1,02.

En el grupo control "B" la tasa de identificación de los GC fue del 98,9%; hubo 5 pacientes (1,90%) en los que no se identificaron correctamente los GC. En este grupo control se identificaron una media de 2,78 GC por paciente.

Al tratarse de la misma técnica de búsqueda ganglionar (ex vivo y con azul de metileno) y con pocos cambios en el equipo quirúrgico que lo realizó, no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a los GC hallados en ambos grupos.

⁴⁵⁵ Monica Bertagnolli et al., "Sentinel Node Staging of Resectable Colon Cancer: Results of a Multicenter Study," *Annals of Surgery* 240, no. 4 (October 2004): 624–28; discussion 628–630, <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000140753.41357.20>.

⁴⁵⁶ Andreas E. Bembenek et al., "Sentinel Lymph Node Biopsy in Colon Cancer: A Prospective Multicenter Trial," *Annals of Surgery* 245, no. 6 (June 2007): 858–63, <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000250428.46656.7e>.

⁴⁵⁷ Antônio Hilário Alves Freitas et al., "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Investigation in Colorectal Cancer," *Journal of Coloproctology (Rio de Janeiro)* 33, no. 1 (April 2013): 16–21, <https://doi.org/10.1590/S2237-93632013000100004>.

⁴⁵⁸ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

6.D.2.b. ANÁLISIS DE LOS GANGLIOS INFILTRADOS

6.D.2.b.1. Ganglios centinela y ganglios no centinela infiltrados:

Como describiera Gould en los años 60,⁴⁵⁹ el ganglio centinela es el primer ganglio en recibir el drenaje linfático desde el tejido tumoral y por consiguiente, el que más riesgo tiene de estar infiltrado en el caso de que exista diseminación linfática.

Estudios posteriores han demostrado que los GC presentan mayor infiltración ganglionar que los ganglios no centinela y predicen incluso hasta en un 99% el estadio ganglionar como observó Morton en 1992.^{460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471}

Así pues, en algunos tumores, como el melanoma o el cáncer de mama, la decisión de completar linfadenectomías mas extensas se decide según los resultados obtenidos del estudio del GC.^{472 473 474 475}

⁴⁵⁹ Gould et al., "Observations on a 'Sentinel Node' in Cancer of the Parotid."

⁴⁶⁰ Morton et al., "Technical Details of Intraoperative Lymphatic Mapping for Early Stage Melanoma."

⁴⁶¹ Morton et al., "Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma."

⁴⁶² Krag et al., "Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe."

⁴⁶³ Giuliano et al., "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer."

⁴⁶⁴ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁴⁶⁵ Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma."

⁴⁶⁶ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁴⁶⁷ Bilchik et al., "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer."

⁴⁶⁸ Wood et al., "One Hundred Consecutive Cases of Sentinel Lymph Node Mapping in Early Colorectal Carcinoma."

⁴⁶⁹ Viehl et al., "Sentinel Lymph Node Procedure Leads to Upstaging of Patients with Resectable Colon Cancer."

⁴⁷⁰ Kelder et al., "The Sentinel Node Procedure in Colon Carcinoma."

⁴⁷¹ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁴⁷² Morton et al., "Technical Details of Intraoperative Lymphatic Mapping for Early Stage Melanoma."

⁴⁷³ Morton et al., "Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma."

⁴⁷⁴ Krag et al., "Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe."

⁴⁷⁵ Giuliano et al., "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer."

En el grupo OSNA se identificaron un total de 2.241 ganglios no centinela, de los cuales 52 presentaron infiltración ganglionar (2,32%). En este mismo grupo se identificaron 359 GC entre los que 69 (19,22%) mostraron afectación metastásica o micrometastásica.

Estos datos evidenciaron una gran diferencia ($p < 0,05$) entre la infiltración ganglionar del estudio de los ganglios no centinela y el estudio de los GC a favor del análisis molecular de los GC.

En el grupo control "B", el 15,17% de los GC fueron N+ mientras que únicamente el 3,40% de los GnoC fueron positivos ($P < 0,001$).

Al igual que en estudios publicados previamente en los que se emplearon métodos de estudio intensivo en los GC con múltiples secciones y análisis de los mismos con H-E y/o IHQ^{476 477 478 479 480 481} o estudios que se llevaron a cabo con técnicas moleculares,^{482 483} los resultados tanto del grupo OSNA como del grupo control "B" demostraron la **rentabilidad del estudio de los ganglios centinela en el cáncer de colon** mediante **métodos intensivos con múltiples secciones y más aun con el método OSNA**. Esto se debe a que es entre los ganglios centinela donde se localizan el mayor número de infiltraciones.

⁴⁷⁶ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁴⁷⁷ Wood et al., "Lymphatic Mapping Improves Staging during Laparoscopic Colectomy for Cancer."

⁴⁷⁸ Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma."

⁴⁷⁹ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁴⁸⁰ Bilchik et al., "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer."

⁴⁸¹ Viehl et al., "Sentinel Lymph Node Procedure Leads to Upstaging of Patients with Resectable Colon Cancer."

⁴⁸² Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁴⁸³ Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

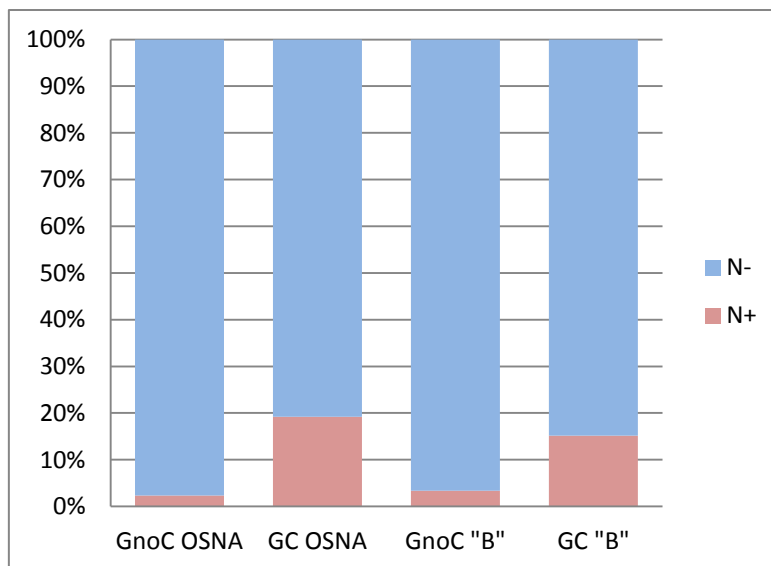


Figura 30. Gráfico de columnas. GC y GnoC infiltrados en el grupo OSNA y control "B".

Tabla 58. Rentabilidad del estudio intensivo de los GC.

Rentabilidad del estudio intensivo de los GC en comparación con el estudio convencional de los GnoC: El estudio intensivo (método OSNA o múltiples secciones y tinción con H-E e HQ) de unos pocos GC (entre 1 y 4 por paciente) consigue identificar un mayor número de ganglios infiltrados que el estudio convencional de todos los GnoC de una pieza quirúrgica (media de 17,71-18,52 por paciente)
--

6.D.2.b.2. Tipo de infiltración de los ganglios centinela (metástasis y micrometástasis):

El estudio histológico convencional de los ganglios distingue el tipo de infiltración según el tamaño del implante ganglionar; así, se consideran metástasis los implantes mayores de 2mm y micrometástasis aquellos con un tamaño entre 0,2 y 2mm.⁴⁸⁴

En el estudio molecular las infiltraciones con un número de copias igual o superior a 5.000 se consideran metastásicas y entre 250 y 5.000 copias micrometastásicas.⁴⁸⁵

En el grupo OSNA, de los 69 GC identificados como N+, 20 (29%) presentaron infiltración metastásica (>5.000 copias) y 49 (71%) micrometastásica (250-5.000 copias).

En el grupo control "B", de los de los 117 GC infiltrados, 87 (74,35%) presentaron infiltración metastásica (implante >2mm) y 30 (25,64%) micrometastásica (0,2-2mm).

Tabla 59. Comparación de la infiltración de los GC por metástasis y micrometástasis en el grupo control "B" y el grupo OSNA.

GC+	Metástasis	Micrometástasis
Grupo Control "B" (117 GC+)	87 (74,35%)	30 (25,64%)
Grupo OSNA (69 GC+)	20 (28,98%)	49 (71,01%)

Estos datos evidencian que ambas técnicas de estudio ganglionar identifican un alto porcentaje de micrometástasis, sin embargo, el método OSNA identifica mayor número de micrometástasis que el estudio intensivo con múltiples secciones^{486 487 488} ($p < 0,05$) y por lo tanto, que el estudio convencional.

⁴⁸⁴ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

⁴⁸⁵ Tsujimoto et al., "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients."

⁴⁸⁶ Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study."

⁴⁸⁷ Shingo Noura et al., "Comparative Detection of Lymph Node Micrometastases of Stage II Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20, no. 20 (October 15, 2002): 4232–41, <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.10.023>.

La utilidad del método OSNA para el hallazgo de micrometástasis se ha descrito en múltiples estudios realizados principalmente para el cáncer de mama,^{489 490 491 492 493} pero también pueden observarse trabajos realizados en el cáncer de colon con otras técnicas moleculares como RT-PCR en el estudio de Bilchik.⁴⁹⁵ La justificación de este hallazgo se basa en el hecho de que el estudio molecular analiza la totalidad (100%) del tejido ganglionar, mientras que el estudio convencional únicamente explora el 1-2% del mismo y el estudio con múltiples cortes, aunque supera el estudio convencional no analiza la totalidad del tejido ganglionar.^{496 497 498 499 500}

El método OSNA identifica mayor número de infiltración ganglionar a expensas del hallazgo de micrometástasis

⁴⁸⁸ Croner 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."

⁴⁸⁹ María López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama: un aumento en la detección de micrometástasis," *Revista de Senología y Patología Mamaria* 29, no. 4 (October 1, 2016): 143–49, <https://doi.org/10.1016/j.senol.2016.06.004>.

⁴⁹⁰ Tomo Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer: A Comparative Analysis between One-Step Nucleic Acid Amplification Whole Node Assay and Routine Frozen Section Histology," *Cancer* 117, no. 19 (October 1, 2011): 4365–74, <https://doi.org/10.1002/cncr.26060>.

⁴⁹¹ Ghaleb Goussous et al., "Association of One-Step Nucleic Acid Amplification Detected Micrometastases with Tumour Biology and Adjuvant Chemotherapy," *International Journal of Breast Cancer* 2017 (2017), <https://doi.org/10.1155/2017/4971096>.

⁴⁹² Ana Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer," *SpringerPlus* 2 (October 17, 2013), <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-542>.

⁴⁹³ J. P. Tiernan et al., "Systematic Review and Meta-Analysis of Cytokeratin 19-Based One-Step Nucleic Acid Amplification versus Histopathology for Sentinel Lymph Node Assessment in Breast Cancer," *The British Journal of Surgery* 101, no. 4 (March 2014): 298–306, <https://doi.org/10.1002/bjs.9386>.

⁴⁹⁴ M. Babar et al., "One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Positive Micrometastases and Additional Histopathological NSLN Metastases: Results from a Single Institution over 53 Months," *The Surgeon: Journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland* 14, no. 2 (April 2016): 76–81, <https://doi.org/10.1016/j.surge.2014.06.001>.

⁴⁹⁵ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

⁴⁹⁶ López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁴⁹⁷ Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

⁴⁹⁸ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁴⁹⁹ Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon."

⁵⁰⁰ Croner 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."

6.D.2.b.3. Relación entre la infiltración tumoral local "T" y la afectación ganglionar:

Como se describe en varios estudios, cuanto mayor es la infiltración local "T" mayor es el número de ganglios aislados^{501 502 503 504 505} y de ganglios infiltrados.^{506 507 508 509 510}

En la siguiente tabla se puede observar que la media de ganglios aislados en el grupo OSNA aumentó progresivamente de Tis hasta T4. Sin embargo, en este estudio los pacientes con mayor infiltración ganglionar fueron aquellos con infiltración local T3.

Tabla 60. Relación entre la infiltración tumoral local (T), el número de ganglios identificados y la afectación ganglionar.

		N	Media de ganglios aislados
N total de ganglios extraídos	Tis	5	12,80
	T1	19	18,74
	T2	25	20,32
	T3	57	22,88
	T4	13	25,38
	Total	119	21,53
N positivos	Tis	5	,00
	T1	19	,63
	T2	25	,60
	T3	57	1,33
	T4	13	1,15
	Total	119	,99

⁵⁰¹ Satoshi Takano et al., "Identification of Risk Factors for Lymph Node Metastasis of Colorectal Cancer," *Hepato-Gastroenterology* 54, no. 75 (May 2007): 746–50.

⁵⁰² Sebastian Leibl, Oleksiyy Tsybrovskyy, and Helmut Denk, "How Many Lymph Nodes Are Necessary to Stage Early and Advanced Adenocarcinoma of the Sigmoid Colon and Upper Rectum?," *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 443, no. 2 (August 2003): 133–38, <https://doi.org/10.1007/s00428-003-0858-3>.

⁵⁰³ Nancy N. Baxter et al., "Lymph Node Evaluation in Colorectal Cancer Patients: A Population-Based Study," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 97, no. 3 (February 2, 2005): 219–25, <https://doi.org/10.1093/jnci/dji020>.

⁵⁰⁴ Matija Horzic and Mario Kopljär, "Minimal Number of Lymph Nodes That Need to Be Examined for Adequate Staging of Colorectal Cancer--Factors Influencing Lymph Node Harvest," *Hepato-Gastroenterology* 52, no. 61 (February 2005): 86–89.

⁵⁰⁵ Bui et al., "Lymph Node Counts, Rates of Positive Lymph Nodes, and Patient Survival for Colon Cancer Surgery in Ontario, Canada."

⁵⁰⁶ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁵⁰⁷ Y. Adachi et al., "Histopathologic Criteria for Local Excision of Colorectal Cancer: Multivariate Analysis," *Annals of Surgical Oncology* 6, no. 4 (June 1999): 385–88, <https://doi.org/10.1007/s10434-999-0385-9>.

⁵⁰⁸ Stojanoski et al., "Sentinel Lymph Node Detection in Colorectal Cancer – First Experience."

⁵⁰⁹ Bilchik et al., "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer."

⁵¹⁰ Iddings et al., "The Prognostic Effect of Micrometastases in Previously Staged Lymph Node Negative (N0) Colorectal Carcinoma."

6.D.3. RESULTADOS DE PACIENTES EN ESTADIO III

6.D.3.a. PACIENTES EN ESTADIO III: PACIENTES CON INFILTRACIÓN GANGLIONAR:

Según la clasificación TNM del CCR, se consideran pacientes en Estadio III, aquellos que presentan infiltración ganglionar. A su vez, la última revisión de la AJCC de la clasificación TNM del CCR (8ª edición), define como ganglios infiltrados (N+) aquellos con metástasis y micrometástasis; no así las células tumorales aisladas que se consideran afectación ganglionar sin valor sobre el pronóstico.⁵¹¹

Siendo la infiltración ganglionar el factor pronóstico más importante en los pacientes con CCR sin enfermedad metastásica, se deduce la necesidad de realizar un correcto estudio ganglionar.

En el grupo OSNA, de los 121 pacientes estudiados, se identificaron un total de 57 (47,10%) en estadio III. Algunos de estos pacientes presentaban al mismo tiempo infiltración de GC y de GnoC, otros únicamente de los GC (supraestadificación) y por último, hubo pacientes que solo mostraron infiltración de los GnoC (falsos negativos):

- *El estudio convencional de los ganglios no centinela identificó infiltración ganglionar en 25 (20,7%) de los 121 pacientes.*
- *El estudio molecular de los GC identificó afectación ganglionar metastásica y/o micrometastásica en 48 (39,7%) de los 121 pacientes (55 (45,8%) de los 121 pacientes si se considerarían las CTA).*

En el grupo control "A", de los 157 pacientes, se identificaron un total de 32 (20,4%) en estadio III. En este grupo no se realizó la técnica del ganglio centinela y todos los ganglios identificados se analizaron mediante el método convencional.

⁵¹¹ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

En el grupo control "B", de los 277 pacientes de la muestra, se identificaron un total de 87 pacientes (31,4%) en estadio III gracias al estudio intensivo de los GC y al estudio convencional de los GnoC. Al igual que en el grupo OSNA, hubo pacientes que presentaron al mismo tiempo GC y GnoC positivos, pacientes solo con GC positivos (supraestadificados) y pacientes solo con GnoC positivos (falsos negativos).

- El estudio convencional de los ganglios no centinela identificó afectación ganglionar en 44 (15,88%) de los 277 pacientes.
- El estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ de los GC identificó infiltración ganglionar metastásica y/o micrometastásica en 73 (26,4%) de los 277 pacientes. (Si se considerarían positivos los GC con células tumorales aisladas el número de pacientes con GC afectados ascendería a 85 (30,9%)).

De estos datos se deducen los siguientes puntos:

1. En el grupo OSNA y en el grupo control "B", se identificaron más pacientes en E-III que en el grupo control "A" con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,001$ y $p=0,01$).

Además los resultados obtenidos en el grupo OSNA superaron los del grupo control "B" ($p=0,003$).

Pacientes en E-III del cáncer de colon:

Grupo OSNA → 47,10%

Grupo Control "B" → 31,4%

Grupo control "A" → 20,4%

Así pues, se evidencia la ventaja del estudio intensivo de los ganglios centinela (y más aun el estudio molecular con el método OSNA) mas el estudio convencional de los ganglios no centinela, con respecto al estudio

convencional de todos los ganglios de la pieza quirúrgica realizado en el grupo control "A".^{512 513 514 515 516 517}

2. El estudio convencional de los ganglios no centinela del grupo OSNA y el estudio de la totalidad de los ganglios del grupo control "A" no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,95$).

Grupo OSNA (GnoC+)→ 20,7%

Grupo control "A" (N+)→ 20,4%

Este hallazgo conlleva a la idea de que la supraestadificación obtenida en el grupo OSNA es debida principalmente al estudio intensivo de los GC.^{518 519 520}

3. El análisis exclusivo de los GC en el grupo OSNA diagnosticó a mas pacientes en E-III del CC que el estudio convencional del total de los ganglios realizado en el grupo control "A" ($p<0,05$).

⁵¹² Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁵¹³ Alix Marhic et al., "Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node in Colon Carcinomas by One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Reduces Time to Adjuvant Chemotherapy Interval," *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 49, no. 8 (August 2017): 924–28, <https://doi.org/10.1016/j.dld.2017.05.017>.

⁵¹⁴ Alexander Stojadinovic et al., "Prospective Randomized Study Comparing Sentinel Lymph Node Evaluation with Standard Pathologic Evaluation for the Staging of Colon Carcinoma: Results from the United States Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study GI-01," *Annals of Surgery* 245, no. 6 (June 2007): 846–57, <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000256390.13550.26>.

⁵¹⁵ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

⁵¹⁶ Kazuo Koyanagi et al., "Prognostic Relevance of Occult Nodal Micrometastases and Circulating Tumor Cells in Colorectal Cancer in a Prospective Multicenter Trial," *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 14, no. 22 (November 15, 2008): 7391–96, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0290>.

⁵¹⁷ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos"; Sardón Ramos et al.

⁵¹⁸ Croner 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."

⁵¹⁹ Rubén Hernando Távira, "Utilidad del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo" (<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>, Universitat Autònoma de Barcelona, 2007), <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=5957>.

⁵²⁰ Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study."

Sin embargo, la diferencia entre el análisis exclusivo de los GC en el grupo control "B" y el total de los ganglios del grupo control "A" no fue estadísticamente significativa ($p=0,16$).

Grupo OSNA (GC+)→ 39,7%
Grupo Control "B" (GC+) → 26,4%
Grupo control "A" (N+)→ 20,4%

Estos datos demuestran la rentabilidad del estudio exclusivo de los GC mediante la técnica molecular OSNA, en comparación al estudio convencional del total de los ganglios,^{521 522} ya que consigue identificar más pacientes en E-III analizando únicamente los GC; incluso permite contemplar la idea, en un futuro, del análisis exclusivo de los GC.^{523 524} No obstante, esta idea, queda fuera del objetivo del estudio actual.

Sin embargo, los resultados no son tan buenos con el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ.

4. El estudio intensivo de los GC (mediante método OSNA o múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ) más el estudio convencional de los GnoC, identificó mayor número de pacientes es estadio III que ambos métodos por separado. Por lo que ambos estudios ganglionares (el estudio molecular de los GC más el estudio convencional de los GnoC) se complementan obteniendo un mayor

⁵²¹ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁵²² Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon"; Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁵²³ Yasuhiro Tamaki, "One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA): Where Do We Go with It?," *International Journal of Clinical Oncology* 22, no. 1 (February 2017): 3–10, <https://doi.org/10.1007/s10147-016-1030-9>.

⁵²⁴ Stefano Scabini, "Sentinel Node Biopsy in Colorectal Cancer: Must We Believe It?," *World Journal of Gastrointestinal Surgery* 2, no. 1 (January 27, 2010): 6–8, <https://doi.org/10.4240/wjgs.v2.i1.6>.

número de pacientes en E-III del CC y evitando los posibles FN de ambas técnicas por separado.

Tabla 61. Comparación del estudio intensivo de los GC, el estudio convencional de los GnoC y ambos conjuntamente en el grupo control "B" y el grupo OSNA.

	GnoC +	GC +	GC+ y GnoC+
Grupo OSNA	20,7%	39,7%	47,10%
Grupo control "B"	15,88%	26,4%	31,4%

Tabla 62. Resumen de los beneficios observados en este estudio de investigación.

.- Añadir el estudio molecular de los GC (y en menor medida el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ) al estudio convencional de la pieza quirúrgica permite diagnosticar a más pacientes en E-III (concepto de supraestadificación)
.-El análisis exclusivo de los GC con el método OSNA identifica mayor número de pacientes en E-III que el estudio convencional del total de los ganglios (rentabilidad del estudio molecular de los GC)
.-El estudio intensivo de los GC y el convencional de los GnoC, se complementan, obteniendo mejores resultados que ambos por separado (integración de dos técnicas de estudio para mejorar los resultados)

6.D.3.b. SUPRAESTADIFICACIÓN:

Mejorar los métodos de búsqueda y análisis ganglionar puede incrementar el número de pacientes diagnosticados de estadio III. De esta idea surge el concepto de **supraestadificación**.

6.D.3.b.1. Supraestadificación del grupo OSNA y del grupo control "B":

En este estudio de investigación se consideraron **pacientes supraestadificados dentro de cada muestra** (grupo OSNA y grupo control "B"), aquellos en los que los GC mostraron infiltración metastásica o micrometastásica, con resto de los GnoC negativos.

Pacientes supraestadificados en el grupo OSNA y control "B":

Pacientes con GC positivos y resto de GnoC negativos

-Supraestadificación del grupo OSNA:

En el grupo OSNA, de los 121 pacientes que conformaban el grupo, hubo 32 (26,4%) con GC positivos para metástasis y/o micrometástasis mientras que el resto de GnoC resultaron negativos. Por lo tanto, se obtuvo una supraestadificación del 26,4% dentro de la muestra.

SUPRAESTADIFICACIÓN Grupo OSNA → 26,4%

De los 32 pacientes con GC como único ganglio positivo, 8 (25%) presentaron infiltración metastásica y 24 (75%) micrometastásica.

Estos datos demuestran que el estudio intensivo de los GC con el método molecular OSNA obtiene mejores resultados que el estudio convencional de los GnoC, consiguiendo diagnosticar a un mayor número de pacientes en E-III de la enfermedad.^{525 526 527 528 529}

Además, los resultados también evidencian que el estudio intensivo de los GC con el método OSNA obtiene mayor supraestadificación a expensas del hallazgo de micrometástasis en los GC (*el 75% de los pacientes supraestadificados lo fueron gracias al hallazgo de micrometástasis*).^{530 531 532 533 534 535 536 537 538}

-Supraestadificación del grupo control "B":

En el grupo control "B" hubo 43 (15,5%) pacientes de los 277, con infiltración únicamente de los GC, por lo que se obtuvo una supraestadificación del 15,5% gracias al estudio intensivo de los GC con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ.

SUPRAESTADIFICACIÓN grupo control "B" → 15,5%
--

⁵²⁵ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁵²⁶ Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study."

⁵²⁷ Tavira, "Utilidad del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo."

⁵²⁸ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

⁵²⁹ Marhic et al., "Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node in Colon Carcinomas by One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Reduces Time to Adjuvant Chemotherapy Interval."

⁵³⁰ Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study."

⁵³¹ Noura et al., "Comparative Detection of Lymph Node Micrometastases of Stage II Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry."

⁵³² López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁵³³ Goussous et al., "Association of One-Step Nucleic Acid Amplification Detected Micrometastases with Tumour Biology and Adjuvant Chemotherapy."

⁵³⁴ Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer."

⁵³⁵ Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer."

⁵³⁶ Tiernan et al., "Systematic Review and Meta-Analysis of Cytokeratin 19-Based One-Step Nucleic Acid Amplification versus Histopathology for Sentinel Lymph Node Assessment in Breast Cancer."

⁵³⁷ Babar et al., "One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Positive Micrometastases and Additional Histopathological NSLN Metastases."

⁵³⁸ Tavira, "Utilidad del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo."

En el grupo control "B" de los 43 pacientes con infiltración únicamente de los GC, en 29 (67,44%) la infiltración fue metastásica y en 14 (32,55%) micrometastásica.

-Comparación de la supraestadificación del grupo OSNA con la supraestadificación del grupo control "B":

Ambas técnicas (el método OSNA y el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ) mejoraron la estadificación dentro de cada grupo control al localizar más pacientes en E-III.

El estudio de los GC con **el método OSNA obtuvo mayor supraestadificación que el estudio intensivo con múltiples secciones e IHQ** (26,4% versus 15,5%). Esta diferencia en la supraestadificación obtenida entre ambos grupos, demuestra la superioridad y/o la **no inferioridad del método OSNA frente al estudio intensivo con múltiples secciones e IHQ** ($p=0,01$).^{539 540 541}

SUPRAESTADIFICACIÓN (OSNA frente a control "B") →

26,45 - 15,5% → 10,95%

$p=0,01$

El hallazgo de infiltración metastásica no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambas técnicas ($p=0,223$), mientras que el hallazgo de micrometástasis fue significativamente mayor mediante el método OSNA ($p<0,001$).

⁵³⁹ Croner 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."

⁵⁴⁰ Güller et al., "Molecular Investigation of Lymph Nodes in Colon Cancer Patients Using One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA)."

⁵⁴¹ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

De esta manera, la supraestadificación se obtiene principalmente del hallazgo de **micrometástasis en el grupo OSNA y de metástasis en el grupo control "B"**.^{542 543 544 545}

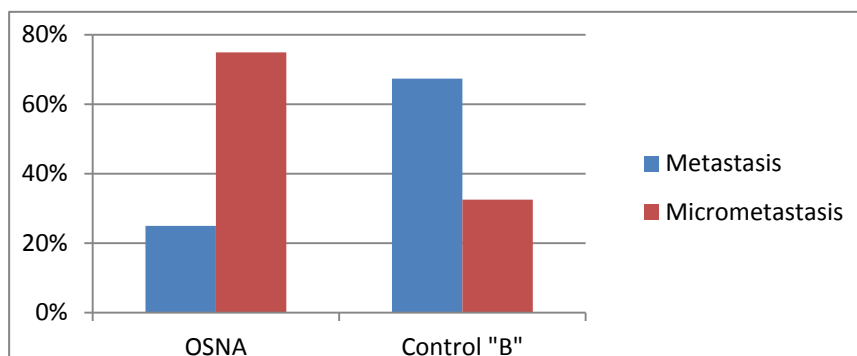


Figura 31. Gráfico de columnas. Tipo de infiltración de los GC en el grupo OSNA y el control "B".

Tabla 63. Resumen de los hallazgos de la supraestadificación obtenidos en este estudio de investigación.

- .-El estudio intensivo de los GC con múltiples secciones o con el método OSNA mejora la estadificación dentro de la muestra (supraestadificación) al hallar más pacientes en E-III**
- .-El método OSNA obtiene mayor supraestadificación que el estudio intensivo con múltiples secciones**
- .-La mejoría en la supraestadificación del método OSNA se debe principalmente al hallazgo de micrometástasis**

⁵⁴² López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁵⁴³ Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer."

⁵⁴⁴ Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer."

⁵⁴⁵ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

6.D.3.b.2. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional:

Comparación de pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "A":

Se considera **supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional** a la diferencia obtenida entre los pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "A". En el grupo OSNA se han considerado E-III los pacientes con ganglios positivos tanto centinela como no centinela.

Tabla 64. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional.

Supraestadificación del método OSNA frente al estudio convencional:

Mejora obtenida en el diagnóstico de pacientes en E-III del CC mediante el empleo de la búsqueda de los GC y el estudio molecular de los mismos con el método OSNA, más el estudio convencional del resto de GnoC, en comparación con el estudio convencional del total de los ganglios de la pieza quirúrgica

Con el fin de demostrar que el método OSNA mejora la estadificación de los pacientes con CC con respecto al estudio convencional, se compararon los resultados con un grupo retrospectivo (grupo control "A") en el que únicamente se empleó el estudio histológico convencional en la totalidad de los ganglios de la pieza quirúrgica. No se realizó un estudio prospectivo del grupo control, ya que los resultados obtenidos en nuestro hospital en investigaciones anteriores, ya habían demostrado la superioridad del estudio intensivo de los ganglios centinela en comparación al estudio convencional a la hora clasificar a pacientes en E-III del CC⁵⁴⁶ y no se consideró ético privar a un grupo de dicho beneficio.

En el grupo OSNA, de los 121 pacientes que conformaron el grupo, 57 pacientes (47,1%) presentaron infiltración ganglionar (en GC o GnoC), mientras que en el grupo control "A", de 157 pacientes, 32 (20,4%) presentaron infiltración ganglionar.

⁵⁴⁶ Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon"; Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

Tabla 65. Comparación de pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "A".

	Estudio OSNA	Control "A"
Número de pacientes	121	157
Pacientes en estadio III (N+)	57	32
Pacientes en E-III (%)	47,10%	20,4%

La diferencia de pacientes en E-III del grupo control "A" con respecto al grupo OSNA (47,10%-20,40%) fue del 26,7%, a favor del método OSNA; esto demuestra que el estudio intensivo de los GC mediante el método OSNA, añadido al estudio convencional de los GnoC, obtiene una supraestadificación estadísticamente significativa ($p=0,001$), con respecto al estudio convencional de la totalidad de los ganglios.⁵⁴⁷

SUPRAESTADIFICACIÓN : OSNA frente al estudio convencional →

47,1% - 20,4% → 26,7%

$p=0,001$

Tabla 66. Beneficio del estudio de los GC mediante el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC con respecto al grupo control "A".

.-El estudio de los GC con el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC obtiene mejores resultados que el estudio convencional del total de los ganglios de la pieza

.-La mejoría de los resultados del método OSNA con respecto al estudio convencional se debe a varias razones: ^{548 549 550 551 552 553}

- Porcentaje de tejido ganglionar analizado
- Hallazgo de infiltraciones de menor tamaño
- Resultados cuantitativos, no patólogo dependientes

⁵⁴⁷ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁵⁴⁸ López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁵⁴⁹ M. P. Guillén-Paredes et al., "Aplicación de la técnica OSNA en el análisis intraoperatorio del ganglio centinela en el cáncer de mama," *Cirugía Española* 89, no. 4 (2011): 261–62.

⁵⁵⁰ Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer."

⁵⁵¹ Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer."

⁵⁵² Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁵⁵³ Rakislova et al., "Lymph Node Pooling."

6.D.3.b.3. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio con múltiples secciones e IHQ:

Comparación de pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "B":

Este estudio de investigación ha permitido comparar la supraestadificación obtenida aplicando el método OSNA en los GC en contraste con la realización de múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ; **supraestadificación del método OSNA frente al estudio intensivo con múltiples secciones e IHQ.**

Tabla 67. Supraestadificación del método OSNA frente al estudio intensivo con múltiples secciones.

Supraestadificación del método OSNA frente al estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ:

Mejora obtenida en el diagnóstico de pacientes en E-III del CC mediante el empleo de la búsqueda de los GC y el estudio molecular de los mismos con el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC, en comparación con el estudio intensivo con múltiples secciones e IHQ de los GC más el estudio convencional de los GnoC

En el grupo OSNA, de los 121 pacientes que conformaban el grupo, se diagnosticaron un total de 57 pacientes (47,1%) en estadio III del CC, mientras que en el grupo control "B", de 277 pacientes, 87 (31,4%) correspondieron al E-III.

Al comparar el total de los pacientes en Estadio III del grupo control "B" con los pacientes en Estadio III del grupo OSNA se observa una diferencia estadísticamente significativa ($P=0,003$) a favor del método OSNA:

SUPRAESTADIFICACIÓN : OSNA frente al control "B" →

47,1% - 31,4% → 15,7% $P=0,003$

El aumento de supraestadificación en el estudio actual se debe al método utilizado para el estudio de los GC (método molecular OSNA) como se ha visto principalmente en estudios realizados para el cáncer de mama. Esta mejora obtenida mediante el método OSNA es consecuencia del estudio de la totalidad del tejido ganglionar, el mayor hallazgo de infiltraciones de menor tamaño (micrometástasis) y la no dependencia del patólogo que realiza la técnica.^{554 555 556 557 558 559}

Tabla 68. Beneficio del estudio de los GC mediante el método OSNA más el estudio convencional de los GnoC con respecto estudio realizado en el grupo control "B".

.-El estudio de los GC con el método OSNA mas el estudio convencional de los GnoC obtiene mejores resultados que el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ de los GC asociado al estudio convencional de los GnoC .-La mejoría de los resultados del método OSNA con respecto al estudio intensivo con múltiples secciones se debe a varias razones: -Porcentaje de tejido ganglionar analizado -Hallazgo de infiltraciones de menor tamaño -Resultados cuantitativos, no patólogo dependientes
--

⁵⁵⁴ López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁵⁵⁵ Goussous et al., "Association of One-Step Nucleic Acid Amplification Detected Micrometastases with Tumour Biology and Adjuvant Chemotherapy."

⁵⁵⁶ Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer."

⁵⁵⁷ Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer."

⁵⁵⁸ Tiernan et al., "Systematic Review and Meta-Analysis of Cytokeratin 19-Based One-Step Nucleic Acid Amplification versus Histopathology for Sentinel Lymph Node Assessment in Breast Cancer."

⁵⁵⁹ Guillén-Paredes et al., "Aplicación de la técnica OSNA en el análisis intraoperatorio del ganglio centinela en el cáncer de mama."

6.D.3.b.4. Concepto de supraestadificación máxima. Limitación del estudio:

En este estudio de investigación, los ganglios centinela se analizaron en su totalidad mediante el método molecular OSNA (de igual manera en el grupo control "B" con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ) por lo que no fueron estudiados mediante el método convencional. Por lo tanto, se desconoce lo que hubiese ocurrido de haberse aplicado únicamente el método convencional (podrían haber sido o no correctamente estadificados).

Así, se debe considerar que la supraestadificación obtenida en este estudio (y de igual manera en el grupo control "B") es la **supraestadificación máxima** de la técnica. Por lo tanto, el conjunto de pacientes considerado "pacientes supraestadificados"(26,4%), es decir, aquellos con ganglios centinela positivos y ganglios no centinela negativos conforman la supraestadificación máxima de la técnica.

**La supraestadificación obtenida en este estudio es la
supraestadificación "máxima" de la técnica**

En cuanto al valor mínimo de la supraestadificación o **supraestadificación mínima**, no es posible calcular su valor exacto ya que para ello habría que haber estudiado los GC con técnicas convencionales antes de aplicar el método molecular.

Considerando la dificultad de identificar ganglios inferiores a los 5mm (que suponen el 30-50% de los ganglios)^{560 561 562} que se logra mediante la búsqueda de los GC ex vivo con azul de metileno, que el estudio convencional únicamente analiza el 1-2% del total del tejido ganglionar (mientras que el método OSNA analiza en 100%)^{563 564 565 566 567} y

⁵⁶⁰ Philipp Schrembs et al., "The Prognostic Significance of Lymph Node Size in Node-Positive Colon Cancer," *PLOS ONE* 13, no. 8 (August 10, 2018): e0201072, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201072>.

⁵⁶¹ Ortrun Rössler et al., "Tumor Size, Tumor Location, and Antitumor Inflammatory Response Are Associated with Lymph Node Size in Colorectal Cancer Patients," *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 30, no. 6 (2017): 897–904, <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.227>.

⁵⁶² Bruno Märkl et al., "The Clinical Significance of Lymph Node Size in Colon Cancer," *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 25, no. 10 (October 2012): 1413–22, <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.92>.

⁵⁶³ Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁵⁶⁴ Bilchik et al., "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer."

que en el grupo OSNA el 75% de los ganglios infiltrados lo fueron a expensas de micrometástasis (muy difíciles de diagnosticar mediante el método convencional);⁵⁶⁸
⁵⁶⁹ lo más probable es que la supraestadificación mínima se aproxime a la supraestadificación máxima.

No obstante, si se hace una estimación de la supraestadificación mínima teniendo en cuenta los pacientes diagnosticados de E-III por el hallazgo de micrometástasis en los GC (ya que son las que más fácilmente pasan inadvertidas mediante el estudio convencional); considerando que los pacientes del grupo OSNA supraestadificados por el hallazgo de micrometástasis fueron 24, la supraestadificación mínima podría ser del 19,83%.

**La supraestadificación mínima podría estar definida por los
pacientes supraestadificados por el hallazgo de
micrometástasis en los GC**

Así pues, el valor real de la supraestadificación estaría comprendido entre el valor mínimo estimado a partir del concepto de lesiones micrometastásicas y el valor máximo, definido por los paciente con GC positivos y resto de GnoC negativos:

Valor real de la supraestadificación: 19,83- 26,4%

En un gran número de las publicaciones, cuando se define la supraestadificación, se hace referencia a lo que en este estudio de investigación se ha denominado supraestadificación "máxima", ya que al igual que en el grupo OSNA, en estos estudios solo se realizaron análisis intensivos de los ganglios centinela (generalmente con

⁵⁶⁵ Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁵⁶⁶ Wild et al., "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer?"

⁵⁶⁷ Diaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

⁵⁶⁸ Vogelaar et al., "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients."

⁵⁶⁹ Sun Jin Park, Kil Yeon Lee, and Si Young Kim, "Clinical Significance of Lymph Node Micrometastasis in Stage I and II Colon Cancer," *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association* 40, no. 2 (June 2008): 75–80, <https://doi.org/10.4143/crt.2008.40.2.75>.

múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ o algunos con técnicas moleculares).^{570 571}
^{572 573 574 575} También hay trabajos en los que se utilizaron los mismos métodos intensivos tanto en los GC como en los GnoC.⁵⁷⁶

En otras publicaciones, sí se describen trabajos en los que todos los ganglios fueron estudiados con el método convencional y únicamente cuando los GC resultaron negativos con el empleo de técnicas convencionales, se aplicaron técnicas de estudio intensivo en los mismos.^{577 578 579 580 581 582 583} En estos estudios, la sección de tejido ganglionar empleado inicialmente para el estudio convencional, no fue la misma que se utilizó posteriormente para relizar el estudio intensivo; por lo que no se pudo estudiar el mismo tejido ganglionar con los dos métodos a comparar. En nuestro estudio se desestimo esta opción ya que hacer inicialmente un estudio histológico convencional implicaba manipular el ganglio centinela y no poder estudiar la totalidad del tejido con la técnica molecular OSNA pudiendo alterar los resultados. Además, se consideró que al no estudiar el mismo tejido ganglionar con ambas técnicas no se obtenía mejora en la calidad del estudio.

⁵⁷⁰ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁵⁷¹ Bilchik et al., "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer."

⁵⁷² Viehl et al., "Sentinel Lymph Node Procedure Leads to Upstaging of Patients with Resectable Colon Cancer."

⁵⁷³ Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon"; Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁵⁷⁴ David A. Wiese et al., "Pathologic Evaluation of Sentinel Lymph Nodes in Colorectal Carcinoma," *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, no. 12 (December 1, 2000): 1759–63, [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2000\)124<1759:PEOSLN>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124<1759:PEOSLN>2.0.CO;2).

⁵⁷⁵ Yves Bendavid et al., "Phase I Study on Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer: A Preliminary Report," *Journal of Surgical Oncology* 79, no. 2 (February 2002): 81–84; discussion 85, <https://doi.org/10.1002/jso.10052>.

⁵⁷⁶ Wendy Kelder et al., "Value of RT-PCR Analysis of Sentinel Nodes in Determining the Pathological Nodal Status in Colon Cancer," *Anticancer Research* 27, no. 4C (August 2007): 2855–59.

⁵⁷⁷ Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma."

⁵⁷⁸ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁵⁷⁹ Wood et al., "One Hundred Consecutive Cases of Sentinel Lymph Node Mapping in Early Colorectal Carcinoma."

⁵⁸⁰ Kelder et al., "The Sentinel Node Procedure in Colon Carcinoma."

⁵⁸¹ Bembenek et al., "Sentinel Lymph Node Biopsy in Colon Cancer."

⁵⁸² Tavira, "Utilidad del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo."

⁵⁸³ Kelder et al., "Value of RT-PCR Analysis of Sentinel Nodes in Determining the Pathological Nodal Status in Colon Cancer."

En este estudio se optó por estudiar los GC en su totalidad con el método OSNA y los GnoC con método convencional y comparar los resultados con un grupo retrospectivo en el que únicamente se realizó la técnica convencional (Grupo control "A"). De esta manera, se ha comprobado que la supraestadificación obtenida dentro del grupo OSNA "supraestadificación máxima" (26,4%) (pacientes con GC positivos y GnoC negativos) y la supraestadificación obtenida de la comparación de pacientes en E-III en el grupo OSNA y en el grupo control "A" (26,7%) son muy similares por lo que los datos orientan a que la verdadera supraestadificación se encuentra en torno a estos valores.

6.D.3.c. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA. FALSOS NEGATIVOS:

Los resultados del análisis de validez variaron según se tuvo en cuenta el tipo de afectación ganglionar. Si se consideraba la infiltración metastásica y micrometastásica de los GC, los resultados evidenciaban mayor especificidad y VP+ mientras que si se añadían los GC afectados por células tumorales aisladas mejoraban la sensibilidad y el VP-:

- Valores para GC con metástasis y micrometástasis:

Tabla 69. Parámetros estadísticos obtenidos al considerar infiltración ganglionar las metástasis y micrometástasis.

		IC 95%
Sensibilidad	84,2%	74,7% a 93,7%
Especificidad	100%	100% a 100%
Valor predictivo positivo	100%	100% a 100%
Valor predictivo negativo	87,7%	80,1% a 95,2%

- Valores para GC con metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas:

Tabla 70. Parámetros estadísticos obtenidos al considerar afectación ganglionar las metástasis, micrometástasis y células tumorales aisladas.

		IC 95%
Sensibilidad	87,7%	79,2% a 96,2%
Especificidad	92,2%	85,6% a 98,8%
Valor predictivo positivo	90,9%	83,3% a 98,5%
Valor predictivo negativo	89,4%	82,0% a 96,8%

La alta especificidad se debió al estudio del 100% del tejido ganglionar y al acierto en el empleo del mRNA de la citoqueratina 19 previa comprobación de su existencia en el tejido tumoral. Los datos permiten confiar en que prácticamente puede excluirse el riesgo de falsos positivos (salvo que exista contaminación del tejido ganglionar).⁵⁸⁴

⁵⁸⁴ Benigno Acea-Nebril et al., "Micrometástasis del ganglio centinela en mujeres con carcinoma ductal in situ. Falsos positivos del método OSNA (One-step nucleic acid amplification)?," *Cirugía Española* 94, no. 2 (February 1, 2016): 121–22, <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2015.04.016>.

La sensibilidad obtenida fue muy alta (84,2% para mtx y micromtx y del 87,7% si se añaden CTA), permitiendo diagnosticar correctamente en E-III a aproximadamente 8-9 de cada 10 pacientes analizando únicamente los GC. Sin embargo, el objetivo de este estudio no es validar la técnica del GC con el método OSNA para sustituir el método de estudio convencional, sino aportar una mejora más en el estudio de la pieza quirúrgica que facilite la toma de decisiones a la hora de seleccionar pacientes candidatos a tratamiento adyuvante.

6.D.3.c.1. Falsos negativos:

En este estudio de investigación se consideraron falsos negativos aquellos pacientes en los que los GC resultaron negativos mientras que los GnoC demostraron infiltración ganglionar; es decir, pacientes en estadio III diagnosticados mediante el estudio convencional de los GnoC y no mediante el estudio molecular de los GC.

Tabla 71. Definición de falsos negativos.

FALSOS NEGATIVOS: Pacientes diagnosticados de E-III de cáncer de colon por el hallazgo de infiltración ganglionar en los GnoC analizados mediante el método convencional y no por el estudio de los GC con el método molecular

En muchos de los trabajos publicados hasta la fecha actual, la tasa de falsos negativos se encuentra entre el 0-10%,^{585 586 587 588 589 590 591} no obstante existen trabajos con

⁵⁸⁵ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁵⁸⁶ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁵⁸⁷ Bilchik et al., "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer."

⁵⁸⁸ Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon"; Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁵⁸⁹ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

tasas muy elevadas, de hasta 20-60%. Estos porcentajes tan elevados se observan principalmente en trabajos con muy poca experiencia de los cirujanos y pocos pacientes por cirujano y/o en estudios multicéntricos en los que participaban múltiples cirujanos con muy pocos casos por profesional.^{592 593 594 595 596 597}

En este estudio de investigación, de los 121 pacientes que conformaron el grupo OSNA, 7 (5,78%) presentaron infiltración de los GnoC, sin existir ningún tipo de afectación de los GC. Por lo tanto, la tasa de FN de la prueba fue del 5,78%. En 2 pacientes diagnosticados de E-III por el hallazgo de infiltración de los GnoC, los GC presentaron únicamente afectación por células tumorales aisladas. Si se considerasen estos dos pacientes falsos negativos, el porcentaje de FN ascendería a 7,43%.

Los buenos resultados obtenidos en este estudio probablemente sean debidos a la experiencia del equipo quirúrgico en proyectos anteriores y al interés y colaboración que han demostrado siempre tanto cirujanos como patólogos en su realización.

Los falsos negativos pueden ser debidos a varios factores: metástasis ganglionares saltatorias que no siguen estrictamente el recorrido linfático,^{598 599 600} vías de drenaje aberrante principalmente asociados a tumores localmente avanzados que alteran el

⁵⁹⁰ J. C. Paramo et al., "Intraoperative Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Colon Cancer," *American Journal of Surgery* 182, no. 1 (July 2001): 40–43, [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(01\)00658-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(01)00658-4).

⁵⁹¹ Bendavid et al., "Phase I Study on Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer."

⁵⁹² Bertagnolli et al., "Sentinel Node Staging of Resectable Colon Cancer."

⁵⁹³ Bembenek et al., "Sentinel Lymph Node Biopsy in Colon Cancer."

⁵⁹⁴ B. W. Feig et al., "A Caution Regarding Lymphatic Mapping in Patients with Colon Cancer," *American Journal of Surgery* 182, no. 6 (December 2001): 707–12, [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(01\)00803-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(01)00803-0).

⁵⁹⁵ Arend E. H. Merrie et al., "Diagnostic Use of the Sentinel Node in Colon Cancer," *Diseases of the Colon & Rectum* 44, no. 3 (March 1, 2001): 410–17, <https://doi.org/10.1007/BF02234742>.

⁵⁹⁶ S. M. Retter, G. Herrmann, and T. H. K. Schiedeck, "Clinical Value of Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon," *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 13, no. 8 (August 2011): 855–59, <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2010.02293.x>.

⁵⁹⁷ Thomas E. Read, James W. Fleshman, and Philip F. Caushaj, "Sentinel Lymph Node Mapping for Adenocarcinoma of the Colon Does Not Improve Staging Accuracy," *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 1 (January 2005): 80–85, <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0795-5>.

⁵⁹⁸ Wood et al., "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma."

⁵⁹⁹ Wood et al., "One Hundred Consecutive Cases of Sentinel Lymph Node Mapping in Early Colorectal Carcinoma."

⁶⁰⁰ Kelder et al., "The Sentinel Node Procedure in Colon Carcinoma."

drenaje linfático^{601 602 603} experiencia del cirujano que realiza la búsqueda⁶⁰⁴ o resecciones con menor potencial oncológico que no permiten un correcto estudio del drenaje linfático e incluso, cantidad de colorante empleado para la búsqueda ganglionar.^{605 606 607 608}

Pocos estudios hacen referencia a la asociación entre la infiltración tumoral local y los resultados obtenidos (FN). Sin embargo, algunos trabajos publicados hasta la fecha han evidenciado que los tumores menos avanzados (T1-2) ofrecen mejores resultados a la hora de identificar correctamente los GC permitiendo una tasa menor de FN que los tumores localmente avanzados.^{609 610 611 612 613 614 615}

En el grupo OSNA, 5 de los 7 pacientes (71,42%) incorrectamente clasificados (FN), correspondían a pacientes intervenidos de tumores localmente avanzados (pT3) (7 de 9 pacientes (77,77%) si se consideran FN los individuos con GC infiltrados por CTA). Así, se observa, que la mayoría de los pacientes incorrectamente clasificados mediante el

⁶⁰¹ Bilchik et al., "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer."

⁶⁰² J. M. Guenther, M. Krishnamoorthy, and L. R. Tan, "Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer in a Community Managed Care Setting," *The Cancer Journal from Scientific American* 3, no. 6 (December 1997): 336–40.

⁶⁰³ Read, Fleshman, and Caushaj, "Sentinel Lymph Node Mapping for Adenocarcinoma of the Colon Does Not Improve Staging Accuracy."

⁶⁰⁴ Bembenek et al., "Sentinel Lymph Node Biopsy in Colon Cancer."

⁶⁰⁵ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁶⁰⁶ Paramo et al., "Intraoperative Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Colon Cancer."

⁶⁰⁷ Bendavid et al., "Phase I Study on Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer."

⁶⁰⁸ Carsten T. Viehl et al., "Identification of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Depends on the Amount of Dye Injected Relative to Tumor Size," *World Journal of Surgery* 27, no. 12 (December 2003): 1285–90, <https://doi.org/10.1007/s00268-003-7086-5>.

⁶⁰⁹ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

⁶¹⁰ Giuliano et al., "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer."

⁶¹¹ Ronan A Cahill, "What's Wrong with Sentinel Node Mapping in Colon Cancer?," *World Journal of Gastroenterology : WJG* 13, no. 47 (December 21, 2007): 6291–94, <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i47.6291>.

⁶¹² Gary H. Lyman et al., "American Society of Clinical Oncology Guideline Recommendations for Sentinel Lymph Node Biopsy in Early-Stage Breast Cancer," *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, no. 30 (October 20, 2005): 7703–20, <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.08.001>.

⁶¹³ Roderick R. Turner et al., "Colorectal Carcinoma Nodal Staging. Frequency and Nature of Cytokeratin-Positive Cells in Sentinel and Nonsentinel Lymph Nodes," *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 127, no. 6 (June 2003): 673–79, [https://doi.org/10.1043/1543-2165\(2003\)127<673:CCNS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/1543-2165(2003)127<673:CCNS>2.0.CO;2).

⁶¹⁴ Paolo Pietro Bianchi et al., "Laparoscopic Lymphatic Mapping and Sentinel Lymph Node Detection in Colon Cancer: Technical Aspects and Preliminary Results," *Surgical Endoscopy* 21, no. 9 (September 2007): 1567–71, <https://doi.org/10.1007/s00464-006-9152-1>.

⁶¹⁵ Dan et al., "1% Lymphazurin vs 10% Fluorescein for Sentinel Node Mapping in Colorectal Tumors."

estudio molecular de los GC, correspondían a individuos con tumores localmente avanzados como se describe en otros trabajos. Sin embargo, estos 5 ó 7 pacientes únicamente representaban el 8,77% o el 12,28% de los pacientes con infiltración local T3 (5 ó 7 individuos de un total de 57 pacientes T3).

Además, los otros 2 pacientes que fueron incorrectamente clasificados por el estudio de los GC mediante el método OSNA correspondían a una infiltración local T1 y suponían el 10,50% (2 de 19 pacientes) del total de pacientes T1.

En este estudio, por lo tanto, la mayoría de los pacientes incorrectamente clasificados correspondían a tumores localmente avanzados (71,42%), pero cuando se considera el porcentaje de pacientes incorrectamente clasificado dentro de cada grupo (según la infiltración local (T)), no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos T1 y T3 ni cuando se agrupan en pacientes con tumores precoces (Tis, T1 y T2) y avanzados (T3 y T4) ($p=0,76$). Tampoco se obtienen resultados significativos cuando se consideran FN los pacientes con GC afectados por CTA ($p=0,39$).

Otro dato a considerar en el análisis de los FN es el tipo de resección quirúrgica. En este estudio de investigación llama la atención que los 7 pacientes (100%) incorrectamente clasificados mediante el estudio de los GC, correspondían a pacientes con tumores dependientes de la arteria mesentérica inferior. Además se observó que 3 de los 6 pacientes (50%) en los que se realizó una resección de ángulo esplénico resultaron FN mientras que únicamente el 6,38% de las sigmoidectomías y el 10% de las hemicolectomías izquierdas lo fueron. Diferentes estudio realizados hasta la fecha han observado que los tumores mas distales presentan menor número de ganglios en la pieza, sin que ello implique una peor resección quirúrgica.^{616 617 618 619}

⁶¹⁶ Karl Y. Bilimoria et al., "Impact of Tumor Location on Nodal Evaluation for Colon Cancer," *Diseases of the Colon and Rectum* 51, no. 2 (February 2008): 154–61, <https://doi.org/10.1007/s10350-007-9114-2>.

⁶¹⁷ Jakob Lykke et al., "Lymph Node Yield and Tumour Subsite Are Associated with Survival in Stage I–III Colon Cancer: Results from a National Cohort Study," *World Journal of Surgical Oncology* 17 (April 2, 2019), <https://doi.org/10.1186/s12957-019-1604-x>.

⁶¹⁸ Tushar Samdani et al., "LYMPH NODE YIELD AFTER COLECTOMY FOR CANCER: IS ABSENCE OF MMR A FACTOR?," *Diseases of the Colon and Rectum* 58, no. 3 (March 2015): 288–93, <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000262>.

6.D.4. PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS IDENTIFICADOS

6.D.4.a. PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS IDENTIFICADOS:

Los pacientes con menos de 12 ganglios identificados conforman un grupo con mayor riesgo de fallo en la estadificación, ya que para una correcta clasificación se establece el mínimo de 12 ganglios estudiados.^{620 621 622 623} Analizar un menor número de ganglios, si todos ellos resultan negativos, puede llevar a interpretar que se trata de estadios precoces de la enfermedad cuando podrían no serlo (concepto de infraestadificación).

**El estudio de un número inferior a 12 ganglios puede conllevar
infraestadificación**

La variabilidad en el número de ganglios linfáticos recuperados tras una cirugía oncológica resulta un problema importante en el manejo del paciente, ya que no es infrecuente que no se alcanza el número mínimo recomendado (en este estudio, en el 10,74% de los pacientes no se alcanzó el mínimo de 12 ganglios). Esto puede deberse a diferentes causas: la experiencia del cirujano que realiza la cirugía oncológica,⁶²⁴ la minuciosidad del patólogo en la disección de la muestra, la edad del paciente (a edades más avanzadas menor número de ganglios),^{625 626} la obesidad visceral,^{627 628}

⁶¹⁹ Garrett M. Nash et al., "A Predictive Model for Lymph Node Yield in Colon Cancer Resection Specimens," *Annals of Surgery* 253, no. 2 (February 2011): 318–22, <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318204e637>.

⁶²⁰ Greene et al., *AJCC Cancer Staging Manual*.

⁶²¹ L.H. Sobin and Ch. Wittekind, *TNM Classification of Malignant Tumours, 6th Edition | UICC*.

⁶²² Edge, *AJCC Cancer Staging Manual*.

⁶²³ Amin, American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, *AJCC Cancer Staging Manual*.

⁶²⁴ Dimofte et al., "Mean Number of Lymph Nodes in Colonic Cancer Specimen."

⁶²⁵ Baxter et al., "Lymph Node Evaluation in Colorectal Cancer Patients."

⁶²⁶ F. C. Wright et al., "Lymph Node Retrieval and Assessment in Stage II Colorectal Cancer: A Population-Based Study," *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 8 (October 2003): 903–9, <https://doi.org/10.1245/aso.2003.01.012>.

tumores más grandes, estadios tumorales más altos,⁶²⁹ la localización tumoral (la hemicolectomía derecha presenta mayor número de ganglios).^{630 631 632}

En nuestra serie se localizaron una media de 21,48 ganglios por paciente; sin embargo, hubo 13 pacientes (10,7%) con menos de 12 ganglios y por lo tanto con más riesgo de una incorrecta estadificación.

La edad media de los pacientes con menos de 12 ganglios fue algo menor que la media del estudio (64,15 años frente a la edad media del estudio de 67,83 años), al contrario de lo descrito en otras publicaciones.^{633 634 635 636}

*Diez (76,92%) de los 13 pacientes correspondían a estadios precoces de la enfermedad con una infiltración de la pared del colon tipo Tis, T1 ó T2.*⁶³⁷

En 11 (84,61%) de los 13 pacientes el tumor se localizaba en el territorio de la arteria mesentérica inferior (hemicolon izquierdo).^{638 639 640}

⁶²⁷ Eun Kyung Choe et al., "The Impact of Visceral Adipose Tissue Amount on the Adequacy of Lymph Node Retrieval in Colorectal Cancer Surgery," *Journal of Surgical Oncology* 117, no. 3 (March 2018): 523–28, <https://doi.org/10.1002/jso.24876>.

⁶²⁸ Dénes Görög et al., "Influence of Obesity on Lymph Node Recovery from Rectal Resection Specimens," *Pathology Oncology Research: POR* 9, no. 3 (2003): 180–83, <https://doi.org/10.1007/bf03033734>.

⁶²⁹ Yusuke Yamaoka et al., "The Distribution of Lymph Node Metastases and Their Size in Colon Cancer," *Langenbeck's Archives of Surgery* 402, no. 8 (December 2017): 1213–21, <https://doi.org/10.1007/s00423-017-1628-z>.

⁶³⁰ L. H. Sobin, Ch Wittekind, and International Union against Cancer, eds., *TNM: Classification of Malignant Tumours*, 6th ed (New York: Wiley-Liss, 2002).

⁶³¹ Chen et al., "Pathological Examination of 12 Regional Lymph Nodes and Long-Term Survival in Stages I-III Colon Cancer Patients."

⁶³² Ryash Vather et al., "Lymph Node Evaluation and Long-Term Survival in Stage II and Stage III Colon Cancer: A National Study," *Annals of Surgical Oncology* 16, no. 3 (March 2009): 585–93, <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0265-8>.

⁶³³ Baxter et al., "Lymph Node Evaluation in Colorectal Cancer Patients."

⁶³⁴ Wright et al., "Lymph Node Retrieval and Assessment in Stage II Colorectal Cancer."

⁶³⁵ Brito et al., "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study."

⁶³⁶ Noura et al., "Comparative Detection of Lymph Node Micrometastases of Stage II Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry."

⁶³⁷ Yamaoka et al., "The Distribution of Lymph Node Metastases and Their Size in Colon Cancer."

⁶³⁸ Hermanek et al., "International Union Against Cancer. Classification of Isolated Tumor Cells and Micrometastasis."

⁶³⁹ Chen et al., "Pathological Examination of 12 Regional Lymph Nodes and Long-Term Survival in Stages I-III Colon Cancer Patients."

⁶⁴⁰ Vather et al., "Lymph Node Evaluation and Long-Term Survival in Stage II and Stage III Colon Cancer."

En cuanto a la extensión de la resección quirúrgica realizada, en 1 paciente se realizó hemicolectomía derecha, en 3 resección segmentaria de ángulo esplénico, en 2 hemicolectomía izquierda y en 7 sigmoidectomía.

Al analizar cada resección quirúrgica por separado dentro del total del grupo, se observa que aunque a la mayoría de los pacientes (53,84%) con menos de 12 ganglios se les realizó una sigmoidectomía, únicamente el 14,9% de las sigmoidectomías del estudio presentaron menos de 12 ganglios, mientras que en el caso de la resección segmentaria de ángulo esplénico, aun siendo únicamente 3 pacientes con menos de 12 ganglios, suponían el 50% de los pacientes con este tipo de resección quirúrgica.

Tabla 72. Relación entre técnica quirúrgica realizada y pacientes con menos de 12 ganglios identificados.

Resección quirúrgica	Pacientes con <12 ganglios	% dentro del tipo de resección quirúrgica
Hemicolectomía derecha +/- (ampliada)	1	1,8
Resección segmentaria de C. Transverso	0	0,0
Resección segmentaria de á. esplénico	3	50
Hemicolectomía izquierda	2	20
Sigmoidectomía	7	14,9

En el grupo control "A", se identificaron menos de 12 ganglios en 64 pacientes (37,64%). Los pacientes con menos de 12 ganglios identificados fueron pacientes mas añosos, con infiltración tumoral algo más avanzada (principalmente T2-3) que en el grupo "OSNA", y ocurrió con mayor frecuencia en tumores de localización en el territorio de la arteria mesentérica inferior y en resecciones segmentarias.

En el grupo control "B", se registraron un total de 57 pacientes (20,57%) con menos de 12 ganglios identificados. En este grupo también se observó edad algo más avanzada (no estadísticamente significativo) entre los pacientes con menos de 12 ganglios,

mayor frecuencia en tumores de localización izquierda (territorios de la a. mesentérica inferior), y en resecciones segmentarias (57% de las resecciones segmentarias).

Tabla 73. Resumen de factores relacionados con el número de ganglios identificados.

<u>Factores relacionados con el numero de ganglios identificados:</u>
Experiencia del cirujano ⁶⁴¹
Estudio histológico
Edad del paciente ^{642 643}
Obesidad visceral ^{644 645}
Tamaño tumoral
Estadio tumoral ⁶⁴⁶
Localización tumoral ^{647 648}

⁶⁴¹ Dimofte et al., "Mean Number of Lymph Nodes in Colonic Cancer Specimen."

⁶⁴² Baxter et al., "Lymph Node Evaluation in Colorectal Cancer Patients."

⁶⁴³ Wright et al., "Lymph Node Retrieval and Assessment in Stage II Colorectal Cancer."

⁶⁴⁴ Choe et al., "The Impact of Visceral Adipose Tissue Amount on the Adequacy of Lymph Node Retrieval in Colorectal Cancer Surgery."

⁶⁴⁵ Görög et al., "Influence of Obesity on Lymph Node Recovery from Rectal Resection Specimens."

⁶⁴⁶ Yamaoka et al., "The Distribution of Lymph Node Metastases and Their Size in Colon Cancer."

⁶⁴⁷ Chen et al., "Pathological Examination of 12 Regional Lymph Nodes and Long-Term Survival in Stages I-III Colon Cancer Patients."

⁶⁴⁸ Vather et al., "Lymph Node Evaluation and Long-Term Survival in Stage II and Stage III Colon Cancer."

6.D.4.b. PACIENTES EN E-III DE CÁNCER DE COLON CON MENOS DE 12 GANGLIOS IDENTIFICADOS:

De los 13 pacientes que conformaban el grupo con menos de 12 ganglios, 5 (38,46%) presentaron infiltración ganglionar (considerando GC y GnoC). Por lo tanto el 38,46% de los pacientes fueron diagnosticados de E-III dentro de este subgrupo con mayor riesgo de infraestadificación.

- De los 5 pacientes N+, 4 (30,76%) presentaron infiltración metastásica o micrometastásica de los ganglios centinela. Es decir, el estudio molecular de los GC identificó 4 pacientes en E-III de la enfermedad en este subgrupo de pacientes con menos de 12 ganglios.*
- El estudio convencional de los GnoC identificó 2 pacientes (15,38%) en E-III.*

Estos datos demuestran que en el subgrupo de pacientes con menos de 12 ganglios, el uso de técnicas intensivas (en este estudio moleculares) en los GC consiguió diagnosticar a mas pacientes en E-III de la enfermedad que el estudio convencional de los GnoC.⁶⁴⁹ No obstante, el estudio molecular de los GC más el estudio convencional de los GnoC identificó un mayor número de pacientes en E-III que ambos métodos por separado.

Tabla 74. Beneficos del uso del método OSNA en los pacientes con menos de 12 ganglios.

- En los pacientes con menos de 12 ganglios, el estudio de los GC con el método OSNA aumenta la probabilidad de una correcta estadificación**
- El estudio conjunto de los GC con el método OSNA y el estudio convencional de los GnoC se complementan, diagnosticando más pacientes en E-III que ambos por separado**

⁶⁴⁹ Sardón Ramos, “Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon”; Sardón Ramos et al., “Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos.”

6.D.4.c. SUPRAESTADIFICACIÓN EN LOS PACIENTES CON MENOS DE 12 GANGLIOS:

A pesar del minucioso trabajo de los patólogos en la búsqueda ganglionar, existen diferentes factores ya mencionados (características de la resección quirúrgica, localización tumoral, infiltración tumoral local, características del paciente...) por los que en algunas piezas quirúrgicas va a resultar imposible alcanzar el mínimo de 12 ganglios. En estos casos, plantear el estudio ganglionar intensivo resulta una alternativa interesante para aumentar el porcentaje de tejido ganglionar analizado y así, intentar mejorar el estudio sobre los ganglios que se disponen.^{650 651 652 653 654}

Al ampliar el estudio ganglionar mediante técnicas de estudio intensivo (múltiples secciones, IHQ, técnicas moleculares) se puede dar un aumento en el número de pacientes diagnosticados de E-III el cáncer de colon (concepto de supraestadificación).

6.D.4.c.1. Supraestadificación del grupo OSNA con menos de 12 ganglios:

De los 13 pacientes con menos de 12 ganglios, hubo 3 (23,07%) que únicamente presentaron ganglios centinela positivos con el resto de GnoC negativos. Estos son los individuos supraestadificados gracias al estudio molecular de los GC.

Los 3 pacientes fueron diagnosticados de E-III de la enfermedad por el hallazgo de micrometástasis en los GC.

Supraestadificación muestra OSNA (<12 ganglios) → 23,07%

*Si se considerarían las CTA, la supraestadificación ascendería al 30,76%.

**La supraestadificación en este subgrupo de pacientes fue
debida al hallazgo de micrometástasis en el 100% de los casos**

⁶⁵⁰ López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁶⁵¹ Díaz-Mercedes et al., "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma."

⁶⁵² Yamamoto et al., "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients."

⁶⁵³ Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon."

⁶⁵⁴ Croner 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."

6.D.4.c.2. Comparación de la supraestadificación del grupo OSNA con menos de 12 ganglios y del grupo control "B":

En el grupo OSNA, el estudio molecular de los GC permitió una supraestadificación en el grupo de pacientes con menos de 12 ganglios del 23,07%. Todos ellos gracias al hallazgo de micrometástasis en los GC.

En el grupo control "B", de los 60 pacientes con menos de 12 ganglios identificados, 13 (21,66%) presentaron únicamente infiltración de los GC con resto de GnoC negativos. El 76,92% de los pacientes supraestadificados lo fueron por el hallazgo de infiltración metastásica y el 23,07% por infiltración micrometastásica.

Supraestadificación grupo OSNA (<12 ganglios) → 23,07%

Supraestadificación control "B" (<12 ganglios) → 21,66%

Por lo tanto la diferencia en la supraestadificación dentro del grupo OSNA y el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, no fue estadísticamente significativa ($p=0,91$). Sin embargo, el tipo de infiltración localizado en los GC sí mostró diferencias. El estudio molecular localizó mas infiltración micrometastásica que el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ ($p=0,03$).^{655 656 657 658}

Tabla 75. Comparación de la supraestadificación en los subgrupos con menos de 12 ganglios del grupo OSNA y del grupo control "B".

La supraestadificación del grupo OSNA con menos de 12 ganglios y del grupo control "B" con menos de 12 ganglios no mostró diferencias estadísticamente significativas

El método OSNA identificó más afectación micrometastásica que el estudio con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ

⁶⁵⁵ Noura et al., "Comparative Detection of Lymph Node Micrometastases of Stage II Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry."

⁶⁵⁶ López-Zambrano et al., "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama."

⁶⁵⁷ Osako et al., "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer."

⁶⁵⁸ Santaballa et al., "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer."

6.D.4.c.3. Comparación de pacientes con menos de 12 ganglios del grupo OSNA en E-III con el grupo control "A":

Mientras que en el grupo OSNA se identificaron 5 pacientes (38,46%) en estadio III de la enfermedad entre los pacientes con menos de 12 ganglios (con GC y/o GnoC positivos), en el grupo control "A" se identificaron 11 pacientes de 64 (17,18%) que conformaban el subgrupo con menos de 12 ganglios y en E-III.

La diferencia entre ambos grupos (38,46%-17,18%) se obtuvo gracias al estudio molecular de los GC. A esta diferencia se le ha denominado supraestadificación del grupo OSNA frente al grupo control "A" o estudio convencional. No obstante la diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,08$) seguramente debido al tamaño de la muestra del grupo OSNA con menos de 12 ganglios.

Supraestadificación grupo OSNA frente al grupo control "A"

(en pacientes con < 12 ganglios) → **21,28%** $p=0,08$

Tabla 76. Resumen de los resultados obtenidos en cuanto a supraestadificación en los subgrupos de pacientes con menos de 12 ganglios. Comparación del grupo OSNA con el grupo control "A".

El estudio de los GC con el método OSNA y los GnoC con el método convencional mejora la estadificación en los subgrupos de pacientes con mayor riesgo de infraestadificación (pacientes con menos de 12 ganglios); sin embargo, los resultados no son estadísticamente significativos

6.D.4.c.4. Comparación de pacientes con menos de 12 ganglios del grupo OSNA en E-III con el grupo control "B":

Mientras que en el grupo OSNA con menos de 12 ganglios se diagnosticaron un total de 5 (38,46%) pacientes en E-III; en el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, de los 60 pacientes que conformaban el subgrupo, se identificaron 16 (26,66%) pacientes con ganglios positivos (GC y GnoC). Por lo tanto en este grupo el 26,66% de los pacientes correspondía al E-III del CC.

La comparación del grupo OSNA y el grupo control "B" con menos de 12 ganglios, mostró un valor porcentual llamativo a favor del estudio molecular de los GC más el convencional de los GnoC; sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,39$)

- Grupo OSNA (<12 ganglios) 38,46% de pacientes en E-III
- Grupo control "B" (<12 ganglios) 26,66% de pacientes en E-III.

Supraestadificación grupo OSNA frente a control "B"

(en pacientes con < 12 ganglios)→ **11,8%**

$p=0,39$

Tabla 77. Resumen de los resultados obtenidos en cuanto a supraestadificación en los subgrupos de pacientes con menos de 12 ganglios. Comparación del grupo OSNA con el grupo control "B".

Tanto el estudio molecular de los GC, como el estudio con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ, mejoran el estudio ganglionar obteniendo un mayor número de pacientes en E-III del CC en los pacientes con mayor riesgo de infraestadificación (pacientes con menos de 12 ganglios)

Sin embargo, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambas técnicas de estudio en estos subgrupos de pacientes

6.D.4.d. FALSOS NEGATIVOS:

Se han considerado falsos negativos, dentro del grupo de pacientes con menos de 12 ganglios identificados en el grupo OSNA, aquellos con GnoC positivos y con GC negativos; es decir, pacientes diagnosticados de E-III del cáncer de colon por el hallazgo de infiltración en los ganglios no centinela identificados mediante el método de estudio convencional, mientras que los GC no presentaron afectación ganglionar.

En el subgrupo de pacientes con menos de 12 ganglios, conformado por 13 individuos, solo hubo un paciente (7,69%) con GnoC positivos y GC negativos.

Por lo tanto la tasa de FN de este subgrupo de pacientes fue del 7,69%.

Los valores son algo mayores que los obtenidos del grupo absoluto OSNA, que oscila entre 5,78% (para cualquier tipo de afectación de los GC) y 7,43% (para infiltración metastásica y micrometastásica). No obstante, se trata de un valor dentro de los límites más frecuentemente hallados en estudio previos (0-10%).^{659 660 661 662 663 664 665}

⁶⁵⁹ Saha et al., "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging."

⁶⁶⁰ Wong et al., "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum."

⁶⁶¹ Bilchik et al., "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer."

⁶⁶² Sardón Ramos, "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon"; Sardón Ramos et al., "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos."

⁶⁶³ Bilchik et al., "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis."

⁶⁶⁴ Paramo et al., "Intraoperative Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Colon Cancer."

⁶⁶⁵ Bendavid et al., "Phase I Study on Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer."

6.E. RESUMEN

.-Siendo el carcinoma colorrectal el segundo tumor más frecuente en el mundo y la segunda causa por muerte neoplásica, es imprescindible un diagnóstico precoz, que se obtiene gracias al cribado de sangre oculta en heces, y una **estadificación acertada** para proporcionar a cada paciente el tratamiento más adecuado.

.-En los pacientes con estadios precoces de la enfermedad (E0, I y II) el tratamiento finalizará con la cirugía, salvo que presenten factores de mal pronóstico. Sin embargo, en los pacientes con afectación ganglionar (Estadio III), estará indicado siempre que sea factible, completar el tratamiento con quimioterapia adyuvante. Por lo tanto, en el CC sin enfermedad metastásica, **el factor pronóstico más importante es la infiltración ganglionar** y según la última actualización de la TNM (8ª edición), se deben considerar ganglios infiltrados aquellos con afectación metastásica y micrometastásica.

.-Este estudio ha tenido como objetivo principal desarrollar un **método de mejora en la identificación y análisis ganglionar** para perfeccionar la correcta estadificación de los pacientes con cáncer de colon.

Así pues, se debe entender que mejorar los métodos de identificación y análisis ganglionar puede incrementar el número de pacientes diagnosticados de estadio III. De esta idea surge el concepto de **supraestadificación**.

Los pacientes supraestadificados serán aquellos diagnosticados de estadio III del CC gracias al empleo de técnicas de estudio intensivo de los ganglios (múltiples secciones, IHQ o técnicas moleculares).

.-El estudio intensivo del total de los ganglios de la pieza quirúrgica, resulta una práctica no factible en nuestro medio por el gran aumento de costes y recursos que supone; por ello, se ha optado por realizar la búsqueda del ganglio centinela basándonos en investigaciones realizadas en las últimas décadas en torno a la diseminación linfática del cáncer de colon y de otros tumores (melanoma, tumor de pene, neoplasia de mama) y realizar en estos ganglios, un estudio molecular mediante el método OSNA; mientras que el resto de los ganglios no centinela se han analizado con método convencional.

7. CONCLUSIONES

1. La vía de **abordaje laparoscópica** se ha incrementado de forma progresiva desde los primeros registros. Así, se evidencia un aumento de un 44,71% entre 2005 y 2009 hasta un 73,3% entre 2014 y 2016.
2. Se ha demostrado un aumento progresivo en la **identificación ganglionar** superando la media de 12 ganglios por paciente en el 89% de los pacientes.
3. La **tasa de identificación del ganglio centinela** ha sido del 99,17%.
4. La tasa de **falsos negativos** se encuentra entre el 5,78% y el 7,43 según se consideren falsos negativos o no las GC infiltrados por células tumorales aisladas.
5. En este estudio de investigación, **la técnica de identificación de los ganglios centinela y el estudio de los mismos mediante el método molecular OSNA** para los pacientes con estadios clínicos precoces de carcinoma colorrectal, **ha mejorado la estadificación postoperatoria (concepto de supraestadificación)** en comparación con las técnicas de estudio ganglionar convencional al diagnosticar a mas pacientes en estadio III del CC.
 Así, en el grupo OSNA se obtuvo una **supraestadificación del 26,4%** y cuando se compararon los pacientes en E-III del grupo OSNA y el grupo control "A" (estadio convencional) se obtuvo una **supraestadificación del 26,7%** ($p=0,001$) corroborando que la mejora en el estadificación se debe al estudio molecular de los GC.
6. En nuestro proyecto, **la técnica de identificación de los ganglios centinela y el estudio de los mismos mediante el método molecular OSNA** para los pacientes con estadios clínicos precoces de carcinoma colorrectal, **ha mejorado la estadificación postoperatoria (concepto de supraestadificación) en comparación con las técnicas de estudio intensivo con múltiples secciones** de los ganglios centinela y estudio de los mismos con H-E e IHQ. Así, el estudio intensivo de los GC mediante el método molecular OSNA supraestadificó un

26,4% de pacientes con CC mientras que el estudio intensivo con múltiples secciones y tinción con H-E e IHQ supraestadificó un 15,5% de pacientes ($p=0,01$).

7. **El estudio combinado** de identificación de los ganglios centinela y análisis de los mismos con el método molecular OSNA, mas el estudio convencional de los ganglios no centinela, **ha hallado un mayor número de pacientes en estadio III del cáncer de colon que ambos métodos por separado.**

8. En este proyecto de investigación, la técnica de identificación de los GC y el estudio de los mismos con el método molecular OSNA ha objetivado un **mayor número de infiltración ganglionar a expensas del hallazgo de micrometástasis** (hasta el 75% de los pacientes supraestadificados en el grupo OSNA).

Por lo tanto, la supraestadificación se ha obtenido principalmente del hallazgo de infiltraciones de menor tamaño y esto se debe al estudio del 100% del tejido ganglionar con el método molecular.

9. En los **pacientes con carcinoma de colon y menos de 12 ganglios** (pacientes con mayor riesgo de infraestadificación), la identificación de los GC y el estudio de los mismos con el método molecular OSNA ha obtenido una **supraestadificación del 23,07%**. Por lo tanto, se evidencia una mejora en la estadificación de este subgrupo de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- “[Eiken GENOME SITE] - The Principle of LAMP Method.” Accessed April 1, 2020. http://loopamp.eiken.co.jp/e/lamp/rt_principle.html.
- Abbassi-Ghadi, Nima, Piers R. Boshier, Robert Goldin, and George B. Hanna. “Techniques to Increase Lymph Node Harvest from Gastrointestinal Cancer Specimens: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *Histopathology* 61, no. 4 (2012): 531–42. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2012.04357.x>.
- Acea-Nebril, Benigno, Alejandra García-Novoa, Paz Santiago-Freijanes, and Joaquín Mosquera-Oses. “Micrometástasis del ganglio centinela en mujeres con carcinoma ductal in situ. Falsos positivos del método OSNA (One-step nucleic acid amplification)?” *Cirugía Española* 94, no. 2 (February 1, 2016): 121–22. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2015.04.016>.
- Adachi, Y., K. Yasuda, K. Kakisako, K. Sato, N. Shiraishi, and S. Kitano. “Histopathologic Criteria for Local Excision of Colorectal Cancer: Multivariate Analysis.” *Annals of Surgical Oncology* 6, no. 4 (June 1999): 385–88. <https://doi.org/10.1007/s10434-999-0385-9>.
- Amin, Mahul B., American Joint Committee on Cancer, and American Cancer Society, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. Eight edition / editor-In-Chief, Mahul B. Amin, MD, FCAP ; Editors, Stephen B. Edge, MD, FACS [and 16 others] ; Donna M. Gress, RHIT, CTR-Technical editor ; Laura R. Meyer, CAPM-Managing editor. Chicago IL: American Joint Committee on Cancer, Springer, 2017.
- André, Thierry, Corrado Boni, Lamia Mounedji-Boudiaf, Matilde Navarro, Josep Tabernero, Tamas Hickish, Clare Topham, et al. “Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer.” *The New England Journal of Medicine* 350, no. 23 (June 3, 2004): 2343–51. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032709>.
- André, Thierry, Corrado Boni, Matilde Navarro, Josep Tabernero, Tamas Hickish, Clare Topham, Andrea Bonetti, et al. “Improved Overall Survival with Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment in Stage II or III Colon Cancer in the MOSAIC Trial.” *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 27, no. 19 (July 1, 2009): 3109–16. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.6771>.
- “Anti-Cytokeratin (CAM 5.2) Mouse Monoclonal Primary Antibody.” Accessed March 31, 2020. <http://reagent-catalog.roche.com/product/1543?type=2003>.
- Aoyama, Toru, Kosuke Kashiwabara, Koji Oba, Michitaka Honda, Sotaro Sadahiro, Chikuma Hamada, Hiromichi Maeda, et al. “Clinical Impact of Tumor Location on the Colon Cancer Survival and Recurrence: Analyses of Pooled Data from Three Large Phase III Randomized Clinical Trials.” *Cancer Medicine* 6, no. 11 (November 2017): 2523–30. <https://doi.org/10.1002/cam4.1208>.
- “ARN: Concepto, Estructura, Funciones y Diferencia Con ADN.” Accessed March 31, 2020. <https://concepto.de/arn/>.
- Astler, V. B., and F. A. Coller. “The Prognostic Significance of Direct Extension of Carcinoma of the Colon and Rectum.” *Annals of Surgery* 139, no. 6 (June 1954): 846–52. <https://doi.org/10.1097/00000658-195406000-00015>.
- Atkin, W. S., B. C. Morson, and J. Cuzick. “Long-Term Risk of Colorectal Cancer after Excision of Rectosigmoid Adenomas.” *The New England Journal of Medicine* 326, no. 10 (March 5, 1992): 658–62. <https://doi.org/10.1056/NEJM199203053261002>.

- Azzoni, Cinzia, Lorena Bottarelli, Nicoletta Campanini, Gabriella Di Cola, Giovanni Bader, Antonio Mazzeo, Carlo Salvemini, et al. "Distinct Molecular Patterns Based on Proximal and Distal Sporadic Colorectal Cancer: Arguments for Different Mechanisms in the Tumorigenesis." *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 2 (February 2007): 115–26. <https://doi.org/10.1007/s00384-006-0093-x>.
- Babar, M., R. Madani, P. Jackson, G. T. Layer, M. W. Kissin, and T. E. Irvine. "One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Positive Micrometastases and Additional Histopathological NSLN Metastases: Results from a Single Institution over 53 Months." *The Surgeon: Journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland* 14, no. 2 (April 2016): 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.surge.2014.06.001>.
- Baxter, Nancy N., Dan J. Virnig, David A. Rothenberger, Arden M. Morris, Jose Jessurun, and Beth A. Virnig. "Lymph Node Evaluation in Colorectal Cancer Patients: A Population-Based Study." *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 97, no. 3 (February 2, 2005): 219–25. <https://doi.org/10.1093/jnci/dji020>.
- Bell, Stephen W., Najat Mourra, Jean François Fléjou, Rolland Parc, and Emmanuel Tiret. "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer." *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 1 (January 2005): 74–79. <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0782-x>.
- Belt, E. J. Th, M. F. M. van Stijn, H. Bril, E. S. M. de Lange-de Klerk, G. A. Meijer, S. Meijer, and H. B. a. C. Stockmann. "Lymph Node Negative Colorectal Cancers with Isolated Tumor Deposits Should Be Classified and Treated as Stage III." *Annals of Surgical Oncology* 17, no. 12 (December 2010): 3203–11. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1152-7>.
- Bembenek, Andreas E., Robert Rosenberg, Elke Wagler, Stephan Gretschel, Andreas Sendler, Joerg-Ruediger Siewert, Jörg Nährig, et al. "Sentinel Lymph Node Biopsy in Colon Cancer: A Prospective Multicenter Trial." *Annals of Surgery* 245, no. 6 (June 2007): 858–63. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000250428.46656.7e>.
- Bendavid, Yves, Jean François Latulippe, Rami J. Younan, Yves E. Leclerc, Serge Dube, Françoise Heyen, Michel Morin, et al. "Phase I Study on Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer: A Preliminary Report." *Journal of Surgical Oncology* 79, no. 2 (February 2002): 81–84; discussion 85. <https://doi.org/10.1002/jso.10052>.
- Benson, Al B., Deborah Schrag, Mark R. Somerfield, Alfred M. Cohen, Alvaro T. Figueredo, Patrick J. Flynn, Monika K. Krzyzanowska, et al. "American Society of Clinical Oncology Recommendations on Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 22, no. 16 (August 15, 2004): 3408–19. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.05.063>.
- Berends, F. J., G. Kazemier, H. J. Bonjer, and J. F. Lange. "Subcutaneous Metastases after Laparoscopic Colectomy." *Lancet (London, England)* 344, no. 8914 (July 2, 1994): 58. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)91079-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91079-0).
- Berger, Adam C., Elin R. Sigurdson, Thomas LeVoyer, Alexandra Hanlon, Robert J. Mayer, John S. Macdonald, Paul J. Catalano, and Daniel G. Haller. "Colon Cancer Survival Is Associated with Decreasing Ratio of Metastatic to Examined Lymph Nodes." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, no. 34 (December 1, 2005): 8706–12. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.8852>.
- Bernstein, T. E., B. H. Endreseth, P. Romundstad, A. Wibe, and Norwegian Colorectal Cancer Group. "Circumferential Resection Margin as a Prognostic Factor in Rectal Cancer." *The British Journal of Surgery* 96, no. 11 (November 2009): 1348–57. <https://doi.org/10.1002/bjs.6739>.

- Bertagnolli, Monica, Brent Miedema, Mark Redston, Jeannette Dowell, Donna Niedzwiecki, James Fleshman, Jiri Bem, Robert Mayer, Michael Zinner, and Carolyn Compton. "Sentinel Node Staging of Resectable Colon Cancer: Results of a Multicenter Study." *Annals of Surgery* 240, no. 4 (October 2004): 624–28; discussion 628–630. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000140753.41357.20>.
- Bertelsen, Claus A., Anders Kirkegaard-Klitbo, Mingyuan Nielsen, Salvatore M. G. Leotta, Fukumori Daisuke, and Ismail Gögenur. "Pattern of Colon Cancer Lymph Node Metastases in Patients Undergoing Central Mesocolic Lymph Node Excision: A Systematic Review." *Diseases of the Colon and Rectum* 59, no. 12 (December 2016): 1209–21. <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000658>.
- Betge, Johannes, Marion J. Pollheimer, Richard A. Lindtner, Peter Kornprat, Andrea Schlemmer, Peter Rehak, Michael Vieth, Gerald Hoeffler, and Cord Langner. "Intramural and Extramural Vascular Invasion in Colorectal Cancer: Prognostic Significance and Quality of Pathology Reporting." *Cancer* 118, no. 3 (February 1, 2012): 628–38. <https://doi.org/10.1002/cncr.26310>.
- Bianchi, Paolo Pietro, Chiara Ceriani, Matteo Rottoli, Guido Torzilli, Massimo Roncalli, Antonino Spinelli, and Marco Montorsi. "Laparoscopic Lymphatic Mapping and Sentinel Lymph Node Detection in Colon Cancer: Technical Aspects and Preliminary Results." *Surgical Endoscopy* 21, no. 9 (September 2007): 1567–71. <https://doi.org/10.1007/s00464-006-9152-1>.
- Bilchik, A. J., S. Saha, D. Wiese, J. A. Stonecypher, T. F. Wood, S. Sostrin, R. R. Turner, H. J. Wang, D. L. Morton, and D. S. Hoon. "Molecular Staging of Early Colon Cancer on the Basis of Sentinel Node Analysis: A Multicenter Phase II Trial." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 19, no. 4 (February 15, 2001): 1128–36. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.4.1128>.
- Bilchik, Anton J., Maggie DiNome, Sukamal Saha, Roderick R. Turner, David Wiese, Martin McCarter, Dave S. B. Hoon, and Donald L. Morton. "Prospective Multicenter Trial of Staging Adequacy in Colon Cancer: Preliminary Results." *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 141, no. 6 (June 2006): 527–33; discussion 533–534. <https://doi.org/10.1001/archsurg.141.6.527>.
- Bilchik, Anton J., Dean T. Nora, Leslie H. Sobin, Roderick R. Turner, Steven Trocha, David Krasne, and Donald L. Morton. "Effect of Lymphatic Mapping on the New Tumor-Node-Metastasis Classification for Colorectal Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 21, no. 4 (February 15, 2003): 668–72. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.037>.
- Bilimoria, Karl Y., Bryan Palis, Andrew K. Stewart, David J. Bentrem, Andrew C. Freil, Elin R. Sigurdson, Mark S. Talamonti, and Clifford Y. Ko. "Impact of Tumor Location on Nodal Evaluation for Colon Cancer." *Diseases of the Colon and Rectum* 51, no. 2 (February 2008): 154–61. <https://doi.org/10.1007/s10350-007-9114-2>.
- Biondo, Sebastiano, Joan Martí-Ragué, Esther Kreisler, David Parés, Adan Martín, Matilde Navarro, Laura Pareja, and Eduardo Jaurrieta. "A Prospective Study of Outcomes of Emergency and Elective Surgeries for Complicated Colonic Cancer." *American Journal of Surgery* 189, no. 4 (April 2005): 377–83. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2005.01.009>.
- Blessing, Walter D., Alan J. Stolier, Stephen C. Teng, John S. Bolton, and George M. Fuhrman. "A Comparison of Methylene Blue and Lymphazurin in Breast Cancer Sentinel Node Mapping." *American Journal of Surgery* 184, no. 4 (October 2002): 341–45. [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(02\)00948-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(02)00948-0).
- Bosman, F. T., World Health Organization, and International Agency for Research on Cancer, eds. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 4th ed. World Health Organization Classification of Tumours 3. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010.

- Boyle, Terry, Tessa Keegel, Fiona Bull, Jane Heyworth, and Lin Fritschi. "Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of the National Cancer Institute* 104, no. 20 (October 17, 2012): 1548–61. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs354>.
- Braat, A. E., J. W. A. Oosterhuis, F. C. P. Moll, and J. E. de Vries. "Successful Sentinel Node Identification in Colon Carcinoma Using Patent Blue V." *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 30, no. 6 (August 2004): 633–37. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2004.03.017>.
- Bray, Freddie, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, and Ahmedin Jemal. "Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries." *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68, no. 6 (2018): 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
- Brito, Maria José, Mrinalini Honavar, Maria Augusta Cipriano, Joanne Lopes, Helder Coelho, António Rodrigues Silva, Mário Silva, et al. "Molecular Staging of Patients with Colon Cancer. The C-Closer-II Study: A Multicentre Study in Portugal." *Acta Medica Portuguesa* 31, no. 11 (November 30, 2018): 661–69. <https://doi.org/10.20344/amp.9696>.
- Budde, Cristina N., Vassiliki L. Tsikitis, Karen E. Deveney, Brian S. Diggs, Kim C. Lu, and Daniel O. Herzig. "Increasing the Number of Lymph Nodes Examined after Colectomy Does Not Improve Colon Cancer Staging." *Journal of the American College of Surgeons* 218, no. 5 (May 2014): 1004–11. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2014.01.039>.
- Buglioni, Simonetta, Franco Di Filippo, Irene Terrenato, Beatrice Casini, Enzo Gallo, Ferdinando Marandino, Carlo L. Maini, et al. "Quantitative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node May Be Predictive of Axillary Node Status in Breast Cancer Classified by Molecular Subtypes." *PLOS ONE* 8, no. 3 (March 22, 2013): e58823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058823>.
- Bui, Luke, Eddy Rempel, Dana Reeson, and Marko Simunovic. "Lymph Node Counts, Rates of Positive Lymph Nodes, and Patient Survival for Colon Cancer Surgery in Ontario, Canada: A Population-Based Study." *Journal of Surgical Oncology* 93, no. 6 (May 1, 2006): 439–45. <https://doi.org/10.1002/jso.20499>.
- Burdy, G., Y. Panis, A. Alves, J. Nemeth, A. Lavergne-Slove, and P. Valleur. "Identifying Patients with T3-T4 Node-Negative Colon Cancer at High Risk of Recurrence." *Diseases of the Colon and Rectum* 44, no. 11 (November 2001): 1682–88. <https://doi.org/10.1007/bf02234390>.
- Bustos-Fierro, Carolina, Maria Laura Seguro, Roxana Elizabeth Badesso, Carolina Beatriz Romañuk, Sonia Andrea Naeko Uema, and Maria Eugenia Olivera. "Azul de Metileno y Azul Patente V: consideraciones de seguridad relacionadas a sus aplicaciones y vías de administración - Methylene Blue and Patent Blue V: safety considerations related to their applications and routes of administration." *Bitácora Digital* 1, no. 3 (1). <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/6320>.
- Cabanas, R. M. "An Approach for the Treatment of Penile Carcinoma." *Cancer* 39, no. 2 (February 1977): 456–66. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197702\)39:2<456::aid-cncr2820390214>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197702)39:2<456::aid-cncr2820390214>3.0.co;2-i).
- Cahill, Ronan A. "What's Wrong with Sentinel Node Mapping in Colon Cancer?" *World Journal of Gastroenterology: WJG* 13, no. 47 (December 21, 2007): 6291–94. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i47.6291>.
- SEER. "Cancer of the Colon and Rectum - Cancer Stat Facts." Accessed April 1, 2020. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>.

- Ceelen, W., Y. Van Nieuwenhove, and P. Pattyn. "Prognostic Value of the Lymph Node Ratio in Stage III Colorectal Cancer: A Systematic Review." *Annals of Surgical Oncology* 17, no. 11 (November 2010): 2847–55. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1158-1>.
- Chang, George J., Miguel A. Rodriguez-Bigas, John M. Skibber, and Virginia A. Moyer. "Lymph Node Evaluation and Survival after Curative Resection of Colon Cancer: Systematic Review." *Journal of the National Cancer Institute* 99, no. 6 (March 21, 2007): 433–41. <https://doi.org/10.1093/jnci/djk092>.
- Chao, Ann, Michael J. Thun, Cari J. Connell, Marjorie L. McCullough, Eric J. Jacobs, W. Dana Flanders, Carmen Rodriguez, Rashmi Sinha, and Eugenia E. Calle. "Meat Consumption and Risk of Colorectal Cancer." *JAMA* 293, no. 2 (January 12, 2005): 172–82. <https://doi.org/10.1001/jama.293.2.172>.
- Chapuis, P. H., O. F. Dent, R. Fisher, R. C. Newland, M. T. Pheils, E. Smyth, and K. Colquhoun. "A Multivariate Analysis of Clinical and Pathological Variables in Prognosis after Resection of Large Bowel Cancer." *The British Journal of Surgery* 72, no. 9 (September 1985): 698–702. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800720909>.
- Chen, Hong Hwa, Dilip Chakravarty K, Jeng-Yi Wang, Chung-Rong Changchien, and Reiping Tang. "Pathological Examination of 12 Regional Lymph Nodes and Long-Term Survival in Stages I-III Colon Cancer Patients: An Analysis of 2,056 Consecutive Patients in Two Branches of Same Institution." *International Journal of Colorectal Disease* 25, no. 11 (November 2010): 1333–41. <https://doi.org/10.1007/s00384-010-1020-8>.
- Chen, Steven L., and Anton J. Bilchik. "More Extensive Nodal Dissection Improves Survival for Stages I to III of Colon Cancer: A Population-Based Study." *Annals of Surgery* 244, no. 4 (October 2006): 602–10. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000237655.11717.50>.
- Choe, Eun Kyung, Kyu Joo Park, Seung-Bum Ryoo, Sang Hui Moon, Heung-Kwon Oh, Eon Chul Han, and Yoon-Hye Kwon. "The Impact of Visceral Adipose Tissue Amount on the Adequacy of Lymph Node Retrieval in Colorectal Cancer Surgery." *Journal of Surgical Oncology* 117, no. 3 (March 2018): 523–28. <https://doi.org/10.1002/jso.24876>.
- Codignola, C., F. Zorzi, A. Zaniboni, S. Mutti, A. Rizzi, E. Padolecchia, and G. B. Morandi. "Is There Any Role for Sentinel Node Mapping in Colorectal Cancer Staging? Personal Experience and Review of the Literature." *Japanese Journal of Clinical Oncology* 35, no. 11 (November 1, 2005): 645–50. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyi182>.
- Compton, C. C., L. P. Fielding, L. J. Burgart, B. Conley, H. S. Cooper, S. R. Hamilton, M. E. Hammond, et al. "Prognostic Factors in Colorectal Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, no. 7 (July 2000): 979–94. [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2000\)124<0979:PFICC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124<0979:PFICC>2.0.CO;2).
- Compton, Carolyn C. "Optimal Pathologic Staging: Defining Stage II Disease." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 13, no. 22 Pt 2 (November 15, 2007): 6862s–70. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1398>.
- Compton, J. "Nucleic Acid Sequence-Based Amplification." *Nature* 350, no. 6313 (March 7, 1991): 91–92. <https://doi.org/10.1038/350091a0>.
- Copeland, Edward M., Leonard D. Miller, and Rayford S. Jones. "Prognostic Factors in Carcinoma of the Colon and Rectum." *The American Journal of Surgery* 116, no. 6 (December 1, 1968): 875–81. [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(68\)90458-3](https://doi.org/10.1016/0002-9610(68)90458-3).
- Corman ML. "Colon and Rectal Surgery," 4th ed., 21. Philadelphia: Lippincott-Raves, 1998.

- Courtney M. Townsend JR. "Capítulo 52: 'colon y recto.'" In *Sabiston tratado de cirugía. Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna*, Ed. Española 19^o edición., 1294–1381. Barcelona, España.: Saunders, Elsevier, 2013.
- Croner, R. S., C.-I. Geppert, F. G. Bader, U. Nitsche, C. Späth, R. Rosenberg, A. Zettl, 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." *British Journal of Cancer* 110, no. 10 (May 13, 2014): 2544–50. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.170>.
- Dan, Adrian G., Sukamal Saha, Keith M. Monson, David Wiese, Elie Schochet, Kimberly R. Barber, Balvant Ganatra, Delip Desai, and Sunil Kaushal. "1% Lymphazurin vs 10% Fluorescein for Sentinel Node Mapping in Colorectal Tumors." *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 139, no. 11 (November 2004): 1180–84. <https://doi.org/10.1001/archsurg.139.11.1180>.
- Davis, Donald M., Jorge E. Marcet, Jared C. Frattini, Andrew D. Prather, James J. L. Mateka, and Valentine N. Nfonam. "Is It Time to Lower the Recommended Screening Age for Colorectal Cancer?" *Journal of the American College of Surgeons* 213, no. 3 (September 2011): 352–61. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2011.04.033>.
- Delattre, O., D. J. Law, Y. Remvikos, X. Sastre, A. P. Feinberg, S. Olschwang, T. Melot, R. J. Salmon, P. Validire, and G. Thomas. "MULTIPLE GENETIC ALTERATIONS IN DISTAL AND PROXIMAL COLORECTAL CANCER." *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 8659, 334, no. 8659 (August 12, 1989): 353–56. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(89\)90537-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)90537-0).
- Delhougne, B., C. Deneux, R. Abs, P. Chanson, H. Fierens, P. Laurent-Puig, I. Duysburgh, et al. "The Prevalence of Colonic Polyps in Acromegaly: A Colonoscopic and Pathological Study in 103 Patients." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 80, no. 11 (November 1995): 3223–26. <https://doi.org/10.1210/jcem.80.11.7593429>.
- Demirbaş, Sezai, Mehmet Ince, Hüseyin Baloğlu, and Tuncay Celenk. "Should Sentinel Lymph Node Mapping Be Performed for Colorectal Cancer?" *The Turkish Journal of Gastroenterology: The Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology* 15, no. 1 (March 2004): 39–44.
- Diaz-Mercedes, Sherley, Ivan Archilla, Jordi Camps, Antonio de Lacy, Iñigo Gorostiaga, Dulce Momblan, Ainitze Ibarzabal, et al. "Budget Impact Analysis of Molecular Lymph Node Staging Versus Conventional Histopathology Staging in Colorectal Carcinoma." *Applied Health Economics and Health Policy* 17, no. 5 (2019): 655–67. <https://doi.org/10.1007/s40258-019-00482-7>.
- Dimofte, G., E. Târcoveanu, M. Tarași, C. Panait, G. Lozneau, S. Nicolescu, V. Porumb, and O. Grigoraș. "Mean Number of Lymph Nodes in Colonic Cancer Specimen: Possible Quality Control Index for Surgical Performance." *Chirurgia (Bucharest, Romania: 1990)* 106, no. 6 (December 2011): 759–64.
- Döbrönte, Z., T. Wittmann, and G. Karácsony. "Rapid Development of Malignant Metastases in the Abdominal Wall after Laparoscopy." *Endoscopy* 10, no. 2 (May 1978): 127–30. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1098280>.
- Duben, J., B. Dudesek, L. Hnátek, P. Vázan, J. Bakala, and J. Gatek. "[Lymphatic mapping and biopsy of sentinel lymph nodes using combined methodology of in vivo application of Patentblue and radionuclide and ex vivo detection of metastatic affection of lymph nodes in colorectal carcinoma]." *Rozhledy V Chirurgii: Mesicnik Ceskoslovenske Chirurgicke Spolecnosti* 89, no. 11 (November 2010): 695–701.
- Dubois, F, P Icard, G Berthelot, and H Levard. "Coelioscopic Cholecystectomy. Preliminary Report of 36 Cases." *Annals of Surgery* 211, no. 1 (January 1990): 60–62.

- Dukes, Cuthbert E. "The Classification of Cancer of the Rectum." *The Journal of Pathology and Bacteriology* 35, no. 3 (1932): 323–32. <https://doi.org/10.1002/path.1700350303>.
- Edge, Stephen B. *AJCC Cancer Staging Manual*. Edited by American Joint Committee on Cancer. 7th ed. New York: Springer, 2010.
- Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA). "Eficacia y coste-efectividad de las técnicas moleculares en la valoración intra-operatoria del ganglio centinela." Accessed April 1, 2020. <https://www.aetsa.org/publicacion/eficacia-y-coste-efectividad-de-las-tecnicas-moleculares-en-la-valoracion-intra-operatoria-del-ganglio-centinela/>.
- Ekbohm, A., C. Helmick, M. Zack, and H. O. Adami. "Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer. A Population-Based Study." *The New England Journal of Medicine* 323, no. 18 (November 1, 1990): 1228–33. <https://doi.org/10.1056/NEJM199011013231802>.
- Elliot Weisemberg. "TNM Staging of Colorectal Carcinoma (AJCC 8th Edition)." Accessed April 2, 2020. <http://www.pathologyoutlines.com/topic/colontumorstaging8ed.html>.
- Esposito, Francesco, Adele Noviello, Nicola Moles, Enrico Coppola Bottazzi, Mario Baiamonte, Ina Macaione, Umberto Ferbo, Maria Lepore, Antonio Miro, and Francesco Crafa. "Sentinel Lymph Node Analysis in Colorectal Cancer Patients Using One-Step Nucleic Acid Amplification in Combination With Fluorescence and Indocyanine Green." *Annals of Coloproctology* 35, no. 4 (August 2019): 174–80. <https://doi.org/10.3393/ac.2018.07.21.1>.
- Fearon, E. R., K. R. Cho, J. M. Nigro, S. E. Kern, J. W. Simons, J. M. Ruppert, S. R. Hamilton, A. C. Preisinger, G. Thomas, and K. W. Kinzler. "Identification of a Chromosome 18q Gene That Is Altered in Colorectal Cancers." *Science (New York, N.Y.)* 247, no. 4938 (January 5, 1990): 49–56. <https://doi.org/10.1126/science.2294591>.
- Fearon, E. R., and B. Vogelstein. "A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis." *Cell* 61, no. 5 (June 1, 1990): 759–67. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90186-i](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90186-i).
- Fedirko, V., I. Tramacere, V. Bagnardi, M. Rota, L. Scotti, F. Islami, E. Negri, et al. "Alcohol Drinking and Colorectal Cancer Risk: An Overall and Dose-Response Meta-Analysis of Published Studies." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 22, no. 9 (September 2011): 1958–72. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq653>.
- Feig, B. W., S. Curley, A. Lucci, K. K. Hunt, J. N. Vauthey, P. F. Mansfield, K. Cleary, et al. "A Caution Regarding Lymphatic Mapping in Patients with Colon Cancer." *American Journal of Surgery* 182, no. 6 (December 2001): 707–12. [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(01\)00803-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(01)00803-0).
- Fevr, Tea, Sylvie Robine, Daniel Louvard, and Joerg Huelsken. "Wnt/Beta-Catenin Is Essential for Intestinal Homeostasis and Maintenance of Intestinal Stem Cells." *Molecular and Cellular Biology* 27, no. 21 (November 2007): 7551–59. <https://doi.org/10.1128/MCB.01034-07>.
- Fielding, L. P., P. A. Arsenault, P. H. Chapuis, O. Dent, B. Gathright, J. D. Hardcastle, P. Hermanek, J. R. Jass, and R. C. Newland. "Clinicopathological Staging for Colorectal Cancer: An International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT)." *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 6, no. 4 (August 1991): 325–44. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1991.tb00867.x>.
- Fortunato, Lucio, Mostafà Amini, Massimo Farina, Simonetta Rapacchietta, Leopoldo Costarelli, Francesca R. Piro, Giuseppe Alessi, Pierluigi Pompili, Salvatore Bianca, and Carlo Eugenio Vitelli. "Intraoperative Examination of Sentinel Nodes in Breast Cancer: Is the Glass Half Full or Half Empty?" *Annals of Surgical Oncology* 11, no. 11 (November 2004): 1005–10. <https://doi.org/10.1245/ASO.2004.12.005>.

- Franklin, M. E., D. Rosenthal, D. Abrego-Medina, J. P. Dorman, J. L. Glass, R. Norem, and A. Diaz. "Prospective Comparison of Open vs. Laparoscopic Colon Surgery for Carcinoma. Five-Year Results." *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 10 Suppl (October 1996): S35-46. <https://doi.org/10.1007/bf02053804>.
- Freitas, Antônio Hilário Alves, Alberto Julius Alves Wainstein, Tarcizo Afonso Nunes, Antônio Hilário Alves Freitas, Alberto Julius Alves Wainstein, and Tarcizo Afonso Nunes. "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Investigation in Colorectal Cancer." *Journal of Coloproctology (Rio de Janeiro)* 33, no. 1 (April 2013): 16–21. <https://doi.org/10.1590/S2237-93632013000100004>.
- Gabriel, W. B., Cuthbert Dukes, and H. J. R. Bussey. "Lymphatic Spread in Cancer of the Rectum." *BJS (British Journal of Surgery)* 23, no. 90 (1935): 395–413. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800239017>.
- Gallione, Carol, Arthur S. Aylsworth, Jill Beis, Terri Berk, Barbara Bernhardt, Robin D. Clark, Carol Clericuzio, et al. "Overlapping Spectra of SMAD4 Mutations in Juvenile Polyposis (JP) and JP-HHT Syndrome." *American Journal of Medical Genetics. Part A* 152A, no. 2 (February 2010): 333–39. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33206>.
- Gavioli, Margherita, Gabriele Luppi, Lorena Losi, Federica Bertolini, Mario Santantonio, Anna Maria Falchi, Roberto D'Amico, Pier Franco Conte, and Gianni Natalini. "Incidence and Clinical Impact of Sterilized Disease and Minimal Residual Disease after Preoperative Radiochemotherapy for Rectal Cancer." *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 10 (October 2005): 1851–57. <https://doi.org/10.1007/s10350-005-0133-6>.
- Gil, Marielsa. "Azul de metileno: características, preparación, usos." *Lifeder* (blog), August 27, 2019. <https://www.lifeder.com/azul-de-metileno/>.
- Giuliano, A. E., D. M. Kirgan, J. M. Guenther, and D. L. Morton. "Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer." *Annals of Surgery* 220, no. 3 (September 1994): 391–98; discussion 398-401. <https://doi.org/10.1097/0000658-199409000-00015>.
- Glehen, Olivier, Dimitri Osinsky, Annie Claude Beaujard, and François Noël Gilly. "Natural History of Peritoneal Carcinomatosis from Nongynecologic Malignancies." *Surgical Oncology Clinics of North America* 12, no. 3 (July 2003): 729–39, xiii. [https://doi.org/10.1016/s1055-3207\(03\)00044-9](https://doi.org/10.1016/s1055-3207(03)00044-9).
- Goldstein, N. S., W. Sanford, M. Coffey, and L. J. Layfield. "Lymph Node Recovery from Colorectal Resection Specimens Removed for Adenocarcinoma. Trends over Time and a Recommendation for a Minimum Number of Lymph Nodes to Be Recovered." *American Journal of Clinical Pathology* 106, no. 2 (August 1996): 209–16. <https://doi.org/10.1093/ajcp/106.2.209>.
- Goldstein, N. S., and J. R. Turner. "Pericolonic Tumor Deposits in Patients with T3N+MO Colon Adenocarcinomas: Markers of Reduced Disease Free Survival and Intra-Abdominal Metastases and Their Implications for TNM Classification." *Cancer* 88, no. 10 (May 15, 2000): 2228–38.
- Gonsalves, Wilson I., Michelle R. Mahoney, Daniel J. Sargent, Garth D. Nelson, Steven R. Alberts, Frank A. Sinicrope, Richard M. Goldberg, et al. "Patient and Tumor Characteristics and BRAF and KRAS Mutations in Colon Cancer, NCCTG/Alliance N0147." *Journal of the National Cancer Institute* 106, no. 7 (July 2014). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju106>.
- Gordon, Pat. *Principles and Practice of Surgery of Colon, Rectum and Anus*. 2nd ed. St Louis: CQuality Medical, 1999.

- Görög, Dénes, Péter Nagy, Antal Péter, and Ferenc Perner. "Influence of Obesity on Lymph Node Recovery from Rectal Resection Specimens." *Pathology Oncology Research: POR* 9, no. 3 (2003): 180–83. <https://doi.org/10.1007/bf03033734>.
- Gould, E. A., T. Winship, P. H. Philbin, and H. H. Kerr. "Observations on a 'Sentinel Node' in Cancer of the Parotid." *Cancer* 13 (February 1960): 77–78. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(196001/02\)13:1<77::aid-cnrcr2820130114>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/1097-0142(196001/02)13:1<77::aid-cnrcr2820130114>3.0.co;2-d).
- Goussous, Ghaleb, Sadaf Jafferbhoy, Niamh Smyth, Lisette Hammond, Sankaran Narayanan, Robert Mark Kirby, and Soni Soumian. "Association of One-Step Nucleic Acid Amplification Detected Micrometastases with Tumour Biology and Adjuvant Chemotherapy." *International Journal of Breast Cancer* 2017 (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/4971096>.
- Graham, Trevor A., Adam Humphries, Theodore Sanders, Manuel Rodriguez-Justo, Paul J. Tadrous, Sean L. Preston, Marco R. Novelli, Simon J. Leedham, Stuart A. C. McDonald, and Nicholas A. Wright. "Use of Methylation Patterns to Determine Expansion of Stem Cell Clones in Human Colon Tissue." *Gastroenterology* 140, no. 4 (April 2011): 1241-1250.e1-9. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.12.036>.
- Greene, Frederick L., David L. Page, Irvin D. Fleming, April G. Fritz, Charles M. Balch, Daniel G. Haller, and Monica Morrow. *AJCC Cancer Staging Manual*. Springer Science & Business Media, 2002.
- Greene, Frederick L., Andrew K. Stewart, and H. James Norton. "A New TNM Staging Strategy for Node-Positive (Stage III) Colon Cancer: An Analysis of 50,042 Patients." *Annals of Surgery* 236, no. 4 (October 2002): 416–21; discussion 421. <https://doi.org/10.1097/0000658-200210000-00003>.
- Grover, Shilpa, Fay Kastrinos, Ewout W. Steyerberg, E. Francis Cook, Akriti Dewanwala, Lynn Anne Burbidge, Richard J. Wenstrup, and Sapna Syngal. "Prevalence and Phenotypes of APC and MUTYH Mutations in Patients with Multiple Colorectal Adenomas." *JAMA* 308, no. 5 (August 1, 2012): 485–92. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.8780>.
- Gryfe, R., H. Kim, E. T. Hsieh, M. D. Aronson, E. J. Holowaty, S. B. Bull, M. Redston, and S. Gallinger. "Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer." *The New England Journal of Medicine* 342, no. 2 (January 13, 2000): 69–77. <https://doi.org/10.1056/NEJM200001133420201>.
- Gryfe, Robert. "Clinical Implications of Our Advancing Knowledge of Colorectal Cancer Genetics: Inherited Syndromes, Prognosis, Prevention, Screening and Therapeutics." *The Surgical Clinics of North America* 86, no. 4 (August 2006): 787–817. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2006.05.007>.
- Guatelli, J. C., K. M. Whitfield, D. Y. Kwok, K. J. Barringer, D. D. Richman, and T. R. Gingeras. "Isothermal, in Vitro Amplification of Nucleic Acids by a Multienzyme Reaction Modeled after Retroviral Replication." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, no. 5 (March 1990): 1874–78. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1874>.
- Guenther, J. M., M. Krishnamoorthy, and L. R. Tan. "Sentinel Lymphadenectomy for Breast Cancer in a Community Managed Care Setting." *The Cancer Journal from Scientific American* 3, no. 6 (December 1997): 336–40.
- Guillén-Paredes, M. P., L. Carrasco-González, A. Chávez-Benito, and J. L. Aguayo-Albasini. "Aplicación de la técnica OSNA en el análisis intraoperatorio del ganglio centinela en el cáncer de mama." *Cirugía Española* 89, no. 4 (2011): 261–62.

- Guillén-Paredes, María Pilar, Luis Carrasco-González, Asunción Cháves-Benito, Álvaro Campillo-Soto, Andrés Carrillo, and José Luis Aguayo-Albasini. "El análisis molecular intraoperatorio (one-step nucleic acid amplification) del ganglio centinela como alternativa al estudio histopatológico diferido en el cáncer de mama: análisis coste-beneficio." *Cirugía Española* 89, no. 7 (August 1, 2011): 456–62. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2011.04.013>.
- Guindalini, Rodrigo Santa Cruz, Aung Ko Win, Cassandra Gulden, Noralane M. Lindor, Polly A. Newcomb, Robert W. Haile, Victoria Raymond, et al. "Mutation Spectrum and Risk of Colorectal Cancer in African American Families with Lynch Syndrome." *Gastroenterology* 149, no. 6 (November 2015): 1446–53. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.052>.
- Güller, Ulrich, Andreas Zettl, Mathias Worni, Igor Langer, Daniela Cabalzar-Wondberg, Carsten T. Viehl, Nicolas Demartines, and Markus Zuber. "Molecular Investigation of Lymph Nodes in Colon Cancer Patients Using One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA): A New Road to Better Staging?" *Cancer* 118, no. 24 (December 15, 2012): 6039–45. <https://doi.org/10.1002/cncr.27667>.
- H. Gray, and W.H. Lewis. "Anatomy of the Human Body," 591, 1918.
- ———. "Anatomy of the Human Body," 606 y 609. Americana, 1918.
- Haggitt, R. C., R. E. Glotzbach, E. E. Soffer, and L. D. Wruble. "Prognostic Factors in Colorectal Carcinomas Arising in Adenomas: Implications for Lesions Removed by Endoscopic Polypectomy." *Gastroenterology* 89, no. 2 (August 1985): 328–36. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90333-6](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90333-6).
- Haigis, Kevin M., Krystle R. Kendall, Yufang Wang, Ann Cheung, Marcia C. Haigis, Jonathan N. Glickman, Michiko Niwa-Kawakita, et al. "Differential Effects of Oncogenic K-Ras and N-Ras on Proliferation, Differentiation and Tumor Progression in the Colon." *Nature Genetics* 40, no. 5 (May 2008): 600–608. <https://doi.org/10.1038/ng.115>.
- Hampel, Heather, Julie A. Stephens, Eero Pukkala, Risto Sankila, Lauri A. Aaltonen, Jukka-Pekka Mecklin, and Albert de la Chapelle. "Cancer Risk in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: Later Age of Onset." *Gastroenterology* 129, no. 2 (August 2005): 415–21. <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2005.05.011>.
- Handley W. "The Pathology of Melanotic Growth in Relation to Operative Treatment (II)." 1 (1907): 996–1003.
- Harrison, L. E., J. G. Guillem, P. Paty, and A. M. Cohen. "Preoperative Carcinoembryonic Antigen Predicts Outcomes in Node-Negative Colon Cancer Patients: A Multivariate Analysis of 572 Patients." *Journal of the American College of Surgeons* 185, no. 1 (July 1997): 55–59. [https://doi.org/10.1016/s1072-7515\(97\)00012-4](https://doi.org/10.1016/s1072-7515(97)00012-4).
- Hasegawa, H., Y. Kabeshima, M. Watanabe, S. Yamamoto, and M. Kitajima. "Randomized Controlled Trial of Laparoscopic versus Open Colectomy for Advanced Colorectal Cancer." *Surgical Endoscopy* 17, no. 4 (April 2003): 636–40. <https://doi.org/10.1007/s00464-002-8516-4>.
- He, Xing-Kang, Wenrui Wu, Yu-E. Ding, Yue Li, Lei-Min Sun, and Jianmin Si. "Different Anatomical Subsites of Colon Cancer and Mortality: A Population-Based Study." *Gastroenterology Research and Practice* 2018 (2018): 7153685. <https://doi.org/10.1155/2018/7153685>.
- Henderson, Tara O., Kevin C. Oeffinger, John Whitton, Wendy Leisenring, Joseph Neglia, Anna Meadows, Catherine Crotty, et al. "Secondary Gastrointestinal Cancer in Childhood Cancer

Survivors: A Cohort Study." *Annals of Internal Medicine* 156, no. 11 (June 5, 2012): 757–66, W-260. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-156-11-201206050-00002>.

- Herbst, Andreas, Guido T. Bommer, Lydia Kriegel, Andreas Jung, Andrea Behrens, Endy Csanadi, Markus Gerhard, et al. "ITF-2 Is Disrupted via Allelic Loss of Chromosome 18q21, and ITF-2B Expression Is Lost at the Adenoma-Carcinoma Transition." *Gastroenterology* 137, no. 2 (August 2009): 639–48, 648.e1-9. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.049>.
- Hermanek, P., R. V. Hutter, L. H. Sobin, and C. Wittekind. "International Union Against Cancer. Classification of Isolated Tumor Cells and Micrometastasis." *Cancer* 86, no. 12 (December 15, 1999): 2668–73.
- Hernández, Norlan Bressler, Elliot Martínez Pérez, Leopoldo Fernández Rodríguez, and Ramiro Torres Coré. "Cirugía laparoscópica en cáncer colorrectal. Laparoscopic surgery in colorectal cancer.," 2011, 10.
- Herrera-Ornelas, L., J. Justiniano, N. Castillo, N. J. Petrelli, J. P. Stulc, and A. Mittelman. "Metastases in Small Lymph Nodes from Colon Cancer." *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 122, no. 11 (November 1987): 1253–56. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1987.01400230039006>.
- Hibi, Kenji, Hiroki Mizukami, Atsushi Shirahata, Tetsuhiro Goto, Makiko Sakata, and Yutaka Sanada. "Aberrant Methylation of the Netrin-1 Receptor Genes UNC5C and DCC Detected in Advanced Colorectal Cancer." *World Journal of Surgery* 33, no. 5 (May 2009): 1053–57. <https://doi.org/10.1007/s00268-008-9909-x>.
- Hirche, Christoph, Zarah Mohr, Sören Kneif, Sergiu Doniga, Dawid Murawa, Martin Strik, and Michael Hünerbein. "Ultrastaging of Colon Cancer by Sentinel Node Biopsy Using Fluorescence Navigation with Indocyanine Green." *International Journal of Colorectal Disease* 27, no. 3 (March 2012): 319–24. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1306-5>.
- Horzic, Matija, and Mario Kopljär. "Minimal Number of Lymph Nodes That Need to Be Examined for Adequate Staging of Colorectal Cancer--Factors Influencing Lymph Node Harvest." *Hepato-Gastroenterology* 52, no. 61 (February 2005): 86–89.
- Iddings, Douglas, Aziz Ahmad, David Elashoff, and Anton Bilchik. "The Prognostic Effect of Micrometastases in Previously Staged Lymph Node Negative (N0) Colorectal Carcinoma: A Meta-Analysis." *Annals of Surgical Oncology* 13, no. 11 (November 2006): 1386–92. <https://doi.org/10.1245/s10434-006-9120-y>.
- "INCIDENCIA Y MORTALIDAD DE CÁNCER COLORRECTAL EN ESPAÑA EN LA POBLACIÓN ENTRE 50 Y 69 AÑOS." Accessed March 29, 2020. https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:9_2teCBO_nOJ:https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Informe-incidencia-colon.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=es&client=firefox-b-d.
- Inokuchi, M., I. Ninomiya, K. Tsugawa, I. Terada, and K. Miwa. "Quantitative Evaluation of Metastases in Axillary Lymph Nodes of Breast Cancer." *British Journal of Cancer* 89, no. 9 (November 2003): 1750–56. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601248>.
- "Intestino," 2007.
- Isabel Portillo, Isabel Idigorar, Isabel Bilbao, Jose Luis Hurtado, Marga Urrejola, Begoña Calvo, Arantxa Mentzaka, and Arantxa Mentzaka. "Programa de cribado de cáncer colorrectal," March 21, 2016. <https://www.osakidetza.euskadi.eus/programa-cribado-cancer-colorrectal/ab84-oescacon/es/>.

- Itabashi, Michio, Hirofumi Yamamoto, Naohiro Tomita, Masafumi Inomata, Kohei Murata, Shigeoki Hayashi, Yasuhiro Miyake, et al. "Lymph Node Positivity in One-Step Nucleic Acid Amplification Is a Prognostic Factor for Postoperative Cancer Recurrence in Patients with Stage II Colorectal Cancer: A Prospective, Multicenter Study." *Annals of Surgical Oncology* 27, no. 4 (April 2020): 1077–83. <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07971-y>.
- J, Ferlay, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, and Bray F. *GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 v1.0*. Accessed March 29, 2020. <https://publications.iarc.fr/Databases/IARC-Cancerbases/GLOBOCAN-2012-Estimated-Cancer-Incidence-Mortality-And-Prevalence-Worldwide-In-2012-V1.0-2012>.
- Jayne, D. G., S. Fook, C. Loi, and F. Seow-Choen. "Peritoneal Carcinomatosis from Colorectal Cancer." *The British Journal of Surgery* 89, no. 12 (December 2002): 1545–50. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2002.02274.x>.
- Jemal, Ahmedin, Rebecca Siegel, Jiaquan Xu, and Elizabeth Ward. "Cancer Statistics, 2010." *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 60, no. 5 (October 2010): 277–300. <https://doi.org/10.3322/caac.20073>.
- Johnson, Paul M., Geoff A. Porter, Rocco Ricciardi, and Nancy N. Baxter. "Increasing Negative Lymph Node Count Is Independently Associated with Improved Long-Term Survival in Stage IIIB and IIIC Colon Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 24, no. 22 (August 1, 2006): 3570–75. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.8866>.
- Joseph, Natalie E., Elin R. Sigurdson, Alexandra L. Hanlon, Hao Wang, Robert J. Mayer, John S. MacDonald, Paul J. Catalano, and Daniel G. Haller. "Accuracy of Determining Nodal Negativity in Colorectal Cancer on the Basis of the Number of Nodes Retrieved on Resection." *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 3 (April 2003): 213–18. <https://doi.org/10.1245/aso.2003.03.059>.
- Kanthan, Rani, Jenna-Lynn Senger, and Selliah Chandra Kanthan. "Molecular Events in Primary and Metastatic Colorectal Carcinoma: A Review." Review Article. *Pathology Research International*. Hindawi, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/597497>.
- Karahalios, Amalia, Dallas R. English, and Julie A. Simpson. "Weight Change and Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis." *American Journal of Epidemiology* 181, no. 11 (June 1, 2015): 832–45. <https://doi.org/10.1093/aje/kwu357>.
- Kelder, Wendy. *Lymph Node Staging in Colon Cancer*. s.n., 2008. [https://www.rug.nl/research/portal/publications/lymph-node-staging-in-colon-cancer\(09b2fe13-a3da-4f92-8d71-7387f17ceb83\)/export.html](https://www.rug.nl/research/portal/publications/lymph-node-staging-in-colon-cancer(09b2fe13-a3da-4f92-8d71-7387f17ceb83)/export.html).
- Kelder, Wendy, Andries Braat, Anke van den Berg, Inge Platteel, Harry Hollema, Henk Groen, and John Plukker. "Value of RT-PCR Analysis of Sentinel Nodes in Determining the Pathological Nodal Status in Colon Cancer." *Anticancer Research* 27, no. 4C (August 2007): 2855–59.
- Kelder, Wendy, Andries E. Braat, Arend Karrenbeld, Joris A. K. Grond, Johannes E. De Vries, J. Wolter A. Oosterhuis, Peter C. Baas, and John T. M. Plukker. "The Sentinel Node Procedure in Colon Carcinoma: A Multi-Centre Study in The Netherlands." *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 12 (December 2007): 1509. <https://doi.org/10.1007/s00384-007-0351-6>.
- Kim, Il-Jin, Hio Chung Kang, Sang-Geun Jang, Kun Kim, Sun-A. Ahn, Hyun-Ju Yoon, Sang Nam Yoon, and Jae-Gahb Park. "Oligonucleotide Microarray Analysis of Distinct Gene Expression Patterns in Colorectal Cancer Tissues Harboring BRAF and K-Ras Mutations." *Carcinogenesis* 27, no. 3 (March 2006): 392–404. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi237>.

- Kim, Il-Jin, Hio Chung Kang, Jae-Hyun Park, Yong Shin, Ja-Lok Ku, Seok-Byung Lim, So Yeon Park, Seung-Yong Jung, Hark Kyun Kim, and Jae-Gahb Park. "Development and Applications of a Beta-Catenin Oligonucleotide Microarray: Beta-Catenin Mutations Are Dominantly Found in the Proximal Colon Cancers with Microsatellite Instability." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 9, no. 8 (August 1, 2003): 2920–25.
- Kim, Kyoung-Mee, Eui Jin Lee, Young-Ho Kim, Dong Kyung Chang, and Robert D. Odze. "KRAS Mutations in Traditional Serrated Adenomas from Korea Herald an Aggressive Phenotype." *The American Journal of Surgical Pathology* 34, no. 5 (May 2010): 667–75. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d40cb2>.
- Kim, Su Young, Hyun-Soo Kim, and Hong Jun Park. "Adverse Events Related to Colonoscopy: Global Trends and Future Challenges." *World Journal of Gastroenterology* 25, no. 2 (January 14, 2019): 190–204. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i2.190>.
- Kirke, Rathy, Arumugam Rajesh, Ratan Verma, and Michael J. G. Bankart. "Rectal Cancer: Incidence of Pulmonary Metastases on Thoracic CT and Correlation with T Staging." *Journal of Computer Assisted Tomography* 31, no. 4 (August 2007): 569–71. <https://doi.org/10.1097/rct.0b013e318032e8c9>.
- Kishiki, Tomokazu, Kristine Kuchta, Hiroyoshi Matsuoka, Koichiro Kojima, Nobuyoshi Asou, Ayumi Beniya, Shinichi Yamauchi, Kenichi Sugihara, and Tadahiko Masaki. "The Impact of Tumor Location on the Biological and Oncological Differences of Colon Cancer: Multi-Institutional Propensity Score-Matched Study." *American Journal of Surgery* 217, no. 1 (2019): 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2018.07.005>.
- Kosinski, Cynthia, Vivian S. W. Li, Annie S. Y. Chan, Ji Zhang, Coral Ho, Wai Yin Tsui, Tsun Leung Chan, et al. "Gene Expression Patterns of Human Colon Tops and Basal Crypts and BMP Antagonists as Intestinal Stem Cell Niche Factors." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, no. 39 (September 25, 2007): 15418–23. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707210104>.
- Kost'ún, J., M. Pešta, R. Slunečko, P. Vlasák, J. Bouda, D. Berezovskiy, O. Topolčan, Z. Novotný, and J. Presl. "[One-Step Nucleic Acid Amplification method - what is the future of sentinel lymph node management?]." *Ceska Gynekologie* 83, no. 1 (Winter 2018): 57–61.
- Kouri, M., S. Pyrhönen, J. P. Mecklin, H. Järvinen, A. Laasonen, K. Franssila, P. Kuusela, and S. Nordling. "Serum Carcinoembryonic Antigen and DNA Ploidy in Colorectal Carcinoma. A Prospective Study." *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 26, no. 8 (August 1991): 812–18. <https://doi.org/10.3109/00365529109037017>.
- Koyanagi, Kazuo, Anton J. Bilchik, Sukamal Saha, Roderick R. Turner, David Wiese, Martin McCarter, Perry Shen, Linda Deacon, David Elashoff, and Dave S. B. Hoon. "Prognostic Relevance of Occult Nodal Micrometastases and Circulating Tumor Cells in Colorectal Cancer in a Prospective Multicenter Trial." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 14, no. 22 (November 15, 2008): 7391–96. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0290>.
- Krag, D. N., D. L. Weaver, J. C. Alex, and J. T. Fairbank. "Surgical Resection and Radiolocalization of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Using a Gamma Probe." *Surgical Oncology* 2, no. 6 (December 1993): 335–39; discussion 340. [https://doi.org/10.1016/0960-7404\(93\)90064-6](https://doi.org/10.1016/0960-7404(93)90064-6).
- Kuerer, H. M., J. D. Wayne, and M. I. Ross. "Anaphylaxis during Breast Cancer Lymphatic Mapping." *Surgery* 129, no. 1 (January 2001): 119–20. <https://doi.org/10.1067/msy.2001.111212>.

- Kumagai, Koshi, Noriko Yamamoto, Isao Miyashiro, Yasuhiko Tomita, Hitoshi Katai, Ryoji Kushima, Hitoshi Tsuda, et al. "Multicenter Study Evaluating the Clinical Performance of the OSNA Assay for the Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Gastric Cancer Patients." *Gastric Cancer: Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association* 17, no. 2 (April 2014): 273–80. <https://doi.org/10.1007/s10120-013-0271-9>.
- L. Bernet, A. Piñero, S. Vidal-Sicart, R. Cano, and JM Cordero. "Actualización sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Rev senología y Patol Mam." 23, no. 5 (2010): 201–8.
- Lacy, Antonio M., Juan C. García-Valdecasas, Salvadora Delgado, Antoni Castells, Pilar Taurá, Josep M. Piqué, and Josep Visa. "Laparoscopy-Assisted Colectomy versus Open Colectomy for Treatment of Non-Metastatic Colon Cancer: A Randomised Trial." *Lancet (London, England)* 359, no. 9325 (June 29, 2002): 2224–29. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09290-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09290-5).
- Laia, Bernet Vegué, Martínez Benaclocha Marcos, Cano Muñoz Refael, Sevilla Chica Francisco, Torró Jose, Ballester Sapiña Blai, and De la Cámara de las Heras Juan Maria. "Molecular Diagnosis of Sentinel Lymph Nodes for Breast Cancer: One Step Ahead for Standardization." *Diagnostic Molecular Pathology: The American Journal of Surgical Pathology, Part B* 20, no. 1 (March 2011): 18–21. <https://doi.org/10.1097/PDM.0b013e3181eb9b30>.
- Langeveld, Danielle, W. Arnout van Hattem, Wendy W. J. de Leng, Folkert H. Morsink, Fiebo J. W. Ten Kate, Francis M. Giardiello, G. Johan A. Offerhaus, and Lodewijk A. A. Brosens. "SMAD4 Immunohistochemistry Reflects Genetic Status in Juvenile Polyposis Syndrome." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 16, no. 16 (August 15, 2010): 4126–34. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0168>.
- "Las cifras del cáncer en España 2016." Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), 2016.
- Le Voyer, T. E., E. R. Sigurdson, A. L. Hanlon, R. J. Mayer, J. S. Macdonald, P. J. Catalano, and D. G. Haller. "Colon Cancer Survival Is Associated with Increasing Number of Lymph Nodes Analyzed: A Secondary Survey of Intergroup Trial INT-0089." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 21, no. 15 (August 1, 2003): 2912–19. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.062>.
- Lechaux, D., G. Trebuchet, and J. L. Le Calve. "Five-Year Results of 206 Laparoscopic Left Colectomies for Cancer." *Surgical Endoscopy* 16, no. 10 (October 2002): 1409–12. <https://doi.org/10.1007/s00464-002-9011-7>.
- Leggett, Barbara, and Vicki Whitehall. "Role of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer Pathogenesis." *Gastroenterology* 138, no. 6 (June 2010): 2088–2100. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.066>.
- Leibl, Sebastian, Oleksiyy Tsybrovskyy, and Helmut Denk. "How Many Lymph Nodes Are Necessary to Stage Early and Advanced Adenocarcinoma of the Sigmoid Colon and Upper Rectum?" *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 443, no. 2 (August 2003): 133–38. <https://doi.org/10.1007/s00428-003-0858-3>.
- Leidenius, Marjut Hannele Kristiina, Leena Anneli Krogerus, Terttu Sinikka Toivonen, and Karl Johan Albert Von Smitten. "The Feasibility of Intraoperative Diagnosis of Sentinel Lymph Node Metastases in Breast Cancer." *Journal of Surgical Oncology* 84, no. 2 (October 2003): 68–73. <https://doi.org/10.1002/jso.10296>.
- Leong, S. P., E. Donegan, W. Heffernon, S. Dean, and J. A. Katz. "Adverse Reactions to Isosulfan Blue during Selective Sentinel Lymph Node Dissection in Melanoma." *Annals of Surgical Oncology* 7, no. 5 (June 2000): 361–66. <https://doi.org/10.1007/s10434-000-0361-x>.

- L.H. Sobin, and Ch. Wittekind. *TNM Classification of Malignant Tumours, 6th Edition | UICC*. 6th ed. L.H. Sobin, Ch. Wittekind, 2002. <https://www.uicc.org/resources/tnm-classification-malignant-tumours-6th-edition>.
- Lo, Dorothy S., Aaron Pollett, Lillian L. Siu, Steve Gallinger, and Ronald L. Burkes. "Prognostic Significance of Mesenteric Tumor Nodules in Patients with Stage III Colorectal Cancer." *Cancer* 112, no. 1 (January 1, 2008): 50–54. <https://doi.org/10.1002/cncr.23136>.
- Locker, Gershon Y., Stanley Hamilton, Jules Harris, John M. Jessup, Nancy Kemeny, John S. Macdonald, Mark R. Somerfield, Daniel F. Hayes, Robert C. Bast, and ASCO. "ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 24, no. 33 (November 20, 2006): 5313–27. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.08.2644>.
- Lopez, M. J. "Multivisceral Resections for Colorectal Cancer." *Journal of Surgical Oncology* 76, no. 1 (January 2001): 1–5. [https://doi.org/10.1002/1096-9098\(200101\)76:1<1::aid-jso1000>3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1096-9098(200101)76:1<1::aid-jso1000>3.0.co;2-q).
- López-Zambrano, María, Nuria Ruiz, Maria Teresa Soler, Maria Jesús Pla, Cecilia Quetglas, Javier Pérez-Martín, Anna Petit, et al. "Estudio comparativo entre el método One step nucleic acid amplification y el método convencional en la estadificación en cáncer de mama: un aumento en la detección de micrometástasis." *Revista de Senología y Patología Mamaria* 29, no. 4 (October 1, 2016): 143–49. <https://doi.org/10.1016/j.senol.2016.06.004>.
- Lykke, J., O. Roikjaer, P. Jess, and Danish Colorectal Cancer Group. "The Relation between Lymph Node Status and Survival in Stage I-III Colon Cancer: Results from a Prospective Nationwide Cohort Study." *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 15, no. 5 (May 2013): 559–65. <https://doi.org/10.1111/codi.12059>.
- Lykke, Jakob, Jacob Rosenberg, Per Jess, and Ole Roikjaer. "Lymph Node Yield and Tumour Subsite Are Associated with Survival in Stage I–III Colon Cancer: Results from a National Cohort Study." *World Journal of Surgical Oncology* 17 (April 2, 2019). <https://doi.org/10.1186/s12957-019-1604-x>.
- Lyman, Gary H., Armando E. Giuliano, Mark R. Somerfield, Al B. Benson, Diane C. Bodurka, Harold J. Burstein, Alistair J. Cochran, et al. "American Society of Clinical Oncology Guideline Recommendations for Sentinel Lymph Node Biopsy in Early-Stage Breast Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, no. 30 (October 20, 2005): 7703–20. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.08.001>.
- MA Saez Garcia, M. Chao Crecente, D.A. Vazquez, and Stuart Rodriguez-Roda. "El genoma humano (Ethical eye: the human genome," 2002. Glosario p. 201. trad. Colección La Mirada de la Ciencia. Madrid: Council of Europe/Editorial Complutense.
- Marhic, Alix, Jean-François Tremblay, Rachid Kaci, Thierry André, Clarisse Eveno, and Marc Pocard. "Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node in Colon Carcinomas by One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Reduces Time to Adjuvant Chemotherapy Interval." *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 49, no. 8 (August 2017): 924–28. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2017.05.017>.
- María José Báguena. "Estadíos de Dukes. Cuthbert Esquire Dukes(1890-1977), Breve Referencia de Su Aporte a La Medicina.," June 26, 2002. <https://www.intramed.net/contenidoover.asp?contenido=12835>.

- Märkl, Bruno, Janine Rößle, Hans M. Arnholdt, Tina Schaller, Ines Krammer, Claudio Cacchi, Hendrik Jähnig, Gerhard Schenkirsch, Hanno Spatz, and Matthias Anthuber. "The Clinical Significance of Lymph Node Size in Colon Cancer." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 25, no. 10 (October 2012): 1413–22. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.92>.
- Markowitz, Sanford D., and Monica M. Bertagnolli. "Molecular Basis of Colorectal Cancer." Review-article. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0804588>. Massachusetts Medical Society, January 28, 2010. World. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804588>.
- ———. "Molecular Origins of Cancer: Molecular Basis of Colorectal Cancer." *The New England Journal of Medicine* 361, no. 25 (December 17, 2009): 2449–60. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804588>.
- Mascarel, Isabelle de, Gaetan MacGrogan, Marc Debled, Veronique Brouste, and Louis Mauriac. "Distinction between Isolated Tumor Cells and Micrometastases in Breast Cancer: Is It Reliable and Useful?" *Cancer* 112, no. 8 (April 15, 2008): 1672–78. <https://doi.org/10.1002/cncr.23368>.
- Matsubara, Nagahide. "Epigenetic Regulation and Colorectal Cancer." *Diseases of the Colon and Rectum* 55, no. 1 (January 2012): 96–104. <https://doi.org/10.1097/DCR.0b013e318233a1ef>.
- Merrie, Arend E. H., André M. van Rij, Lynne V. Phillips, Jeremy I. Rossaak, Kankatsu Yun, and John L. McCall. "Diagnostic Use of the Sentinel Node in Colon Cancer." *Diseases of the Colon & Rectum* 44, no. 3 (March 1, 2001): 410–17. <https://doi.org/10.1007/BF02234742>.
- Milsom, J. W., B. Böhm, K. A. Hammerhofer, V. Fazio, E. Steiger, and P. Elson. "A Prospective, Randomized Trial Comparing Laparoscopic versus Conventional Techniques in Colorectal Cancer Surgery: A Preliminary Report." *Journal of the American College of Surgeons* 187, no. 1 (July 1998): 46–54; discussion 54–55. [https://doi.org/10.1016/s1072-7515\(98\)00132-x](https://doi.org/10.1016/s1072-7515(98)00132-x).
- Mitas, M., K. Mikhitarian, C. Walters, P. L. Baron, B. M. Elliott, T. E. Brothers, J. G. Robison, et al. "Quantitative Real-Time RT-PCR Detection of Breast Cancer Micrometastasis Using a Multigene Marker Panel." *International Journal of Cancer* 93, no. 2 (July 15, 2001): 162–71. <https://doi.org/10.1002/ijc.1312>.
- Morán, Alberto, Paloma Ortega, Carmen de Juan, Tamara Fernández-Marcelo, Cristina Frías, Andrés Sánchez-Pernaute, Antonio José Torres, Eduardo Díaz-Rubio, Pilar Iniesta, and Manuel Benito. "Differential Colorectal Carcinogenesis: Molecular Basis and Clinical Relevance." *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 2, no. 3 (March 15, 2010): 151–58. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v2.i3.151>.
- Mori, Y., K. Nagamine, N. Tomita, and T. Notomi. "Detection of Loop-Mediated Isothermal Amplification Reaction by Turbidity Derived from Magnesium Pyrophosphate Formation." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 289, no. 1 (November 23, 2001): 150–54. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5921>.
- Morikawa, Teppei, Aya Kuchiba, Zhi Rong Qian, Mari Mino-Kenudson, Jason L. Hornick, Mai Yamauchi, Yu Imamura, et al. "Prognostic Significance and Molecular Associations of Tumor Growth Pattern in Colorectal Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 6 (June 2012): 1944–53. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-2174-5>.
- Morson, B C, J E Whiteway, E A Jones, F A Macrae, and C B Williams. "Histopathology and Prognosis of Malignant Colorectal Polyps Treated by Endoscopic Polypectomy." *Gut* 25, no. 5 (May 1984): 437–44.

- Morton, D. L., J. F. Thompson, R. Essner, R. Elashoff, S. L. Stern, O. E. Nieweg, D. F. Roses, et al. "Validation of the Accuracy of Intraoperative Lymphatic Mapping and Sentinel Lymphadenectomy for Early-Stage Melanoma: A Multicenter Trial. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group." *Annals of Surgery* 230, no. 4 (October 1999): 453–63; discussion 463–465. <https://doi.org/10.1097/0000658-199910000-00001>.
- Morton, D. L., D. R. Wen, J. H. Wong, J. S. Economou, L. A. Cagle, F. K. Storm, L. J. Foshag, and A. J. Cochran. "Technical Details of Intraoperative Lymphatic Mapping for Early Stage Melanoma." *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 127, no. 4 (April 1992): 392–99. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1992.01420040034005>.
- Mühle, E. "296. Die erste Cholecystektomie durch das Laparoskop." *Langenbecks Archiv für Chirurgie* 369, no. 1 (December 1, 1986): 804–804. <https://doi.org/10.1007/BF01274615>.
- ———. "Long-Term Follow-up after Laparoscopic Cholecystectomy." *Endoscopy* 24, no. 9 (November 1992): 754–58. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1009119>.
- Mullis, K., F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, and H. Erlich. "Specific Enzymatic Amplification of DNA in Vitro: The Polymerase Chain Reaction." *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51 Pt 1 (1986): 263–73. <https://doi.org/10.1101/sqb.1986.051.01.032>.
- Nadler, Ashlie, J. Andrea McCart, and Anand Govindarajan. "Peritoneal Carcinomatosis from Colon Cancer: A Systematic Review of the Data for Cytoreduction and Intraperitoneal Chemotherapy." *Clinics in Colon and Rectal Surgery* 28, no. 4 (December 2015): 234–46. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1564431>.
- Nagamine, K., T. Hase, and T. Notomi. "Accelerated Reaction by Loop-Mediated Isothermal Amplification Using Loop Primers." *Molecular and Cellular Probes* 16, no. 3 (June 2002): 223–29. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>.
- Nagtegaal, Iris D., Corrie A. M. Marijnen, Elma Klein Kranenbarg, Cornelis J. H. van de Velde, J. Han J. M. van Krieken, Pathology Review Committee, and Cooperative Clinical Investigators. "Circumferential Margin Involvement Is Still an Important Predictor of Local Recurrence in Rectal Carcinoma: Not One Millimeter but Two Millimeters Is the Limit." *The American Journal of Surgical Pathology* 26, no. 3 (March 2002): 350–57. <https://doi.org/10.1097/00000478-200203000-00009>.
- Nagtegaal, Iris D., and Phil Quirke. "What Is the Role for the Circumferential Margin in the Modern Treatment of Rectal Cancer?" *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 26, no. 2 (January 10, 2008): 303–12. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.7027>.
- Nakafusa, Yuji, Toshiya Tanaka, Masayuki Tanaka, Yoshihiko Kitajima, Seiji Sato, and Kohji Miyazaki. "Comparison of Multivisceral Resection and Standard Operation for Locally Advanced Colorectal Cancer: Analysis of Prognostic Factors for Short-Term and Long-Term Outcome." *Diseases of the Colon and Rectum* 47, no. 12 (December 2004): 2055–63. <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0716-7>.
- Nash, Garrett M., David Row, Alexander Weiss, Jinru Shia, Jose G. Guillem, Philip B. Paty, Mithat Gonen, et al. "A Predictive Model for Lymph Node Yield in Colon Cancer Resection Specimens." *Annals of Surgery* 253, no. 2 (February 2011): 318–22. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318204e637>.
- Negri, E., S. Franceschi, M. Parpinel, and C. La Vecchia. "Fiber Intake and Risk of Colorectal Cancer." *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 7, no. 8 (August 1998): 667–71.

- Nelson, H., N. Petrelli, A. Carlin, J. Couture, J. Fleshman, J. Guillem, B. Miedema, D. Ota, D. Sargent, and National Cancer Institute Expert Panel. "Guidelines 2000 for Colon and Rectal Cancer Surgery." *Journal of the National Cancer Institute* 93, no. 8 (April 18, 2001): 583–96. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.8.583>.
- Netzer, P., J. Binek, B. Hammer, J. Lange, and A. Schmassmann. "Significance of Histologic Criteria for the Management of Patients with Malignant Colorectal Polyps and Polypectomy." *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 32, no. 9 (September 1997): 910–16. <https://doi.org/10.3109/00365529709011201>.
- Newland, R. C., O. F. Dent, M. N. Lyttle, P. H. Chapuis, and E. L. Bokey. "Pathologic Determinants of Survival Associated with Colorectal Cancer with Lymph Node Metastases. A Multivariate Analysis of 579 Patients." *Cancer* 73, no. 8 (April 15, 1994): 2076–82. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19940415\)73:8<2076::aid-cnrcr2820730811>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19940415)73:8<2076::aid-cnrcr2820730811>3.0.co;2-6).
- Ng, Ordóñez. "Broad-Spectrum Immunohistochemical Epithelial Markers: A Review." *Human Pathology* 44, no. 7 (February 18, 2013): 1195–1215. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.11.016>.
- Nicastrì, Daniel G., John T. Doucette, Tony E. Godfrey, and Steven J. Hughes. "Is Occult Lymph Node Disease in Colorectal Cancer Patients Clinically Significant? A Review of the Relevant Literature." *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD* 9, no. 5 (November 2007): 563–71. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2007.070032>.
- Norat, Teresa, Sheila Bingham, Pietro Ferrari, Nadia Slimani, Mazda Jenab, Mathieu Mazuir, Kim Overvad, et al. "Meat, Fish, and Colorectal Cancer Risk: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition." *Journal of the National Cancer Institute* 97, no. 12 (June 15, 2005): 906–16. <https://doi.org/10.1093/jnci/dji164>.
- Norwood, M. G. A., A. J. Sutton, K. West, D. P. Sharpe, D. Hemingway, and M. J. Kelly. "Lymph Node Retrieval in Colorectal Cancer Resection Specimens: National Standards Are Achievable, and Low Numbers Are Associated with Reduced Survival." *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 12, no. 4 (April 2010): 304–9. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2009.01788.x>.
- Notomi, T., H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K. Watanabe, N. Amino, and T. Hase. "Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA." *Nucleic Acids Research* 28, no. 12 (June 15, 2000): E63. <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>.
- Nottage, Kerri, Joshua McFarlane, Matthew J. Krasin, Chenghong Li, Deokumar Srivastava, Leslie L. Robison, and Melissa M. Hudson. "Secondary Colorectal Carcinoma After Childhood Cancer." *Journal of Clinical Oncology* 30, no. 20 (June 4, 2012): 2552–58. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.8760>.
- Noura, Shingo, Hirofumi Yamamoto, Tadashi Ohnishi, Norikazu Masuda, Takashi Matsumoto, Osamu Takayama, Hiroki Fukunaga, et al. "Comparative Detection of Lymph Node Micrometastases of Stage II Colorectal Cancer by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20, no. 20 (October 15, 2002): 4232–41. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.10.023>.
- O'Brien, Michael J., Shi Yang, Charline Mack, Huihong Xu, Christopher S. Huang, Elizabeth Mulcahy, Mark Amoroso, and Francis A. Farray. "Comparison of Microsatellite Instability, CpG Island Methylation Phenotype, BRAF and KRAS Status in Serrated Polyps and Traditional Adenomas Indicates Separate Pathways to Distinct Colorectal Carcinoma End Points." *The American Journal of Surgical Pathology* 30, no. 12 (December 2006): 1491–1501. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000213313.36306.85>.

- O'Connell, Jessica B., Melinda A. Maggard, and Clifford Y. Ko. "Colon Cancer Survival Rates with the New American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging." *Journal of the National Cancer Institute* 96, no. 19 (October 6, 2004): 1420–25. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh275>.
- Ortiz Urtado H. *Cirugía Colorrectal. Guía de Cirugía Colorrectal de La Asociación Española de Cirugía*. 2nd ed. Aran ediciones, 2012.
- Osako, Tomo, Takuji Iwase, Kiyomi Kimura, Kyoko Yamashita, Rie Horii, Akio Yanagisawa, and Futoshi Akiyama. "Intraoperative Molecular Assay for Sentinel Lymph Node Metastases in Early Stage Breast Cancer: A Comparative Analysis between One-Step Nucleic Acid Amplification Whole Node Assay and Routine Frozen Section Histology." *Cancer* 117, no. 19 (October 1, 2011): 4365–74. <https://doi.org/10.1002/cncr.26060>.
- Osako, Tomo, Takuji Iwase, Masaru Ushijima, Rika Yonekura, Shinji Ohno, and Futoshi Akiyama. "A New Molecular-Based Lymph Node Staging Classification Determines the Prognosis of Breast Cancer Patients." *British Journal of Cancer* 117, no. 10 (November 7, 2017): 1470–77. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.311>.
- P. Hermanek. "Oncologic Surgery/Pathologic-Anatomic Viewpoint." *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*, 1991, 277–81.
- Palacio Rúa, Katherine Andrea, and 3 Muñetón Peña2. "Bases Moleculares Del Cáncer Colorrectal." *Iatreia* 25, no. 2 (April 2012): 137–48.
- Paramo, J. C., J. Summerall, C. Wilson, A. Cabral, I. Willis, H. Wodnicki, R. Poppiti, and T. W. Mesko. "Intraoperative Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Colon Cancer." *American Journal of Surgery* 182, no. 1 (July 2001): 40–43. [https://doi.org/10.1016/s0002-9610\(01\)00658-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9610(01)00658-4).
- Paramo, Juan C., Janna Summerall, Robert Poppiti, and Thomas W. Mesko. "Validation of Sentinel Node Mapping in Patients with Colon Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 9, no. 6 (July 2002): 550–54. <https://doi.org/10.1007/bf02573890>.
- Park, J. M., M.-G. Choi, S. W. Kim, I.-S. Chung, C. W. Yang, Y. S. Kim, C. K. Jung, K. Y. Lee, and J.-H. Kang. "Increased Incidence of Colorectal Malignancies in Renal Transplant Recipients: A Case Control Study." *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 10, no. 9 (September 2010): 2043–50. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03231.x>.
- Park, Jun Seok, In Taik Chang, Sung Jun Park, Beom Gyu Kim, Yoo Shin Choi, Seong Jae Cha, Eon Sub Park, and Gui Young Kwon. "Comparison of Ex Vivo and in Vivo Injection of Blue Dye in Sentinel Lymph Node Mapping for Colorectal Cancer." *World Journal of Surgery* 33, no. 3 (March 2009): 539–46. <https://doi.org/10.1007/s00268-008-9872-6>.
- Park, Sun Jin, Kil Yeon Lee, and Si Young Kim. "Clinical Significance of Lymph Node Micrometastasis in Stage I and II Colon Cancer." *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association* 40, no. 2 (June 2008): 75–80. <https://doi.org/10.4143/crt.2008.40.2.75>.
- Park, Y. J., K. J. Park, J. G. Park, K. U. Lee, K. J. Choe, and J. P. Kim. "Prognostic Factors in 2230 Korean Colorectal Cancer Patients: Analysis of Consecutively Operated Cases." *World Journal of Surgery* 23, no. 7 (July 1999): 721–26. <https://doi.org/10.1007/pl00012376>.
- Parsons, Helen M., Todd M. Tuttle, Karen M. Kuntz, James W. Begun, Patricia M. McGovern, and Beth A. Virnig. "Association between Lymph Node Evaluation for Colon Cancer and Node

- Positivity over the Past 20 Years." *JAMA* 306, no. 10 (September 14, 2011): 1089–97. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1285>.
- Périssat, Jacques. "Laparoscopic Surgery: A Pioneer's Point of View." *World Journal of Surgery* 23, no. 8 (August 1, 1999): 863–68. <https://doi.org/10.1007/s002689900590>.
 - Piñero, Antonio, Julián Illana, Pedro José Galindo, Francisco Nicolás, and Pascual Parrilla. "Estudio comparativo entre el azul de isosulfán y el azul de metileno para la identificación del ganglio centinela en el cáncer de mama." *Cirugía Española* 75, no. 2 (February 1, 2004): 81–84. [https://doi.org/10.1016/S0009-739X\(04\)72282-4](https://doi.org/10.1016/S0009-739X(04)72282-4).
 - Pino, Maria S., and Daniel C. Chung. "The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer." *Gastroenterology* 138, no. 6 (June 2010): 2059–72. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.065>.
 - PubChem. "Isosulfan Blue." Accessed March 31, 2020. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/50108>.
 - ———. "Methylene Blue." Accessed March 31, 2020. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6099>.
 - Quehenberger, F., H. F. A. Vasen, and H. C. van Houtwelingen. "Risk of Colorectal and Endometrial Cancer for Carriers of Mutations of the HMLH1 and HSMH2 Gene: Correction for Ascertainment." *Journal of Medical Genetics* 42, no. 6 (June 2005): 491–96. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.024299>.
 - Rahbari, Nuh N., Ulrich Bork, Edith Motschall, Kristian Thorlund, Markus W. Büchler, Moritz Koch, and Jürgen Weitz. "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." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 30, no. 1 (January 1, 2012): 60–70. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.9504>.
 - Rakislova, Natalia, Carla Montironi, Iban Aldecoa, Eva Fernandez, Josep Antoni Bombi, Mireya Jimeno, Francesc Balaguer, Maria Pellise, Antoni Castells, and Miriam Cuatrecasas. "Lymph Node Pooling: A Feasible and Efficient Method of Lymph Node Molecular Staging in Colorectal Carcinoma." *Journal of Translational Medicine* 15, no. 1 (14 2017): 14. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1114-3>.
 - Read, Thomas E., James W. Fleshman, and Philip F. Caushaj. "Sentinel Lymph Node Mapping for Adenocarcinoma of the Colon Does Not Improve Staging Accuracy." *Diseases of the Colon and Rectum* 48, no. 1 (January 2005): 80–85. <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0795-5>.
 - Reddick, Eddie J., Douglas O. Olsen, James F. Daniell, William B. Saye, Barry McKernan, Wayne Miller, and Michael Hoback. "Laparoscopic Laser Cholecystectomy." *Laser Medicine and Surgery News and Advances* 7, no. 1 (February 1, 1989): 38–40. <https://doi.org/10.1089/lms.1989.7.1.38>.
 - Reichmann, A., B. Levin, and P. Martin. "Human Large-Bowel Cancer: Correlation of Clinical and Histopathological Features with Banded Chromosomes." *International Journal of Cancer* 29, no. 6 (June 15, 1982): 625–29. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910290605>.
 - Reilly, W. T., H. Nelson, G. Schroeder, H. S. Wieand, J. Bolton, and M. J. O'Connell. "Wound Recurrence Following Conventional Treatment of Colorectal Cancer. A Rare but Perhaps Underestimated Problem." *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 2 (February 1996): 200–207. <https://doi.org/10.1007/bf02068076>.

- Retter, S. M., G. Herrmann, and T. H. K. Schiedeck. "Clinical Value of Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon." *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 13, no. 8 (August 2011): 855–59. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2010.02293.x>.
- Robert D. Fry, Najjia N. Mahmoud, David J. Maron Anda, and Joshua I.S. Bleier. *Sabiston Tratado de Cirugía. Fundamentos Biológicos de La Práctica Quirúrgica Moderna*. Edición Española de la 19^o edición. Barcelona, España.: Saunders, Elsevier, 2013.
- Rodriguez-Bigas, M. A., S. Maamoun, T. K. Weber, R. B. Penetrante, L. E. Blumenson, and N. J. Petrelli. "Clinical Significance of Colorectal Cancer: Metastases in Lymph Nodes < 5 Mm in Size." *Annals of Surgical Oncology* 3, no. 2 (March 1996): 124–30. <https://doi.org/10.1007/bf02305790>.
- Roseano, Mauro, Monica Scaramucci, Tiziana Ciutto, Alessandro Balani, Angelo Turolfo, Fabrizio Zanconati, Gennaro Liguori, and Aldo Leggeri. "Sentinel Lymph Node Mapping in the Management of Colorectal Cancer: Preliminary Report." *Tumori* 89, no. 4 (August 2003): 412–16.
- Rössler, Ortrun, Johannes Betge, Lars Harbaum, Karl Mrak, Jörg Tschmelitsch, and Cord Langner. "Tumor Size, Tumor Location, and Antitumor Inflammatory Response Are Associated with Lymph Node Size in Colorectal Cancer Patients." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 30, no. 6 (2017): 897–904. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.227>.
- Roth, Arnaud D., Sabine Tejpar, Mauro Delorenzi, Pu Yan, Roberto Fiocca, Dirk Klingbiel, Daniel Dietrich, et al. "Prognostic Role of KRAS and BRAF in Stage II and III Resected Colon Cancer: Results of the Translational Study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 Trial." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28, no. 3 (January 20, 2010): 466–74. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.3452>.
- Ruano, Miguel Alonso, Eugeni Lopez-Bonet, Maria Buxó, Francesc Tuca-Rodríguez, Ester Vila-Camps, Elena Alvarez, Begoña Martin-Castillo, and Javier A. Menendez. "An Improved Axillary Staging System Using the OSNA Assay Does Not Modify the Therapeutic Management of Breast Cancer Patients." *Scientific Reports* 4 (July 18, 2014): 5743. <https://doi.org/10.1038/srep05743>.
- Ruiz, Antonio García, Leopoldo Gutiérrez Rodríguez, and Jorge Cueto García. "Evolución histórica de la cirugía laparoscópica." . . pp, n.d., 14.
- Ruo, Leyo, Satish Tickoo, David S. Klimstra, Bruce D. Minsky, Leonard Saltz, Madhu Mazumdar, Philip B. Paty, et al. "Long-Term Prognostic Significance of Extent of Rectal Cancer Response to Preoperative Radiation and Chemotherapy." *Annals of Surgery* 236, no. 1 (July 2002): 75–81. <https://doi.org/10.1097/0000658-200207000-00012>.
- Saha, S., M. Mozayen, S. Sirop, A. Korant, S. Nalluri, O. L. Machek, M. Manyam, P. L. Ng, S. Nagpal, and D. Wiese. "Biological Impact of Skip Metastasis in Patients with Gastrointestinal Cancers Undergoing Sentinel Lymph Node Mapping." *Journal of Clinical Oncology* 29, no. 4_suppl (February 1, 2011): 499–499. https://doi.org/10.1200/jco.2011.29.4_suppl.499.
- Saha, S., D. Wiese, J. Badin, T. Beutler, D. Nora, B. K. Ganatra, D. Desai, et al. "Technical Details of Sentinel Lymph Node Mapping in Colorectal Cancer and Its Impact on Staging." *Annals of Surgical Oncology* 7, no. 2 (March 2000): 120–24. <https://doi.org/10.1007/s10434-000-0120-z>.
- Saha, Sukamal, Gregory Johnston, Alpesh Korant, Mohammed Shaik, Mohammed Kanaan, Rebecca Johnston, Balvant Ganatra, Sunil Kaushal, Dilip Desai, and Sreenivas Mannam. "Aberrant Drainage of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer and Its Impact on Staging and

- Extent of Operation." *American Journal of Surgery* 205, no. 3 (March 2013): 302–5; discussion 305–306. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2012.10.029>.
- Sakin, Abdullah, Serdar Arici, Saban Secmeler, Orcun Can, Caglayan Geredeli, Nurgul Yasar, Cumhur Demir, Osman Gokhan Demir, and Sener Cihan. "Prognostic Significance of Primary Tumor Localization in Stage II and III Colon Cancer." *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 10, no. 11 (November 15, 2018): 410–20. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v10.i11.410>.
 - Samdani, Tushar, Molly Schultheis, Zsofia Stadler, Jinru Shia, Tiffany Fancher, Justine Misholy, Martin R. Weiser, and Garrett M. Nash. "LYMPH NODE YIELD AFTER COLECTOMY FOR CANCER: IS ABSENCE OF MMR A FACTOR?" *Diseases of the Colon and Rectum* 58, no. 3 (March 2015): 288–93. <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000262>.
 - Sankila, R., L. A. Aaltonen, H. J. Järvinen, and J. P. Mecklin. "Better Survival Rates in Patients with MLH1-Associated Hereditary Colorectal Cancer." *Gastroenterology* 110, no. 3 (March 1996): 682–87. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v110.pm8608876>.
 - Santaballa, Ana, Helena De La Cueva, Carmen Salvador, Ana M García-Martínez, María J Guarín, David Lorente, Laura Palomar, Ismael Aznar, Fernando Dobón, and Pilar Bello. "Advantages of One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) Whole Node Assay in Sentinel Lymph Node (SLN) Analysis in Breast Cancer." *SpringerPlus* 2 (October 17, 2013). <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-542>.
 - Sardón Ramos, José Domingo, José Errasti Alustiza, Eugenia Campo Cimarras, Baltasar Cermeño Toral, José Antonio Romeo Ramírez, Jaione Sáenz de Ugarte Sobrón, Begoña Atares Pueyo, Virginia Moreno Nieto, María Cuadra Cestafe, and Erika Miranda Serrano. "Técnica del ganglio centinela en el cáncer de colon. Experiencia en 125 casos." *Cirugía Española* 91, no. 6 (June 1, 2013): 366–71. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2012.11.006>.
 - Sardón Ramos, José Domingo Sardón. "Estudio del ganglio centinela en el cáncer de colon." <http://purl.org/dc/dcmitype/Text>, Universidad del País Vasco - Euskal Herriko Unibertsitatea, 2011. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=181190>.
 - Saruta, Yuko, and Jaume Puig-Junoy. "Cost and Budget Impact Analysis of an Accurate Intraoperative Sentinel Lymph Node Diagnosis for Breast Cancer Metastasis." *Applied Health Economics and Health Policy* 14, no. 3 (June 2016): 323–35. <https://doi.org/10.1007/s40258-016-0235-4>.
 - Scabini, Stefano. "Sentinel Node Biopsy in Colorectal Cancer: Must We Believe It?" *World Journal of Gastrointestinal Surgery* 2, no. 1 (January 27, 2010): 6–8. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v2.i1.6>.
 - Schaafsma, Boudewijn E., Floris P.R. Verbeek, Joost R. van der Vorst, Merlijn Hutteman, Peter J.K. Kuppen, John V. Frangioni, Cornelis J.H. van de Velde, and Alexander L. Vahrmeijer. "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Colon Cancer Combining Blue Dye Staining and Fluorescence Imaging." *The Journal of Surgical Research* 183, no. 1 (July 2013). <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.01.003>.
 - Schem, Christian, Nicolai Maass, Dirk O. Bauerschlag, Martin H. Carstensen, Thomas Löning, Christian Roder, Olivera Batic, Walter Jonat, and Katharina Tiemann. "One-Step Nucleic Acid Amplification-a Molecular Method for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients; Results of the German Study Group." *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 454, no. 2 (February 2009): 203–10. <https://doi.org/10.1007/s00428-008-0703-9>.
 - Schmoll, H. J., E. Van Cutsem, A. Stein, V. Valentini, B. Glimelius, K. Haustermans, B. Nordlinger, et al. "ESMO Consensus Guidelines for Management of Patients with Colon and Rectal Cancer. a Personalized Approach to Clinical Decision Making." *Annals of Oncology: Official Journal of*

- the European Society for Medical Oncology* 23, no. 10 (October 2012): 2479–2516. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds236>.
- Schoenfeld, Philip, Brooks Cash, Andrew Flood, Richard Dobhan, John Eastone, Walter Coyle, James W. Kikendall, et al. "Colonoscopic Screening of Average-Risk Women for Colorectal Neoplasia." *The New England Journal of Medicine* 352, no. 20 (May 19, 2005): 2061–68. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa042990>.
 - Scholer-Dahirel, Alix, Michael R. Schlabach, Alice Loo, Linda Bagdasarian, Ronald Meyer, Ribo Guo, Steve Woolfenden, et al. "Maintenance of Adenomatous Polyposis Coli (APC)-Mutant Colorectal Cancer Is Dependent on Wnt/Beta-Catenin Signaling." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, no. 41 (October 11, 2011): 17135–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104182108>.
 - Schrembs, Philipp, Benedikt Martin, Matthias Anthuber, Gerhard Schenkirsch, and Bruno Märkl. "The Prognostic Significance of Lymph Node Size in Node-Positive Colon Cancer." *PLOS ONE* 13, no. 8 (August 10, 2018): e0201072. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201072>.
 - Schweizer, Jürgen, Paul E. Bowden, Pierre A. Coulombe, Lutz Langbein, E. Birgitte Lane, Thomas M. Magin, Lois Maltais, et al. "New Consensus Nomenclature for Mammalian Keratins." *The Journal of Cell Biology* 174, no. 2 (July 17, 2006): 169–74. <https://doi.org/10.1083/jcb.200603161>.
 - Scott, K. W., and R. H. Grace. "Detection of Lymph Node Metastases in Colorectal Carcinoma before and after Fat Clearance." *The British Journal of Surgery* 76, no. 11 (November 1989): 1165–67. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800761118>.
 - Secco, G. B., R. Fardelli, E. Campora, G. Lapertosa, R. Gentile, S. Zoli, and C. Prior. "Primary Mucinous Adenocarcinomas and Signet-Ring Cell Carcinomas of Colon and Rectum." *Oncology* 51, no. 1 (February 1994): 30–34. <https://doi.org/10.1159/000227306>.
 - Segovia SM, Enz N, Alsina ÁI, and Valdovinos BM. "Uso y Aplicaciones de La Inmunohistoquímica Con El Anticuerpo Anti-Ghrelin Para El Estudio de La Pulpa Dentaria." 36 3 (2016): 81–86.
 - Seitz, U., S. Bohnacker, S. Seewald, F. Thonke, B. Brand, T. Bräutigam, and N. Soehendra. "Is Endoscopic Polypectomy an Adequate Therapy for Malignant Colorectal Adenomas? Presentation of 114 Patients and Review of the Literature." *Diseases of the Colon and Rectum* 47, no. 11 (November 2004): 1789–96; discussion 1796–1797. <https://doi.org/10.1007/s10350-004-0680-2>.
 - Sergio Ferrer. "El Verdadero Sentido de La Vida." *The Journal of FeelSynapss. Issuu*, 2011.
 - Shah, Manish A., Lindsay A. Renfro, Carmen J. Allegra, Thierry André, Aimery de Gramont, Hans-Joachim Schmoll, Daniel G. Haller, Steven R. Alberts, Greg Yothers, and Daniel J. Sargent. "Impact of Patient Factors on Recurrence Risk and Time Dependency of Oxaliplatin Benefit in Patients With Colon Cancer: Analysis From Modern-Era Adjuvant Studies in the Adjuvant Colon Cancer End Points (ACCENT) Database." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 34, no. 8 (March 10, 2016): 843–53. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.0558>.
 - Shepherd, N. A., K. J. Baxter, and S. B. Love. "The Prognostic Importance of Peritoneal Involvement in Colonic Cancer: A Prospective Evaluation." *Gastroenterology* 112, no. 4 (April 1997): 1096–1102. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(97\)70119-7](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(97)70119-7).

- Shepherd, N. A., E. P. Saraga, S. B. Love, and J. R. Jass. "Prognostic Factors in Colonic Cancer." *Histopathology* 14, no. 6 (June 1989): 613–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1989.tb02202.x>.
- Shibata, D., M. A. Peinado, Y. Ionov, S. Malkhosyan, and M. Perucho. "Genomic Instability in Repeated Sequences Is an Early Somatic Event in Colorectal Tumorigenesis That Persists after Transformation." *Nature Genetics* 6, no. 3 (March 1994): 273–81. <https://doi.org/10.1038/ng0394-273>.
- Shibata, David, Michael A. Reale, Philip Lavin, Mark Silverman, Eric R. Fearon, Glenn Steele, John M. Jessup, Massimo Loda, and Ian C. Summerhayes. "The DCC Protein and Prognosis in Colorectal Cancer." *New England Journal of Medicine* 335, no. 23 (December 5, 1996): 1727–32. <https://doi.org/10.1056/NEJM199612053352303>.
- Sieber, Oliver M., Lara Lipton, Michael Crabtree, Karl Heinimann, Paulo Fidalgo, Robin K. S. Phillips, Marie-Luise Bisgaard, et al. "Multiple Colorectal Adenomas, Classic Adenomatous Polyposis, and Germ-Line Mutations in MYH." *The New England Journal of Medicine* 348, no. 9 (February 27, 2003): 791–99. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa025283>.
- Sirop, Saad, Mohammed Kanaan, Alpesh Korant, David Wiese, David Eilender, Sunil Nagpal, Madan Arora, Trevor Singh, and Sukamal Saha. "Detection and Prognostic Impact of Micrometastasis in Colorectal Cancer." *Journal of Surgical Oncology* 103, no. 6 (May 1, 2011): 534–37. <https://doi.org/10.1002/jso.21793>.
- Sloothaak, D. a. M., S. Sahami, H. J. van der Zaag-Loonen, E. S. van der Zaag, P. J. Tanis, W. A. Bemelman, and C. J. Buskens. "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." *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 40, no. 3 (March 2014): 263–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2013.12.002>.
- Smith, Jenni, Hamish Hwang, Kevin W. Wiseman, Douglas Filipenko, and P. Terry Phang. "Ex Vivo Sentinel Lymph Node Mapping in Colon Cancer: Improving the Accuracy of Pathologic Staging?" *American Journal of Surgery* 191, no. 5 (May 2006): 665–68. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2006.01.045>.
- Smith, K. J., K. A. Johnson, T. M. Bryan, D. E. Hill, S. Markowitz, J. K. Willson, C. Paraskeva, G. M. Petersen, S. R. Hamilton, and B. Vogelstein. "The APC Gene Product in Normal and Tumor Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, no. 7 (April 1, 1993): 2846–50. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.7.2846>.
- Snook, K. L., G. T. Layer, P. A. Jackson, C. S. de Vries, S. Shousha, H. D. Sinnett, E. Nigar, et al. "Multicentre Evaluation of Intraoperative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Nodes in Breast Carcinoma." *The British Journal of Surgery* 98, no. 4 (April 2011): 527–35. <https://doi.org/10.1002/bjs.7347>.
- Sobin, L. H., Ch Wittekind, and International Union against Cancer, eds. *TNM: Classification of Malignant Tumours*. 6th ed. New York: Wiley-Liss, 2002.
- Souza, R. F., S. Wang, M. Thakar, K. N. Smolinski, J. Yin, T. T. Zou, D. Kong, J. M. Abraham, J. A. Toretsky, and S. J. Meltzer. "Expression of the Wild-Type Insulin-like Growth Factor II Receptor Gene Suppresses Growth and Causes Death in Colorectal Carcinoma Cells." *Oncogene* 18, no. 28 (July 15, 1999): 4063–68. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202768>.
- Sprung, Juraj, Michael J. Tully, and Avishai Ziser. "Anaphylactic Reactions to Isosulfan Blue Dye during Sentinel Node Lymphadenectomy for Breast Cancer." *Anesthesia and Analgesia* 96, no. 4

(April 2003): 1051–53, table of contents.
<https://doi.org/10.1213/01.ane.0000048709.61118.52>.

- Stojadinovic, Alexander, Aviram Nissan, Mladjan Protic, Carol F. Adair, Diana Prus, Slavica Usaj, Robin S. Howard, et al. "Prospective Randomized Study Comparing Sentinel Lymph Node Evaluation with Standard Pathologic Evaluation for the Staging of Colon Carcinoma: Results from the United States Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study GI-01." *Annals of Surgery* 245, no. 6 (June 2007): 846–57. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000256390.13550.26>.
- Stojanoski, Sinisa, Nevena Manevska, Svetozar Antovic, Daniela Pop-Gjorcheva, Olivija Vaskova, Daniela Miladinova, and Magdalena Mileva. "Sentinel Lymph Node Detection in Colorectal Cancer – First Experience." *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 5, no. 6 (September 15, 2017): 744–50. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.166>.
- Swanson, Richard S., Carolyn C. Compton, Andrew K. Stewart, and Kirby I. Bland. "The Prognosis of T3N0 Colon Cancer Is Dependent on the Number of Lymph Nodes Examined." *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 1 (February 2003): 65–71. <https://doi.org/10.1245/aso.2003.03.058>.
- Syxmex. "Sysmex Spain,," n.d. <https://www.sysmex.es/>. Accessed 3.
- Takano, Satoshi, Jun Kato, Hiroshi Yamamoto, Junji Shiode, Junichirou Nasu, Hirofumi Kawamoto, Hiroyuki Okada, and Yasushi Shiratori. "Identification of Risk Factors for Lymph Node Metastasis of Colorectal Cancer." *Hepato-Gastroenterology* 54, no. 75 (May 2007): 746–50.
- Tamaki, Yasuhiro. "One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA): Where Do We Go with It?" *International Journal of Clinical Oncology* 22, no. 1 (February 2017): 3–10. <https://doi.org/10.1007/s10147-016-1030-9>.
- Tamaki, Yasuhiro, Futoshi Akiyama, Takuji Iwase, Tomoyo Kaneko, Hitoshi Tsuda, Kazuhiko Sato, Shigeto Ueda, et al. "Molecular Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients: Results of a Multicenter Trial Using the One-Step Nucleic Acid Amplification Assay." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 15, no. 8 (April 15, 2009): 2879–84. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1881>.
- Tavira, Rubén Hernando. "Utilidad del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo." [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text](http://purl.org/dc/dcmitype/Text), Universitat Autònoma de Barcelona, 2007. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=5957>.
- Terrenato, Irene, Valerio D'Alicandro, Beatrice Casini, Letizia Perracchio, Francesca Rollo, Laura De Salvo, Simona Di Filippo, et al. "A Cut-off of 2150 Cytokeratin 19 MRNA Copy Number in Sentinel Lymph Node May Be a Powerful Predictor of Non-Sentinel Lymph Node Status in Breast Cancer Patients." *PloS One* 12, no. 2 (2017): e0171517. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171517>.
- Terwisscha Van Scheltinga, S. E. J., F. C. Den Boer, R. Pijpers, G. A. Meyer, A. F. Engel, R. Silvis, S. Meijer, and J. R. M. van der Sijp. "Sentinel Node Staging in Colon Carcinoma: Value of Sentinel Lymph Node Biopsy with Radiocolloid and Blue Staining." *Scandinavian Journal of Gastroenterology. Supplement*, no. 243 (2006): 153–57. <https://doi.org/10.1080/00365520600664524>.
- Tiernan, J. P., E. T. Verghese, A. Nair, S. Pathak, B. Kim, J. White, H. Thygesen, K. Horgan, and A. M. Hanby. "Systematic Review and Meta-Analysis of Cytokeratin 19-Based One-Step Nucleic Acid Amplification versus Histopathology for Sentinel Lymph Node Assessment in Breast Cancer." *The British Journal of Surgery* 101, no. 4 (March 2014): 298–306. <https://doi.org/10.1002/bjs.9386>.

- Tsioulas, George, Thomas Wood, Mitchell Spirt, Donald Morton, and Anton Bilchik. "A Novel Lymphatic Mapping Technique to Improve Localization and Staging of Early Colon Cancer during Laparoscopic Colectomy." *The American Surgeon* 68 (July 1, 2002): 561–65.
- Tsujimoto, Masahiko, Kazuki Nakabayashi, Katsuhide Yoshidome, Tomoyo Kaneko, Takuji Iwase, Futoshi Akiyama, Yo Kato, et al. "One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 13, no. 16 (August 15, 2007): 4807–16. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2512>.
- Tuech, J. J., P. Pessaux, F. Di Fiore, V. Nitu, B. Lefebure, A. Colson, and F. Michot. "Sentinel Node Mapping in Colon Carcinoma: In-Vivo versus Ex-Vivo Approach." *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 32, no. 2 (March 2006): 158–61. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2005.11.004>.
- Tuohy, Thérèse M. F., Kerry G. Rowe, Geraldine P. Mineau, Richard Pimentel, Randall W. Burt, and N. Jewel Samadder. "Risk of Colorectal Cancer and Adenomas in the Families of Patients with Adenomas: A Population-Based Study in Utah." *Cancer* 120, no. 1 (January 1, 2014): 35–42. <https://doi.org/10.1002/cncr.28227>.
- Turner, Roderick R., Dean T. Nora, Steven D. Trocha, and Anton J. Bilchik. "Colorectal Carcinoma Nodal Staging. Frequency and Nature of Cytokeratin-Positive Cells in Sentinel and Nonsentinel Lymph Nodes." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 127, no. 6 (June 2003): 673–79. [https://doi.org/10.1043/1543-2165\(2003\)127<673:CCNS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/1543-2165(2003)127<673:CCNS>2.0.CO;2).
- Ueno, Hideki, Hidetaka Mochizuki, Yojiro Hashiguchi, Hideyuki Shimazaki, Shinsuke Aida, Kazuo Hase, Susumu Matsukuma, et al. "Risk Factors for an Adverse Outcome in Early Invasive Colorectal Carcinoma." *Gastroenterology* 127, no. 2 (August 2004): 385–94. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.04.022>.
- Vather, Ryash, Tarik Sammour, Arman Kahokehr, Andrew B. Connolly, and Andrew G. Hill. "Lymph Node Evaluation and Long-Term Survival in Stage II and Stage III Colon Cancer: A National Study." *Annals of Surgical Oncology* 16, no. 3 (March 2009): 585–93. <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0265-8>.
- Viehl, Carsten T., Ulrich Guller, Ramona Cecini, Igor Langer, Alex Ochsner, Luigi Terracciano, Hans-Martin Riehle, Urban Laffer, Daniel Oertli, and Markus Zuber. "Sentinel Lymph Node Procedure Leads to Upstaging of Patients with Resectable Colon Cancer: Results of the Swiss Prospective, Multicenter Study Sentinel Lymph Node Procedure in Colon Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 6 (June 2012): 1959–65. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2233-6>.
- Viehl, Carsten T., Christian T. Hamel, Walter R. Marti, Ulrich Guller, Lukas Eisner, Uz Stammberger, Luigi Terracciano, Hans P. Spichtin, Felix Harder, and Markus Zuber. "Identification of Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Depends on the Amount of Dye Injected Relative to Tumor Size." *World Journal of Surgery* 27, no. 12 (December 2003): 1285–90. <https://doi.org/10.1007/s00268-003-7086-5>.
- Visser, Mike, Mehdi Jiwa, Anja Horstman, Antoinette A. T. P. Brink, Rene P. Pol, Paul van Diest, Peter J. F. Snijders, and Chris J. L. M. Meijer. "Intra-Operative Rapid Diagnostic Method Based on CK19 mRNA Expression for the Detection of Lymph Node Metastases in Breast Cancer." *International Journal of Cancer* 122, no. 11 (June 1, 2008): 2562–67. <https://doi.org/10.1002/ijc.23451>.
- Vogelaar, F. J., M. S. Reimers, R. L. A. van der Linden, J. C. van der Linden, V. T. H. B. M. Smit, D. J. Lips, C. J. H. van de Velde, and K. Bosscha. "The Diagnostic Value of One-Step Nucleic Acid

Amplification (OSNA) for Sentinel Lymph Nodes in Colon Cancer Patients." *Annals of Surgical Oncology* 21, no. 12 (November 2014): 3924–30. <https://doi.org/10.1245/s10434-014-3820-5>.

- Vogelstein, B., E. R. Fearon, S. R. Hamilton, S. E. Kern, A. C. Preisinger, M. Leppert, Y. Nakamura, R. White, A. M. Smits, and J. L. Bos. "Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development." *The New England Journal of Medicine* 319, no. 9 (September 1, 1988): 525–32. <https://doi.org/10.1056/NEJM198809013190901>.
- Vukasin, P., A. E. Ortega, F. L. Greene, G. D. Steele, A. J. Simons, G. J. Anthone, L. A. Weston, and R. W. Beart. "Wound Recurrence Following Laparoscopic Colon Cancer Resection. Results of the American Society of Colon and Rectal Surgeons Laparoscopic Registry." *Diseases of the Colon and Rectum* 39, no. 10 Suppl (October 1996): S20-23. <https://doi.org/10.1007/bf02053801>.
- W. Sadler. *Langman. Embriología Médica Con Orientación Clínica*. 9^o edición. Madrid: MedicaPanamericana, 2004.
- Walker, G. T., M. S. Fraiser, J. L. Schram, M. C. Little, J. G. Nadeau, and D. P. Malinowski. "Strand Displacement Amplification--an Isothermal, in Vitro DNA Amplification Technique." *Nucleic Acids Research* 20, no. 7 (April 11, 1992): 1691–96. <https://doi.org/10.1093/nar/20.7.1691>.
- Walker, G T, M C Little, J G Nadeau, and D D Shank. "Isothermal in Vitro Amplification of DNA by a Restriction Enzyme/DNA Polymerase System." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89, no. 1 (January 1, 1992): 392–96.
- Washington, Mary Kay, Jordan Berlin, Philip Branton, Lawrence J. Burgart, David K. Carter, Patrick L. Fitzgibbons, Kevin Halling, et al. "Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 133, no. 10 (October 2009): 1539–51.
- Watson, J. D., and F. H. C. Crick. "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid." *Nature* 171, no. 4356 (April 1953): 737–38. <https://doi.org/10.1038/171737a0>.
- Weigelt, B., P. Verduijn, A. J. Bosma, E. J. Rutgers, H. L. Peterse, and L. J. van't Veer. "Detection of Metastases in Sentinel Lymph Nodes of Breast Cancer Patients by Multiple mRNA Markers." *British Journal of Cancer* 90, no. 8 (April 2004): 1531–37. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601659>.
- Weitz, J., P. Kienle, A. Magener, M. Koch, A. Schrödel, F. Willeke, F. Autschbach, et al. "Detection of Disseminated Colorectal Cancer Cells in Lymph Nodes, Blood and Bone Marrow." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 5, no. 7 (July 1999): 1830–36.
- Weixler, B., R. Warschkow, U. Güller, A. Zettl, U. von Holzen, B. M. Schmied, and M. Zuber. "Isolated Tumor Cells in Stage I & II Colon Cancer Patients Are Associated with Significantly Worse Disease-Free and Overall Survival." *BMC Cancer* 16 (February 16, 2016): 106. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2130-7>.
- Wennstrom, J., E. R. Pierce, and V. A. McKusick. "Hereditary Benign and Malignant Lesions of the Large Bowel." *Cancer* 34, no. 3 (September 1974): suppl:850-857. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197409\)34:3+<850::aid-cnrcr2820340711>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197409)34:3+<850::aid-cnrcr2820340711>3.0.co;2-s).
- Wetering, Marc van de, Elena Sancho, Cornelis Verweij, Wim de Lau, Irma Oving, Adam Hurlstone, Karin van der Horn, et al. "The Beta-Catenin/TCF-4 Complex Imposes a Crypt Progenitor Phenotype on Colorectal Cancer Cells." *Cell* 111, no. 2 (October 18, 2002): 241–50. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01014-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01014-0).

- Wiese, David A., Sukamal Saha, Julio Badin, Peter S-T. Ng, Jerry Gauthier, Aamir Ahsan, and Lelia Yu. "Pathologic Evaluation of Sentinel Lymph Nodes in Colorectal Carcinoma." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, no. 12 (December 1, 2000): 1759–63. [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2000\)124<1759:PEOSLN>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124<1759:PEOSLN>2.0.CO;2).
- Wiggers, T., J. W. Arends, and A. Volovics. "Regression Analysis of Prognostic Factors in Colorectal Cancer after Curative Resections." *Diseases of the Colon and Rectum* 31, no. 1 (January 1988): 33–41. <https://doi.org/10.1007/bf02552567>.
- Wild, J. B., N. Iqbal, J. Francombe, T. Papettas, D. S. Sanders, and S. Ramcharan. "Is It Time for One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) in Colorectal Cancer? A Systematic Review and Meta-Analysis." *Techniques in Coloproctology* 21, no. 9 (September 2017): 693–99. <https://doi.org/10.1007/s10151-017-1690-0>.
- Winawer, S. J., R. H. Fletcher, L. Miller, F. Godlee, M. H. Stolar, C. D. Mulrow, S. H. Woolf, et al. "Colorectal Cancer Screening: Clinical Guidelines and Rationale." *Gastroenterology* 112, no. 2 (February 1997): 594–642. <https://doi.org/10.1053/gast.1997.v112.agast970594>.
- Wittekind, Christian, Carolyn Compton, Phil Quirke, Iris Nagtegaal, Susanne Merkel, Paul Hermanek, and Leslie H. Sobin. "A Uniform Residual Tumor (R) Classification: Integration of the R Classification and the Circumferential Margin Status." *Cancer* 115, no. 15 (August 1, 2009): 3483–88. <https://doi.org/10.1002/cncr.24320>.
- Wolmark, N., B. Fisher, H. S. Wieand, R. S. Henry, H. Lerner, S. Legault-Poisson, P. J. Deckers, N. Dimitrov, P. H. Gordon, and P. Jochimsen. "The Prognostic Significance of Preoperative Carcinoembryonic Antigen Levels in Colorectal Cancer. Results from NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) Clinical Trials." *Annals of Surgery* 199, no. 4 (April 1984): 375–82. <https://doi.org/10.1097/0000658-198404000-00001>.
- Wong, J H, L A Cagle, and D L Morton. "Lymphatic Drainage of Skin to a Sentinel Lymph Node in a Feline Model." *Annals of Surgery* 214, no. 5 (November 1991): 637–41.
- Wong, Jan H., Susan Steineman, Christiano Calderia, Jason Bowles, and Thomas Namiki. "Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum." *Annals of Surgery* 233, no. 4 (April 2001): 515–21.
- Wong, Sandra L., Hong Ji, Brent K. Hollenbeck, Arden M. Morris, Onur Baser, and John D. Birkmeyer. "Hospital Lymph Node Examination Rates and Survival after Resection for Colon Cancer." *JAMA* 298, no. 18 (November 14, 2007): 2149–54. <https://doi.org/10.1001/jama.298.18.2149>.
- Wood, T. F., S. Saha, D. L. Morton, G. J. Tsioulis, D. Rangel, W. Hutchinson, L. J. Foshag, and A. J. Bilchik. "Validation of Lymphatic Mapping in Colorectal Cancer: In Vivo, Ex Vivo, and Laparoscopic Techniques." *Annals of Surgical Oncology* 8, no. 2 (March 2001): 150–57. <https://doi.org/10.1007/s10434-001-0150-1>.
- Wood, T. F., M. Spirt, D. Rangel, P. Shen, G. J. Tsioulis, D. L. Morton, and A. J. Bilchik. "Lymphatic Mapping Improves Staging during Laparoscopic Colectomy for Cancer." *Surgical Endoscopy* 15, no. 7 (July 2001): 715–19. <https://doi.org/10.1007/s004640080026>.
- Wood, T. F., G. J. Tsioulis, D. L. Morton, D. Rangel, W. Hutchinson, L. J. Foshag, R. R. Turner, and A. J. Bilchik. "Focused Examination of Sentinel Lymph Nodes Upstages Early Colorectal Carcinoma." *The American Surgeon* 66, no. 11 (November 2000): 998–1003.
- Wood, Thomas F., Dean T. Nora, Donald L. Morton, Roderick R. Turner, Decio Rangel, William Hutchinson, and Anton J. Bilchik. "One Hundred Consecutive Cases of Sentinel Lymph Node

Mapping in Early Colorectal Carcinoma: Detection of Missed Micrometastases." *Journal of Gastrointestinal Surgery: Official Journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 6, no. 3 (June 2002): 322–29; discussion 229–230. [https://doi.org/10.1016/s1091-255x\(02\)00013-6](https://doi.org/10.1016/s1091-255x(02)00013-6).

- Wright, F. C., C. H. L. Law, L. Last, M. Khalifa, A. Arnaout, Z. Naseer, N. Klar, S. Gallinger, and A. J. Smith. "Lymph Node Retrieval and Assessment in Stage II Colorectal Cancer: A Population-Based Study." *Annals of Surgical Oncology* 10, no. 8 (October 2003): 903–9. <https://doi.org/10.1245/aso.2003.01.012>.
- Yagci, Gokhan, Aytekin Unlu, Bulent Kurt, Mehmet Fatih Can, Nihat Kaymakcioglu, Sadettin Cetiner, Turgut Tufan, and Dervis Sen. "Detection of Micrometastases and Skip Metastases with Ex Vivo Sentinel Node Mapping in Carcinoma of the Colon and Rectum." *International Journal of Colorectal Disease* 22, no. 2 (December 6, 2006): 167–73. <https://doi.org/10.1007/s00384-006-0132-7>.
- Yaguchi, Yoshihisa, Hidekazu Sugawara, Hironori Tsujimoto, Hideki Takata, Kazuki Nakabayashi, Takashi Ichikura, Satoshi Ono, et al. "One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) for the Application of Sentinel Node Concept in Gastric Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 18, no. 8 (August 1, 2011): 2289–96. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-1591-9>.
- Yamamoto, Hirofumi, Mitsugu Sekimoto, Masatoshi Oya, Noriko Yamamoto, Fumio Konishi, Junichi Sasaki, Shigeki Yamada, et al. "OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients: Results from a Multicenter Clinical Performance Study in Japan." *Annals of Surgical Oncology* 18, no. 7 (July 2011): 1891–98. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1539-5>.
- Yamamoto, Noriko, Motonari Daito, Kayo Hiyama, Junyi Ding, Kazuki Nakabayashi, Yasuhiro Otomo, Masahiko Tsujimoto, Nariaki Matsuura, and Yo Kato. "An Optimal mRNA Marker for OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification) Based Lymph Node Metastasis Detection in Colorectal Cancer Patients." *Japanese Journal of Clinical Oncology* 43, no. 3 (March 2013): 264–70. <https://doi.org/10.1093/jjco/hys227>.
- Yamaoka, Yusuke, Yusuke Kinugasa, Akio Shiomi, Tomohiro Yamaguchi, Hiroyasu Kagawa, Yushi Yamakawa, Akinobu Furutani, and Shoichi Manabe. "The Distribution of Lymph Node Metastases and Their Size in Colon Cancer." *Langenbeck's Archives of Surgery* 402, no. 8 (December 2017): 1213–21. <https://doi.org/10.1007/s00423-017-1628-z>.
- Yashiro, Masakazu, Kosei Hirakawa, and C. Richard Boland. "Mutations in TGFβ₂-RII and BAXmediate Tumor Progression in the Later Stages of Colorectal Cancer with Microsatellite Instability." *BMC Cancer* 10, no. 1 (June 18, 2010): 303. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-303>.
- Yuan, P., M. H. Sun, J. S. Zhang, X. Z. Zhu, and D. R. Shi. "APC and K-Ras Gene Mutation in Aberrant Crypt Foci of Human Colon." *World Journal of Gastroenterology* 7, no. 3 (June 2001): 352–56. <https://doi.org/10.3748/wjg.v7.i3.352>.
- Yuhara, Hiroki, Craig Steinmaus, Stephanie E. Cohen, Douglas A. Corley, Yoshihiro Tei, and Patricia A. Buffler. "Is Diabetes Mellitus an Independent Risk Factor for Colon Cancer and Rectal Cancer?" *The American Journal of Gastroenterology* 106, no. 11 (November 2011): 1911–21; quiz 1922. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.301>.
- Zaag, Edwin S. van der, Wim H. Bouma, Pieter J. Tanis, Dirk T. Ubbink, Willem A. Bemelman, and Christianne J. Buskens. "Systematic Review of Sentinel Lymph Node Mapping Procedure in Colorectal Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 19, no. 11 (October 1, 2012): 3449–59. <https://doi.org/10.1245/s10434-012-2417-0>.

