

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



TESIS DOCTORAL

**Aportación del estudio exhaustivo del ganglio centinela a la
estadificación ganglionar en el cáncer de colon**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Estíbalitz Pérez Viejo

DIRECTORES

**Fernando Pereira Pérez
Gil Rodríguez Aravaca**

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID**

TESIS DOCTORAL

**APORTACIÓN DEL ESTUDIO EXHAUSTIVO DEL GANGLIO CENTINELA A LA
ESTADIFICACIÓN GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLÓN**

ESTÍBALITZ PÉREZ VIEJO

MADRID, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

TESIS DOCTORAL

TITULO

**APORTACIÓN DEL ESTUDIO EXHAUSTIVO DEL GANGLIO CENTINELA A LA
ESTADIFICACIÓN GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON**

AUTOR

ESTÍBALITZ PÉREZ VIEJO

DIRECTOR

FERNANDO PEREIRA PÉREZ

CODIRECTOR

GIL RODRIGUEZ CARAVACA

MADRID, 2015



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	ESTÍBALITZ PÉREZ VIEJO
Título de la Tesis	APORTACIÓN DEL ESTUDIO EXHAUSTIVO DEL GANGLIO CENTINELA A LA ESTADIFICACIÓN GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON
Facultad o Centro	MEDICINA

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	FERNANDO PEREIRA PÉREZ
Centro al que pertenece y dirección	UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS C/ Tulipán s/n 28933 MÓSTOLES MADRID
D.N.I./Pasaporte	50295046A
e-mail	fernando.pereira@salud.madrid.org

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

El trabajo planteado es original y la intervención utilizada al alcance de pocos grupos de investigación. Hace una aportación indudable, sugiriendo que los resultados comunicados hasta la fecha sobre la aportación del ganglio centinela en cáncer de colon están sobrevalorados, aunque no obstante hacen posible la sobreestadificación de un pequeño grupo de pacientes, para los que dicho hallazgo tiene relevancia clínica y terapéutica.

Sin duda dará lugar a publicación en revista de alto impacto

Los diferentes apartados de la tesis están muy trabajados, huyendo de la tendencia clásica a inflar con datos inútiles las introducciones y discusiones de las tesis para inflar de forma contraproducente su extensión

Los objetivos se describen con claridad, brevedad y de forma concreta para responder adecuadamente a la pregunta de investigación planteada en la hipótesis del estudio.

La metodología usada se describe con rigor y el estudio es muy robusto al haberse diseñado un estudio quasi experimental que está entre los estudio epidemiológicos de mayor calidad en cuanto a evidencia científica.

Los resultados están descritos con claridad y de forma muy didáctica. Los datos descritos en el texto se complementan con tablas y figuras, aumentando así la claridad y comprensión de los mismos. Se hace un análisis estadístico riguroso, adecuado a la pregunta de investigación y a los objetivos.

Los resultados obtenidos se valoran en relación al conocimiento actual comparándolos con otros estudios tras una revisión bibliográfica profunda. Las conclusiones son adecuadas y pertinentes y sintetizan muy bien el conjunto global del trabajo realizado.

Por todo lo referido más arriba, considero que esta tesis doctoral es merecedora de mi informe favorable para su defensa en sesión pública y refleja la preparación científica de su autor.

Madrid, a 02 de Noviembre de 2015

Fdo.:



Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	ESTÍBALITZ PÉREZ VIEJO
Título de la Tesis	APORTACIÓN DEL ESTUDIO EXHAUSTIVO DEL GANGLIO CENTINELA A LA ESTADIFICACIÓN GANGLIONAR EN EL CÁNCER DE COLON
Facultad o Centro	MEDICINA

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	GIL RODRÍGUEZ CARAVACA
Centro al que pertenece y dirección	FUNDACIÓN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE ALCORCÓN
D.N.I./Pasaporte	18941991L
e-mail	grodriguez@fhacorcon.es

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	X			
Definición Objetivos	X			
Metodología	X			
Relevancia Resultados	X			
Discusión / Conclusiones	X			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

1. Relevancia del tema de la Tesis y claridad de sus objetivos:

El tema que trata esta tesis es relevante. Estudia la detección del ganglio centinela con un superestudio anatomopatológico e histoquímico y lo compara con la detección del ganglio centinela por los medios habituales.

2. Adecuación de la metodología al tema y objetivos de la tesis:

El protocolo de investigación diseñado y aplicado creo que es el más adecuado para responder la pregunta que se plantea. La metodología aplicada se describe con el rigor suficiente como para que otro investigador pueda reproducir el estudio y para que se pueda reproducir por la aplicabilidad práctica en pacientes de nuestro entorno hospitalario.

3. Validez de las fuentes y bibliografía utilizadas:

Las fuentes bibliográficas son adecuadas y se ha hecho una búsqueda amplia y exhaustiva. Se han revisado los principales artículos y documentos relacionados con el tema.

4. Interés y originalidad de los resultados obtenidos:

El apartado de resultados está descrito con exhaustividad y de forma clara. El análisis estadístico se corresponde con el diseñado en el apartado de Material y Métodos en tanto que estudio de tipo cuasiexperimental y le da un gran valor añadido desde el punto de vista metodológico

5. Características formales de la memoria:

La memoria está presentada de forma adecuada desde el punto de vista formal. Es didáctica, se lee con claridad y de forma amena y hay una buena síntesis entre lo escrito en el texto y en los gráficos y tablas, sin repetir en el texto lo presentado de forma gráfica.

Todos los apartados están bien organizados y se describe con claridad la introducción, la justificación, los objetivos, la hipótesis, el material y métodos, los resultados, la discusión y las conclusiones.

La bibliografía se ajusta a las normas bibliográficas de forma adecuada.

6. Otras observaciones:

Es importante destacar que se explican las limitaciones del estudio y los resultados obtenidos se valoran en relación al conocimiento actual comparándolos con otros estudios tras una revisión bibliográfica profunda. Las conclusiones sintetizan de forma adecuada el trabajo realizado, apoyándose en los resultados del mismo.

7. Valoración total en la que se indique explícitamente sobre la procedencia o no de su lectura:

La tesis tiene una alta calidad técnica y científica y es apta para proceder a su lectura y defenderla ante el tribunal designado al efecto.



Madrid, a 02 de Noviembre de 2015

Fdo.: Dr Gil Rodríguez Caravaca

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.

A Ángel, Julia y Álvaro.

A mis padres y hermana.

AGRADECIMIENTOS

A los directores:

- Dr. Fernando Pereira Pérez, Jefe de Servicio del Hospital Universitario de Fuenlabrada, por su ayuda en todo el proceso y su apoyo. Parte imprescindible de esto.

- Dr. Gil Rodríguez Caravaca, Jefe de Unidad de Medicina Preventiva del Hospital Universitario Fundación Alcorcón, por su empeño, su ayuda y ánimo.

Al Dr. Ángel Serrano del Moral, impulsor del proyecto, ayuda básica e incondicional en el trabajo y en el día a día. Claridad en todos los aspectos y mi apoyo en todo lo que hago. El mejor compañero de viaje. Gracias.

Al Dr. Ángel Castaño Pascual, Director de Calidad, Investigación y Docencia del Hospital Universitario de Fuenlabrada y Médico Adjunto del Servicio de Anatomía Patológica durante el proyect. Gracias por su intensa colaboración y ayuda, por el gran trabajo en cantidad y calidad.

Al Dr. Victor Castellano Mejías, Médico Adjunto del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Fuenlabrada, por su ayuda y trabajo extra.

A la Dra. Esther Llorente Herrero, Coordinadora de Medicina Nuclear del Hospital Universitario de Fuenlabrada, por su colaboración sin la que esto no habría sido posible.

A los pacientes implicados y a los que no lo están. Todo esto es para intentar ayudarlos a que el camino sea mejor.

Al Dr Laureano Llorente por su apoyo y su perspectiva diferente.

A los Dres. Alfredo Rivera, Lucía Carrión, Pedro López y Miguel Hernández por haber colaborado para que esto fuese real.

Al Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario de Fuenlabrada. En especial a los miembros de la Sección de Coloproctología.

A las Secretarías del Servicio (Consuelo y Raquel) por su ayuda y su apoyo, siempre con una sonrisa pase lo que pase.

Al Servicio de Anatomía Patológica, a sus técnicos. Gracias por vuestro trabajo desinteresado.

A las Radiólogas dedicadas a patología digestiva del Hospital Universitario de Fuenlabrada, Dras. Teresa Martín, Dolores García y Carolina Aulló por su empeño en el manejo impecable de estos pacientes.

Al Comité de Tumores del Hospital Universitario de Fuenlabrada por sus ganas de superarse cada semana con mejoras constantes.

A las enfermeras de nuestros quirófanos por vuestra profesionalidad, colaboración y por hacerlo todo más agradable.

A ASESVI Quirúrgicos Jr. Gracias por estar. Es el camino...

A Fernando Pereira Pérez por su confianza desde el principio, hace años. Por su estímulo, su dedicación, su ejemplo, su enseñanza, su estar para todo.

A Julia y Álvaro porque siempre conseguís sacarme una sonrisa; con vosotros todo lo de alrededor es mejor.

A mi madre, por ser un referente en todo. Por enseñarme que siempre hay un lado bueno. Por enseñarme cómo se vive la enfermedad desde el otro lado de la barrera.

A mi padre, por estar siempre, por enseñarme la importancia de la constancia, la dedicación y de las cosas bien hechas. Esto puedes tomártelo como un mérito propio.

A mi hermana, por todo lo que hemos vivido juntas, por estar siempre para todo.

A mi familia.

A mis amigos.

ABREVIATURAS

AJCC: American Joint Committee on Cancer.

BSGC: Biopsia selectiva del ganglio centinela.

CC: Cáncer de colon

CCR: Cáncer colorrectal.

CTA: Celulas tumorales aisladas.

COT: Celulas ocultas tumorales.

EC: Estudio convencional histopatológico.

GC: Ganglio centinela.

GnoC: Ganglio no centinela (subgrupo).

H-E: Hematoxilina-Eosina.

H-E ser: Hematoxilina-Eosina en cortes seriados.

IHQ: Inmunohistoquímica.

MM: Micrometástasis.

OSNA: One Step Acid Nucleic Amplification.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

RM: resonancia magnética.

RT-PCR: Transcripción reversa y PCR

SE: Superestudio histopatológico.

SOH: Sangre oculta en heces.

SG 5a: Supervivencia global a 5 años.

TC: Tomografía computarizada.

TNM: Tumor Node Metastases.

UICC: Union Internationale Contre le Cancer.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MATERIAL Y MÉTODO	4
3. RESULTADOS	4
4. DISCUSIÓN	5
SUMMARY	7
1. PURPOSE	7
2. METHODS.....	7
3. RESULTS	8
4. DISCUSSION.....	9
II. INTRODUCCIÓN.....	11
1. INTRODUCCIÓN	13
2. CÁNCER DE COLON	16
2.1. Epidemiología del Cáncer de Colon.....	16
2.1.1. EL CÁNCER DE COLON EN ESPAÑA.....	18
2.2. Etiología y patogénesis del Cáncer de Colon	19
2.2.1. ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS.....	19

2.2.2. DISEMINACIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL.....	20
2.3. Diagnóstico y estadificación clínica del Cáncer de Colon.....	22
2.3.1. ESTADIFICACIÓN CLÍNICA DEL CC (cTNM)	23
2.4. Tratamiento quirúrgico del CC	23
2.5. Estudio Anatomopatológico.....	25
2.5.1. TIPOS HISTOLÓGICOS	25
2.5.2. GRADO HISTOLÓGICO	26
2.5.3. ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA (pTNM)	27
2.5.4. OTROS FACTORES HISTOLÓGICOS PRONÓSTICOS	33
2.6. Tratamiento adyuvante.....	36
2.7. Tratamiento de la enfermedad metastásica	37
3. MICROMETÁSTASIS GANGLIONARES (MM)	38
3.1. Definición.....	38
3.2. Técnicas para la detección de MM.....	39
3.2.1. HEMATOXILINA-EOSINA (H-E).....	39
3.2.2. INMUNOHISTOQUIMIA (IHQ).....	40
3.2.3. TÉCNICAS BASADAS EN LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	43
3.2.3.a) One Step Acid Nucleic Amplification (OSNA)	44
3.3. Relevancia clínica y perspectivas.....	45
4. MAPEO LINFÁTICO Y GANGLIO CENTINELA	46
4.2. Definición de GC.....	46
4.3. Sustancias utilizadas en la identificación del ganglio centinela	48
4.3.1. COLORANTES	48
4.3.2. RADIOTRAZADORES.....	49
4.3.3. TÉCNICA COMBINADA	52
4.4. Técnicas de identificación del GC.....	52

4.4.1. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA “IN VIVO”	52
4.4.2. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA “EX VIVO”	53
4.4.3. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA MIXTA	53
III. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	55
1. JUSTIFICACIÓN.....	57
2. HIPÓTESIS.....	59
3. OBJETIVOS.....	59
3.1. Objetivo principal	59
3.2. Objetivos secundarios	60
IV. MATERIAL Y MÉTODO	61
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	63
2. ÁMBITO.....	64
2.1. Centro.....	64
2.2. Servicios implicados	64
3. POBLACIÓN	64
4. MUESTRA	65
5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	66
5.1. Criterios de inclusión.....	66
5.2. Criterios de exclusión	67
6. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO. MAPEO LINFÁTICO Y GANGLIO CENTINELA	67
6.1. Descripción de la técnica de la BSGC	68

6.2. Gammacámara portátil Sentinella 102	71
7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA QUIRÚRGICA	72
7.1. Estudio convencional.....	73
7.2. Superestudio	75
7.2.1. PROCESADO DE LA MUESTRA	76
7.2.2. TINCIÓN DE H-E SERIADA E INMUNOHISTOQUÍMICA.....	76
7.2.3. AMPLIFICACIÓN DE mRNA DE CK 19 CON EL MÉTODO ONE STEP ACID NUCLEIC AMPLIFICATION	77
7.3. Interpretación del SE	80
8. RECOGIDA DE INFORMACIÓN	81
8.1. Información clínica	82
8.1.1. FILIACIÓN.....	82
8.1.2. INFORMACIÓN CLÍNICA.....	82
8.1.3. DATOS DE LA CIRUGÍA	84
8.2. Datos anatomopatológicos	84
8.2.1. ESTUDIO CONVENCIONAL CON H-E	84
8.2.2. SUPERESTUDIO EN EL GRUPO ESTUDIO	86
9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	87
10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	88
10.1. Recogida de datos	88
10.2. Sesgo de verificación diagnóstica.....	89
10.3. Sesgo de sospecha diagnóstica	89
10.5. Sesgo por tamaño muestral	90
11. ASPECTOS ÉTICOS.....	90

V. RESULTADOS	93
1. POBLACIÓN	95
2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	97
2.1. Características clínicas de la población	97
2.2. Características del tumor	99
2.3. Detección del ganglio centinela en el grupo estudio	101
2.4. Estudio Ganglionar	102
2.4.1. HALLAZGOS DE MM Y MACROMETÁSTASIS CON EL SE	105
2.4.2. CÉLULAS TUMORALES AISLADAS	109
2.4.3. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS EN EL SE DEL GRUPO ESTUDIO	110
3. CARACTERÍSTICAS DE LA INTERVENCIÓN	115
3.1. Sensibilidad	115
3.2. Tasa de falsos negativos	116
3.3. Valor Global o Exactitud del test	117
3.4. Curva de aprendizaje	118
VI. DISCUSIÓN	121
1. CALIDAD DEL ESTUDIO	123
1.1. Serie del Hospital Universitario de Fuenlabrada	125
1.2. Técnica e identificación del GC	128
2. POBLACIÓN A ESTUDIO. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	129
2.1. Pacientes excluidos	129
2.2. Inclusión de pacientes excluidos en otras series	130

3. MAPEO LINFÁTICO	132
3.1. Detección del GC	133
3.1.1. CURVA DE APRENDIZAJE	133
3.1.2. BSGC CON RADIOISÓTOPOS	134
3.1.3. TÉCNICA MIXTA: IN VIVO Y EX VIVO	135
3.2. Evaluación de la calidad	137
5. CÉLULAS TUMORALES OCULTAS: MICROMETÁSTASIS Y CÉLULAS TUMORALES	
AISLADAS.....	140
5.1. Bases del SE: H-E seriada, IHQ y OSNA®	142
5.2. Localización espacial de MM.....	149
5.3. ¿Tiene el GC mayor probabilidad de metástasis?	149
5.4. Ganglio centinela como único positivo	151
5.5. Significado clínico de las CTO (MM y CTA)	152
6. RELEVANCIA DEL ESTUDIO.....	155
VII. CONCLUSIONES.....	161
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	165
IX. ANEXOS	205
ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO	207

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Grado histológico (G)	26
Tabla 2: Clasificación T	28
Tabla 3: Clasificación N	32
Tabla 4: Clasificación M.....	33
Tabla 5: Grado de regresión tumoral.....	34
Tabla 6: Clasificación según grado de regresión tumoral	35
Tabla 7: Tamaños de las partículas utilizadas en la identificación del ganglio centinela	51
Tabla 8: Características clínicas preoperatorias	98
Tabla 9: Características del tumor	99
Tabla 10: Distribución de pacientes por estadio	100
Tabla 11: Resumen del estudio ganglionar	103
Tabla 12: Comparación de la afectación ganglionar en ambos grupos	104
Tabla 13: Detalle de los ganglios estudiados	106
Tabla 14: Ganglios positivos en relación al total de ganglios del grupo estudio	107
Tabla 15: Hallazgo de MM y macrometástasis con el SE del grupo estudio.....	108
Tabla 16: Cambios de N y estadio tras SE del GC	110
Tabla 17: Supraestadificación con el SE en el grupo estudio	112
Tabla 18: Estudio del GC en el grupo estudio	113
Tabla 19: Hallazgos del SE en el grupo estudio distribuidos	113
Tabla 20: Relación GC/otros en el grupo con GC aislado y serie global en el grupo estudio.....	114
Tabla 21: Sensibilidad del EC de los pacientes con GC detectado = $14/31 = 45,16\%$	115

Tabla 22: Sensibilidad del SE del GC = $20/32 = 62,5\%$	116
Tabla 23: Resumen de la estadística descriptiva	118
Tabla 24: Comparación del estudio con otros publicados	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Incidencia estimada del cáncer en España según origen (Cortesía de GLOBOCAN 2002)	18
Figura 2: Evolución de la supervivencia en España del CCR (Cortesía de Eurocare 4)	19
Figura 3: Clasificación según tipo histológico y nomenclatura de la OMS del CCR.....	25
Figura 4: Dos imágenes de la Gammacámara con la imagen del ganglio centinela	69
Figura 5: Detección “ex vivo” del ganglio centinela sobre el espécimen quirúrgico	70
Figura 6: Cámara del equipo Sentinella 102	71
Figura 7: Diagrama de flujo del estudio en el grupo estudio.	96
Figura 8: Éxito en la detección del ganglio centinela	102
Figura 9: Esquema de los resultados del estudio de los ganglios del grupo estudio	107
Figura 10: Relevancia del hallazgo de CTA	109
Figura 11: Resultado del SE del GC	111
Figura 12: Detección del GC en el tiempo	118

I. RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

En el cáncer de colon sin metástasis, el estudio de los ganglios linfáticos supone el factor pronóstico más importante. Así, el que haya o no afectación ganglionar determina el pronóstico y la necesidad o no de tratamiento quimioterápico adyuvante.

Hay un porcentaje no despreciable de pacientes en estadios precoces (I y II) que sorprenden con recurrencias no esperadas de la enfermedad. Planteamos como hipótesis que esto se deba a que tenían afectación nodal que pasó desapercibida.

Por otro lado, en la 6ª Edición de TNM aparecen los conceptos de micrometástasis y células tumorales aisladas. Sólo las primeras tiene implicación pronóstico-terapéutica; las segundas no cambian el estado de afectación nodal ya que no se ha evidenciado que se asocien a un peor pronóstico o menor supervivencia. Ambas son muy difíciles de diagnosticar con el estudio histológico asumido como estándar.

El objetivo de este trabajo es estudiar la capacidad del mapeo linfático y la biopsia selectiva del ganglio centinela para mejorar el estudio histopatológico de las piezas de linfadenectomía del cáncer de colon, haciendo posible hacer un estudio más completo (con H-E ser, IHQ y estudio molecular mediante OSNA[®]) sobre el GC, supuestamente el más representativo del estado ganglionar de la pieza.

2. MATERIAL Y MÉTODO

Estudio experimental de tipo cuasiexperimental prospectivo de 71 pacientes operados de forma programada con intención curativa por cáncer de colon desde Octubre de 2010 hasta Marzo 2014 a los que se les realiza la técnica del ganglio centinela con radiotrazador (inyección in vivo e identificación ex vivo). Además del estudio histológico convencional, a estos pacientes se les realiza un SE del GC y de dos ganglios no centinela que comprende H-E en cortes seriados, estudio IHQ y OSNA[®]. Realizamos un estudio comparativo con el estudio histopatológico convencional (sección única y tinción H-E) de un grupo control compuesto por 72 pacientes operados por el mismo motivo en el mismo período de tiempo y en el mismo centro que cumplen los mismos criterios de inclusión.

3. RESULTADOS

La tasa de detección del GC del grupo a estudio es del 87,3%, lográndose una supraestadificación del 4,8% (tres de 62 pacientes) con respecto al estudio convencional.

La media de ganglios estudiados fue de 18,45 ganglios en el grupo a estudio y de 20,66 en el grupo control, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$).

La tasa de pacientes N positivos del 46,47% en el grupo a estudio y del 48,61 en el grupo control, sin significación estadística.

En el grupo control no se diagnostica, mediante el EC, ningún caso de MM ni CTA.

Los hallazgos que aporta el SE del grupo estudio son: en el GC, dos macrometástasis halladas en H-E ser, cinco CTA y tres MM en IHQ y una CTA, una MM y tres macrometástasis en OSNA[®]; en el GnoC, una macrometástasis en H-E ser, dos CTA y una MM en IHQ.

Teniendo en cuenta sólo las MM y macrometástasis, ya que las CTA no modifican el estado N, hay 11 ganglios con hallazgos en el SE de ocho pacientes.

Por lo tanto, con el SE hay ocho pacientes que modifican su número total de ganglios afectados de los cuales cinco (8,06%) cambian el subíndice N, y de éstos, tres (4,8%) cambian de estadio.

4. DISCUSIÓN

El estudio del GC permite un estudio más exhaustivo, siendo éste el único método que permite el diagnóstico adecuado de micrometástasis y de células tumorales aisladas. Mejora la estadificación de un porcentaje pequeño de pacientes, aportando información que en algunos casos tienen desconocida relevancia clínica.

Por otro lado, cuantos más ganglios tenga la linfadenectomía, más se ajustará el EC a la estadificación real y menos aporta el SE; el mayor número de ganglio estudiados se asocia

con mejor supervivencia. En nuestro caso, el número de ganglio aislados con el EC del grupo control es ampliamente mayor que el número de ganglios recomendados; Esto justifica que el SE en nuestro caso no aporte una gran tasa de supraestadificación.

SUMMARY

1. PURPOSE

In colon cancer without distant metastases, the study of lymph nodes is the most important of the prognostic factors. The presence of nodal involvement determines the prognosis and the need of adjuvant chemotherapy.

A percentage of early colon cancer patients (I and II stages) have unexpected relapse in the follow-up. We propose not diagnosed nodal involvement as a possible cause.

Besides, TNM 6th Ed. brings new prognostic factors: micrometastases and isolated tumour cells. Only the first ones have importance enough as to change the therapeutical decisions, while the second ones do not change the stage because they are not proven to worsen the overall survival or the relapse-time. Both are really hard to diagnose on the conventional study.

The purpose of this work is to evaluate the paper of the lymphatic mapping and selective biopsy of the sentinel node to improve the lymphatic study of colon cancer, turning to possible a deeper study that includes multilevel sectioning, immunohistochemistry and molecular study of the sentinel node, which is supposed to be the most representative of the lymphatic status.

2. METHODS

Experimental prospective study (quasiexperimental) including, in one group, 71 patients with colon cancer, not emergency, between October 2010 and March 2014 to whom we identify the

sentinel node guided with radiotracer (in vivo and ex vivo technique). Besides from the standard histopathologic study, they go through a deeper study of their sentinel nodes and two non sentinel nodes, including multilevel sectioning, immunochemistry and molecular detection of mRNA (OSNA[®]).

We go through a comparison with the standard histopathologic study of the control Group: 72 patients operated with the same diagnosis, same period, same Hospital.

3. RESULTS

Detection rate of sentinel node is 87,3%, suprastaging 4,8% (three of 62 patients) when compared with the standard study.

The mean of lymph nodes was 18,45 in the study Group and 20,66 in the control, statistically significant ($p=0,001$).

N positive patients were 46,47% in the study Group and 48,61% in the control Group, not statistically significant.

In the controls, with the standard study there are no micrometastases or isolated tumour cells.

The findings of the deeper study are: two macrometastases in the sentinel node with the multilevel sectioning, five isolated tumour cells and three micrometastases in the sentinel node with immunochemistry and one macro and one micrometastases in the sentinel node with the

molecular detection; in the non-sentinel deeper study, one macrometastases with the multilevel sectioning, two isolated tumour cells and one micrometastases with immunochemistry.

If we look only at the micro and macrometastases, as the isolated tumour cells do not modify the nodal status, there are 11 nodes with findings in eight patients.

Therefore, thanks to the deeper study there are eight patients who modify their total lymph node number from which cinco (8,06%) change the N subcript, and three of these (4,8%) change the stage.

4. DISCUSSION

Sentinel node study can be deeper, and this is the only way to reliably diagnose micrometastases and isolated tumour cells. It upgrades the stage of a small percentage of patients, giving extra information with, in some cases, unknown clinical significance.

On the other hand, the more lymph nodes you study, the better the study is and it lessers the effect of the deeper sttudy.; the bigger number of lymph nodes is associated with a better survival. In our study, the number of lymph nodes within the standard groupis much bigger than the recommended; this is in part what explains that the deeper study does not better the outcomes.

II. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de colon (CC) es una enfermedad frecuente y potencialmente mortal. Junto con el cáncer de recto constituye la segunda enfermedad maligna más frecuente en los países desarrollados y la segunda causa de muerte debida a un proceso neoplásico.

En el momento del diagnóstico, el estadio tumoral es el factor pronóstico más importante para predecir la supervivencia global y libre de enfermedad.

La supervivencia global a los 5 años (SG 5a) oscila en torno al 50%. En la enfermedad metastásica (incluyendo el 20% de los que pueden ser tratados con intención curativa mediante resección de la enfermedad metastásica y el resto cuyo principal tratamiento es la quimioterapia paliativa) la SG 5a es inferior al 10%. En los pacientes sin enfermedad a distancia la afectación ganglionar loco-regional es el factor pronóstico fundamental. En los estadios I y II (cuando el análisis de los ganglios extirpados es negativo; N0) el tratamiento quirúrgico se considera curativo (la SG 5a de los casos sin afectación ganglionar oscila entre el 70 y el 80%). La quimioterapia en estos pacientes no añade beneficio, siendo contraproducente por sus posibles complicaciones (exceptuando en algunos pacientes con determinadas características desfavorables del tumor primario). La supervivencia se reduce sensiblemente en caso de afectación ganglionar (N+, estadio III), hasta un 27% en los estadios IIIC. Está demostrado el beneficio del tratamiento quimioterápico complementario (adyuvante) a la resección quirúrgica del tumor en aquellos pacientes con afectación ganglionar, disminuyendo su mortalidad en más del 30% (Cohen et al. 1998, Wolmark et al. 1993).

Sin embargo, un 20-30% de los pacientes con ganglios negativos, a los que a priori les corresponde un buen pronóstico, desarrollan progresión de su enfermedad con recidivas locorregionales o metástasis a distancia a lo largo de su vida. El motivo es multifactorial. Se ha postulado que la presencia de células tumorales ocultas (no detectadas con el examen histológico convencional) en los ganglios linfáticos podría ser un factor relevante en la recidiva tumoral en estos casos. Al utilizar métodos histopatológicos y moleculares más exhaustivos en el estudio de los ganglios, un 10-20% (Saha et al. 2005) de los casos NO presentan esta afectación "oculta". Está ampliamente aceptado que la presencia de estos grupos celulares, cuando son >0,2mm (denominados micrometástasis), aumenta la probabilidad de recidiva reduciéndose la supervivencia. Así lo contempla el sistema TNM desde su 6ª edición (2003), de forma que estos pacientes son supraestadificados y candidatos a tratamiento quimioterápico adyuvante.

Por estos motivos el estudio histopatológico de la pieza de resección es una parte esencial de la definición del estadio tumoral de cada paciente. El examen histopatológico clásico es muy deficiente para diagnóstico de las micrometástasis (grupos de células tumorales <2mm y >0,2 mm), que no pueden detectarse cuando se presentan en áreas diferentes a la superficie de corte del ganglio linfático.

En la última década métodos incluyen la realización de secciones seriadas, técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) para identificar marcadores de células epiteliales, y más recientemente técnicas de RT-PCR (Mulsow et al. 2003, Greenson et al. 1994), así como un método molecular estandarizado para la detección de metástasis en los ganglios linfáticos (One Step Acid Nucleic Amplification, OSNA. Pueden contribuir a una

estadificación más precisa de la enfermedad gracias a la identificación de estos grupos celulares de menor tamaño. Sin embargo es imposible la realización de estas técnicas en la práctica clínica diaria debido al volumen de ganglios linfáticos existentes en la pieza operatoria de las resecciones colónicas. Ahora bien, si se encontrara un método de detección segura de un “ganglio centinela” (GC) en el que siempre se detectaran células tumorales en caso de existir afectación ganglionar, podrían concentrarse estos estudios complejos exclusivamente en dicho ganglio, lo que sí podría convertirse en realidad clínica. La biopsia selectiva del GC y la detección de células tumorales aisladas y micrometástasis ya están incorporados de forma rutinaria en la estadificación y planteamiento terapéutico del cáncer de mama y del melanoma cutáneo (Iddings et al. 2006). La detección del GC en CC no tendría el mismo sentido que en el melanoma o en el cáncer de mama, ya que la linfadenectomía del territorio mesentérico que se realiza no conlleva secuelas ni aumenta la morbilidad de la resección cólica. Sin embargo haría posible el estudio exhaustivo de la presencia de micrometástasis (MM; inferiores a 2 mm) en un pequeño número de ganglios, representativos del estado histopatológico del territorio ganglionar, facilitando una estadificación más correcta (supraestadificación de pacientes con estudio histológico convencional negativo), con posible trascendencia en la indicación del tratamiento adyuvante requerido (Van der Zaag et al. 2010). Esto podría convertirse en práctica habitual, lo que hoy sería imposible si tuvieran que analizarse todos los ganglios extirpados.

El objetivo del trabajo presente consiste en estudiar el posible beneficio en la búsqueda de células ocultas tumorales (CTO) de la biopsia selectiva de ganglio centinela con radioisótopos.

2. CÁNCER DE COLON

2.1. Epidemiología del Cáncer de Colon

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los de mayor impacto en la población de los países desarrollados, tanto por su frecuencia como por ser causa importante de mortalidad, siendo menos frecuentes en países en vías de desarrollo como Asia y África. Es la tercera neoplasia más común y la segunda causa de mortalidad por cáncer en los países desarrollados. A nivel mundial se estima una incidencia de 1,2 millones de casos nuevos y 608.700 muertes durante el año 2008 (Jemal A et al. 2011).

En el hombre ocupa el tercer lugar en cuanto a frecuencia mientras que en la mujer es el segundo cáncer más diagnosticado. Su incidencia entre países oscila entre los 0,5 casos/100.000 habitantes/año en la India hasta los 51,3 casos/100.000 habitantes/año en Nueva Zelanda. Así, se calcula que hay 148.810 nuevos casos (77.250 hombres y 71.560 mujeres) al año de CCR en los Estados Unidos, de los cuales 108.070 son de colon y el resto de recto. Aproximadamente 49.960 norteamericanos mueren cada año por esta enfermedad, lo que supone un 9% de todas las muertes por cáncer (Jemal A et al. 2011).

La incidencia de CCR en 2008 en Europa fue de 631.000 en hombres y 341.000 en mujeres, ocupando el segundo lugar tanto en incidencia como en mortalidad por cáncer (Ferlay J et al. 2010).

Si tenemos en cuenta los sexos, en la mujer el cáncer de mama fue el más frecuentemente diagnosticado, con 429.900 casos (28,9% del total), seguido del CCR (195.400; 13,1%) y del cáncer de útero (149.300; 10%). En los varones, el cáncer de próstata fue el más frecuente (345.000; 20,3%), seguido del cáncer de pulmón (292.200; 17,2 %) y del CCR (217.400; 12,8%).

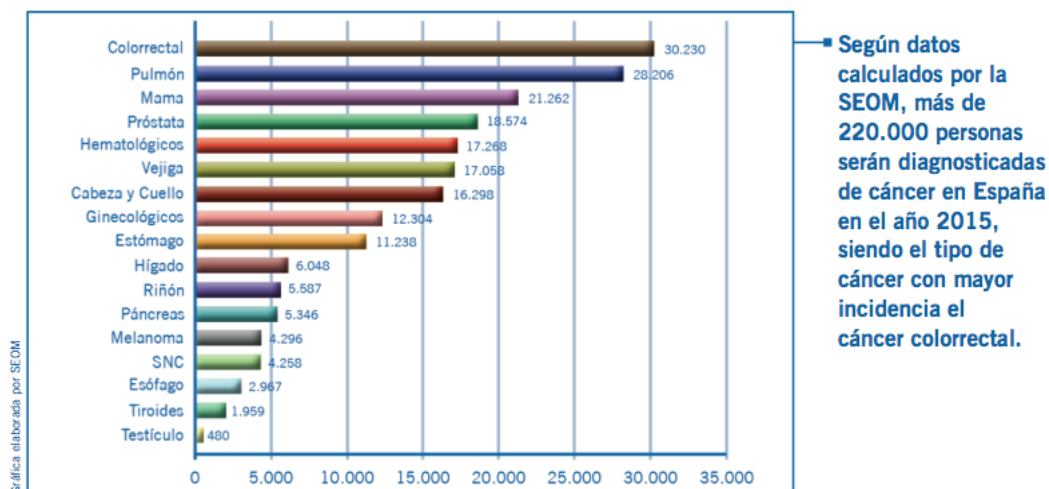
En cifras generales, se estima que en el año 2006 se produjeron 1,7 millones de muertes por cáncer, siendo las causas más frecuentes el cáncer de pulmón (334.800; 20% del total de muertes), el CCR (207.400; 12,2%), distribuidos casi equitativamente en ambos sexos, seguido del cáncer de mama (131.900; 7,85), a su vez más frecuente que el cáncer gástrico (118.200; 6,9%).

La mortalidad atribuida al CCR ha ido disminuyendo progresivamente desde mediados de los 80 a pesar de ser una enfermedad de elevada incidencia. Esto es debido a la detección precoz de la enfermedad y la utilización de tratamientos más efectivos como la terapia adyuvante, la quimioterapia, la neoadyuvancia en el cáncer de recto y la escisión total del mesorrecto. Esto hace que países como los Estados Unidos tengan unas tasas globales de SV 5ª del 61% en pacientes tratados, incluyendo todos los estadios (Ries LAG et al, Review 1973-2007).

2.1.1. EL CÁNCER DE COLON EN ESPAÑA

En España se diagnosticarán 30.230 nuevos casos de CCR en el año 2015, con una incidencia global prevista de 222.069 personas (136.961 varones y 85.108 mujeres), siendo el tipo más frecuente el CCR, por delante, en términos globales del cáncer de pulmón y el cáncer de mama.

Incidencia de cáncer en España por tipo de tumor (estimado año 2015)



Fuente: GLOBOCAN 2002. <http://www.dep-iarc.fr>. Datos extrapolados para la población estimada para 2015 en España por el INE.

Figura 1: Incidencia estimada del cáncer en España según origen (Cortesía de GLOBOCAN 2002)

Hay una edad clave a partir de la cual el número de casos de cáncer de colon y de recto diagnosticados comienzan a crecer exponencialmente: los 50 años, aunque es entre los 75 y los 84 años cuando se dan el mayor número de casos.

La incidencia del cáncer de colon y recto es superior en hombres que en mujeres, hecho que cambia a partir de los 80 años cuando los casos de cáncer diagnosticados son

mayores en mujeres debido, principalmente, a que la esperanza de vida para éstas es mayor.

La evolución de la SG 5a en España de pacientes con cáncer colorrectal ha pasado del 52,50% en los años 1995-99 al 61,50% en los años 2000-02.

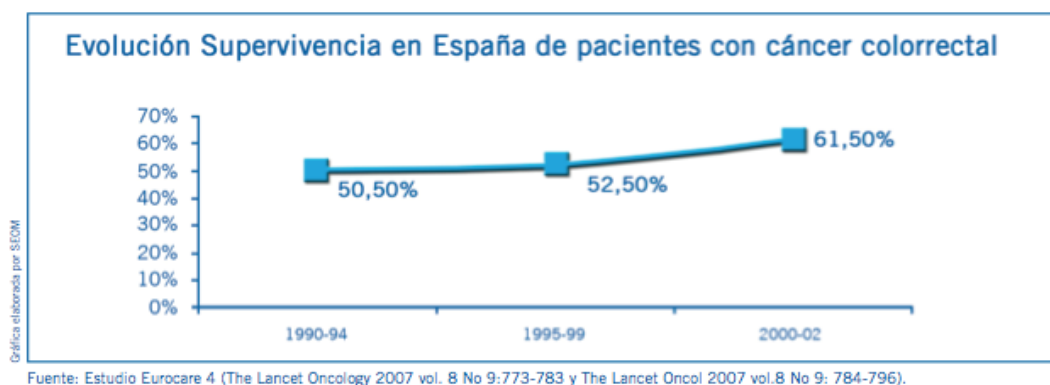


Figura 2: Evolución de la supervivencia en España del CCR (Cortesía de Eurocare 4)

2.2. Etiología y patogénesis del Cáncer de Colon

2.2.1. ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS

La patogenia de esta enfermedad obedece a complejas interrelaciones entre la genética del individuo y su entorno medioambiental.

Desde un punto de vista general, la génesis de un tumor es consecuencia de la inestabilidad genómica secundaria a la acumulación de múltiples alteraciones genéticas a lo largo del tiempo (Al-Sohaily S et al. 2012), dando lugar tanto a la activación de

oncogenes (K-RAS, c-MYC) como a la inactivación de genes supresores (APC, DCC, p53), que generan cambios en la replicación del ADN y en el ciclo celular o fallo del sistema de reparación de ADN (genes-MMR). La inestabilidad genética de la mucosa colorrectal resulta en hiperplasia, adenoma, carcinoma in situ y, finalmente, carcinoma invasor.

La mayoría de los cánceres de colon surgen a partir de adenomas siguiendo el modelo de génesis tumoral postulado por Fearon y Vogelstein (Fearon y Vogelstein 1990). Los pólipos adenomatosos son los más frecuentes y los que tienen mayor potencial de malignización. De los pólipos extirpados el 65-80% son adenomas tubulares, el 10-15% adenomas tubulovelloso y el 5-10% adenomas vellosos. La incidencia de cáncer invasor está relacionada directamente con el tamaño del pólipo, la proporción de componente vellosos, el grado de displasia y el número de pólipos. La incidencia global de carcinoma en un pólipo es del 2,7-5%, mientras que en los adenomas vellosos mayores de 5 cm dicha incidencia se eleva hasta el 40% (O'Brien MJ et al. 1990, Heitman SJ et al. 2009).

Los pólipos serrados se transforman en cáncer siguiendo una vía distinta a la secuencia adenoma-carcinoma convencional (Cappel 2008, Al-Sohaily S et al. 2012).

2.2.2. DISEMINACIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL

El CCR en sus fases iniciales toma la forma de un engrosamiento localizado que se origina a partir de un pólipo adenomatoso. Para que una tumoración colorrectal pueda diseminarse y producir metástasis a distancia deben sucederse una serie de

acontecimientos como son la invasión del sistema vascular (sanguíneo o linfático), la embolización, supervivencia de estas células en la circulación, secuestro en el lecho capilar, extravasación y multiplicación en el parénquima de un órgano. Los carcinomas de colon se pueden diseminar por: a) contigüidad directa a través de la pared intestinal a tejidos, órganos y vísceras que están en su proximidad; b) mediante exfoliación de células que se implantan en la cavidad peritoneal; c) a través del tejido linfático submucoso hacia los ganglios linfáticos regionales (epicólicos y paracólicos) y finalmente a distancia (ganglios paraaórticos); d) por diseminación hematógena, fundamentalmente al hígado; o e) por implantación sobre superficies cruentas (lecho tumoral, trócares) o líneas de sutura del intestino.

La diseminación hematógena en el CCR se dirige preferentemente al hígado, que es el primer órgano diana y el que con más frecuencia se afecta por este mecanismo. Otros órganos implicados son el pulmón y menos frecuentemente el hueso. Se ha demostrado la existencia de células malignas en la circulación sanguínea en el 28% de pacientes afectados de CCR durante la inducción anestésica y en el 50% de ellos durante el procedimiento quirúrgico de resección de su tumor. Sin embargo, el seguimiento de pacientes en los que hay células malignas en el torrente sanguíneo no muestra peor pronóstico. Parece haber una gran ineficacia metastásica por parte de la célula tumoral circulante.

La diseminación linfática de forma ordenada no se cumple en algunos casos, pudiendo encontrarse metástasis en ganglios linfáticos en regiones más alejadas del tumor mientras los ganglios pericólicos están libres de enfermedad, fenómeno conocido como

“*skip* metástasis” o vía aberrante. La frecuencia de este fenómeno oscila entre el 1 y el 7% en la detección de metástasis por técnicas de histopatología convencional.

2.3. Diagnóstico y estadificación clínica del Cáncer de Colon

La técnica de elección para el diagnóstico de CC es la colonoscopia completa, con una sensibilidad del 90-95% para detectar tumores y un índice de complicaciones del 0,1% en pruebas diagnósticas (del 2% en pruebas terapéuticas), siendo la hemorragia y la perforación las principales complicaciones.

Cuando se evidencia una lesión, es obligatoria la toma de biopsias para estudio histológico. Además es necesaria la realización de una colonoscopia completa para descartar la presencia de lesiones sincrónicas (3-5%) o pólipos asociados al tumor (30%) (Cunningham D et al. 2010).

En cuanto a la evaluación preoperatoria es necesaria una buena evaluación clínica, radiológica y anatomopatológica con el objetivo de determinar la extensión anatómica del tumor y así poder planificar el tratamiento, establecer el pronóstico y posteriormente evaluar los resultados. Para esto se dispone de varias pruebas como la ecografía, tomografía computarizada (TC) o resonancia magnética (RM) (Cunningham D et al. 2010).

En cuanto a los marcadores tumorales (determinación preoperatoria) son útiles desde punto de vista pronóstico y también como método de diagnóstico precoz de recidivas.

2.3.1. ESTADIFICACIÓN CLÍNICA DEL CC (cTNM)

La importancia de la estadificación clínica surge de la necesidad de agrupar a los pacientes en función de su pronóstico y de establecer grupos con distinto enfoque terapéutico. La correcta estadificación permite la comparación de diferentes tratamientos y el diseño de estudios adecuados.

Se basa en la historia médica, examen físico, colonoscopia con biopsia y en las pruebas destinadas a demostrar la presencia de metástasis extracolónicas regionales o a distancia.

Se sigue la misma metodología que en la estadificación patológica de la UICC/AJCC (Tumor, Nodos, Metastasis) que se detalla más adelante, en este caso sin los datos aportados por el estudio histológico, que determinan finalmente el pronóstico.

2.4. Tratamiento quirúrgico del CC

El tratamiento quirúrgico es, actualmente, el tratamiento curativo para el CCR localizado. La cirugía también ofrece una opción potencialmente curativa en pacientes seleccionados con enfermedad metastásica limitada. También se emplea en pacientes no candidatos a resección curativa para solucionar complicaciones como la obstrucción o el sangrado del tumor primario.

El objetivo del tratamiento quirúrgico del CCR es la resección completa del tumor con márgenes de seguridad y la extirpación de todo el territorio ganglionar correspondiente con ligadura de los vasos principales en su origen. La cirugía oncológica radical previene la recidiva local en la mayor parte de los casos (Harris GJ et al. 2002). En cuanto a esto último, las recomendaciones actuales incluyen la exéresis de al menos 12 ganglios para una correcta estadificación, obteniéndose con esto una correcta información para el pronóstico y el tratamiento adyuvante.

Por lo general, los ganglios reactivos son más blandos que los carcinomatosos, pero en la laparotomía es totalmente imposible distinguirlos con precisión. Y al contrario, cualquier metástasis ganglionar puede no estar asociada a hipertrofia o induración del ganglio linfático afectado. En relación a este concepto, resulta interesante el hallazgo de Jinnai (Jinnai 1981) en las piezas quirúrgicas: alrededor del 50% de los ganglios linfáticos con metástasis tenían entre 2 y 6 mm. de diámetro. Por lo tanto, el método más seguro de realizar la extirpación radical es siempre la resección de todo el territorio linfático relacionado con el tumor primario.

En ocasiones es necesaria la resección en bloque de los órganos vecinos adheridos al tumor con la intención de conseguir una resección R0 (Cunningham D et al. 2010).

En cuanto a la opción laparoscópica, está más que aceptada en el CCR. En manos expertas y en pacientes adecuadamente seleccionados se ha demostrado que los resultados oncológicos, la morbilidad y mortalidad perioperatoria son comparables con la cirugía abierta, mientras que la recuperación postoperatoria es relativamente más rápida.

2.5. Estudio Anatomopatológico

2.5.1. TIPOS HISTOLÓGICOS

La mayoría de los CCR son adenocarcinomas que se subclasifican según el grado de diferenciación; el resto de tipos histológicos son menos frecuentes.

CLASIFICACIÓN DE LA OMS	
Tipo Histológico	Código SNOMED
Adenocarcinoma	(M8140/3)
Adenocarcinoma mucinoso (coloide; componente mucinoso > 50% del tumor)	(M8480/3)
Carcinoma de células en anillo de sello (> 50% del tumor)	(M8490/3)
Carcinoma escamoso	(M8070/3)
Carcinoma adenoescamoso	(M8560/3)
Carcinoma de célula pequeña	(M8041/3)
Carcinoma medular	(M8510/3)
Carcinoma indiferenciado	(M8020/3)

Figura 3: Clasificación según tipo histológico y nomenclatura de la OMS del CCR

Algunos tumores tienen capacidad de producir mucina y ésta puede ubicarse intra o extracelularmente. Así, los tumores con capacidad de producir grandes cantidades de mucina extracelular, siempre que ésta sea más del 50% de la estructura del tumor, son clasificados como carcinomas mucinosos. Estos tumores comprenden del 11 al 17% de los CCR y suelen diagnosticarse en estadios avanzados. En algunos carcinomas no glandulares

se aprecian acúmulos de mucina intracelular, la cual desplaza el núcleo celular hacia la periferia adquiriendo la morfología de anillo de sello. Este tipo de carcinomas sólo se da con una frecuencia que oscila entre el 1 y el 2% pero son extremadamente agresivos (Green et al. 1993).

2.5.2. GRADO HISTOLÓGICO

El grado histológico de diferenciación tiene en cuenta la capacidad del tumor para generar estructuras bien definidas como túbulos o glándulas. Así, los tumores bien o moderadamente diferenciados, tienen un mayor o menor número de formaciones glandulares respectivamente, mientras que los tumores pobremente diferenciados o indiferenciados apenas forman glándulas y están constituidos por capas de células con mucha atipia, pleomorfismo y un alto grado de índice mitótico.

Tabla 1: Grado histológico (G)

G	GRADO HISTOLÓGICO
GX	Grado no valorado
G1	Bien diferenciado
G2	Moderadamente diferenciado
G3	Pobremente diferenciado
G4	Indiferenciado

Nota: se recomienda la agrupación en “bajo grado” (G1-G2) y “alto grado” (G3-G4) ya que pueden estar asociados con resultados independientes a los grupos TNM. Algunos autores sugieren que las lesiones G4 podrían identificarse por separado y representar un pequeño subgrupo de carcinomas muy agresivos.

2.5.3. ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA (pTNM)

El sistema de clasificación más usado en la clínica es la clasificación TNM (Tumor Node Metastases), creado de la colaboración entre AJCC (American Joint Committee on Cancer) y UICC (Union Internationale Contre le Cancer). Se revisa cada 5-6 años para adaptarse a los nuevos avances científicos. La última versión, la 7ª, es del año 2010 (la previa es de 2003). Clasifica los estadios tumorales según el grado de afectación de la pared por el tumor primario (T), afectación de ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia o ausencia de metástasis a distancia (M), suplementado recientemente por factores pronósticos no anatómicos seleccionados cuidadosamente.

El TNM puede valorarse de forma clínica (prefijo "c"), patológica (prefijo "p"), en la recurrencia (prefijo "r"), postratamiento neoadyuvante (prefijo "y") y en autopsia en tumores hallados de forma casual (prefijo "a"). El estadio patológico (pTNM) se define por los datos histológicos de la pieza quirúrgica. Su significado pronóstico es más preciso que la valoración clínica. Actualmente este es el indicador más potente que existe del pronóstico.

Tabla 2: Clasificación T

CLASIFICACIÓN T	
T	TUMOR PRIMARIO.
Tx	Tumor primario no puede ser valorado
T0	No evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ: intraepitelial o invasión de lámina propia ¹
T1	Tumor invade la submucosa
T2	Tumor invade la muscular propia
T3	Tumor invade a través de la muscular propia en los tejidos pericorreciales
T4a	Tumor penetra en la superficie del peritoneo visceral ²
T4b	Tumor invade o está adherido a otros órganos y estructuras

La definición de carcinoma “in situ” -pTis- incluye células cancerígenas confinadas en la membrana basal (intraepitelial) o en la lámina propia (intramucosa) sin extensión a través de la muscularis mucosae hacia la submucosa. Ni el carcinoma intraepitelial ni el intramucoso están asociados con riesgo de metástasis.

El carcinoma sobre un pólipo es clasificado de acuerdo con estas definiciones en cuanto a pT. Así el carcinoma limitado a la lámina propia es clasificado como pTis mientras que

¹ Nota 1: los términos “displasia de alto grado” o “displasia severa” pueden ser usados como sinónimos de adenocarcinoma “in situ”. Pueden ser asignados como pTis.

² Nota 2: el tumor adherido a otros órganos o estructuras, de forma macroscópica, es clasificado de cT4b. Sin embargo si microscópicamente no se evidencia tumor la clasificación debería pasar a ser pT1-4a dependiendo de la profundidad anatómica de la invasión tumoral.

aquél que invade a través de la muscularis mucosae y entra en la submucosa, tanto en el tallo como en la cabeza, es clasificado como pT1.

Clasificación N:

La afectación ganglionar es, después de la presencia de metástasis a distancia, el factor que se ha relacionado de una manera más directa con la supervivencia y con el intervalo libre de enfermedad (Cohen et al. 1991, Compton et al. 2000).

La importancia de la afectación ganglionar en los pacientes de cáncer de colon radica en tres aspectos distintos: determina el pronóstico de la enfermedad, condiciona la administración de tratamientos adyuvantes y asegura la correcta inclusión de estos pacientes en los diferentes ensayos clínicos.

Así pues, estratificar erróneamente a un paciente afirmando que sus ganglios linfáticos están libres de enfermedad (pN0) cuando en realidad están afectados (pN1 ó pN2) supone asignarle un pronóstico que no se corresponde con su situación biológica “real”; además, y más importante aún, supone negarle la posibilidad de recibir un tratamiento adyuvante que mejoraría su pronóstico. Por todo ello tiene una enorme importancia pronóstica y terapéutica y debe ser un objetivo prioritario.

Varios estudios han documentado que a mayor número de ganglios identificados, mayor es la probabilidad de detectar ganglios positivos, y que el número de ganglios metastáticos tiene un efecto negativo sobre la supervivencia de los pacientes afectados de

CCR. La identificación de los ganglios linfáticos en las piezas de resección colónica se efectúa habitualmente mediante una combinación de visualización-palpación; por tanto, este método está sujeto a la habilidad y paciencia del patólogo. Además, frecuentemente las metástasis se encuentran en ganglios de tamaño <0,5 cm de diámetro (Rodríguez-Bigas et al. 1996). Andreola (Andreola et al. 1996) encontró que un 45% de los ganglios linfáticos que presentaban metástasis en pacientes con estadio III tenían un diámetro inferior a 5 mm y además determinaron la estadificación en 15 pacientes de este grupo. Haboubi (Haboubi et al. 1998) publicó que el 86% de los ganglios que presentaban restos de células tumorales (micrometástasis y/o células aisladas) tenían un diámetro inferior a 5 mm.

Existe controversia sobre el número óptimo de ganglios que se deben identificar y examinar en una pieza de resección colónica; en las guías publicadas este número oscila entre un mínimo de 8 ganglios y un máximo de 40. Así Chen (Chen et al. 2006) describe un aumento de la supervivencia en los pacientes con linfadenectomías superiores a 15 ganglios, independientemente del estadio y de las características tumorales. Cserni (Cserni et al. 2002) tras estudiar los datos de un total de 8.574 pacientes con estadio II no pudieron establecer punto de corte del número de ganglios necesarios, pero en su análisis sí establecieron que el riesgo de muerte disminuye en un 2,1% por cada ganglio negativo. Goldstein (Goldstein et al. 1996) recomendaron la detección de un número mínimo de 17 ganglios porque, en su experiencia, el porcentaje de nódulos positivos alcanzaba la estabilización o plateau a partir de esta cifra.

Por consenso se ha establecido que el número mínimo de ganglios para poder dar un pronóstico de la enfermedad es de 12 y así lo recomendó Fielding (Fielding et al. 1986) en un documento publicado en el *World Congress of Gastroenterology*; posteriormente esta recomendación fue recogida también por la AJCC.

Cuando los ganglios son de gran tamaño se seccionan por la mitad y ambas mitades se incluyen en parafina para posteriormente someterse a la tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E). Se realiza una o varias secciones de 4 a 5 micras de cada ganglio y éstas se estudian en el microscopio para la identificación de metástasis. Se ha calculado que una sección de 4 micras de la parte central de un ganglio de 1 cm de diámetro representa aproximadamente un 0,06% del total del ganglio, y el estudio de esta pequeña porción se extrapola a todo el tejido linfático de ese ganglio.

La valoración de metástasis ganglionar en la clasificación TNM se fundamenta en los métodos clásicos de estudio anatomopatológico, es decir, mediante el uso de técnicas de tinción con hematoxilina-eosina, con los inconvenientes mencionados. No obstante, los nuevos avances en las técnicas histológicas de detección celular han permitido identificar pequeñas cantidades de células tumorales en los ganglios linfáticos. De este modo, las células tumorales aisladas se definen como un pequeño número de células tumorales de menos de 0,2 mm de diámetro máximo, detectadas mediante técnicas específicas o por métodos clásicos. Su significado biológico no ha sido demostrado (Hayashi et al 1995), por lo que se clasifican como pN0 (i+; "i" de isolated tumor cells). Sin embargo, si las pequeñas cantidades de células miden más de 0,2 mm pero menos de 2 mm se definen

como micrometástasis y al tener repercusión pronóstica deben clasificarse como pN1(mic).

Tabla 3: Clasificación N

N	GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES
Nx	Ganglios regionales no pueden ser valorados.
N0	No metástasis en ganglios regionales.
N1	Metástasis en 1-3 ganglios regionales.
N1a	Metástasis en 1 ganglio regional.
N1b	Metástasis en 2-3 ganglios regionales.
N1c	Depósitos tumorales en la subserosa, mesenterio o en tejidos no peritonizados pericólicos o perirrectales sin ganglios regionales afectados.
N2	Metástasis en 4 o más ganglios regionales.
N2a	Metástasis en 4-6 ganglios regionales.
N2b	Metástasis en 7 o más ganglios regionales.

Clasificación M:

Las metástasis en un solo órgano a distancia (hígado, pulmón, ovario o en ganglios linfáticos que no sean los ganglios regionales) deben ser clasificadas como M1a. Si la metástasis se localiza en varios órganos o en la superficie peritoneal entonces M1b. La designación M0 nunca debería ser asignada por el patólogo, puesto que se trata de un concepto más general en cuanto a la ausencia de metástasis detectables en cualquier parte del cuerpo.

Tabla 4: Clasificación M

M	METÁSTASIS A DISTANCIA.
M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia
M1a	Metástasis confinadas en un órgano o lugar
M1b	Metástasis en más de un órgano/lugar o en el peritoneo

La supervivencia a los 5 años para cáncer de colon publicada en la séptima edición de la AJCC es:

- Estadio I- T1-2N0 76,3%.
- Estadio II A- T3N0 66,7%.
- Estadio II B- T4N0 55%.
- Estadio IIIA- T1-2N1 71,1%.
- Estadio III B- T1-2N2 61,5%, T3N1 54,9%.
- Estadio III C- T3N2 38,1%, T4N1 39,6%, T4N2 21,7%.

2.5.4. OTROS FACTORES HISTOLÓGICOS PRONÓSTICOS

En la 7ª clasificación TNM se incluyen siete nuevos factores pronósticos añadidos a niveles de CEA séricos. Estos son: depósitos tumorales (TD: tumor deposits; depósitos tumorales discontinuos desde el borde del tumor principal y sin evidencia de vasos venosos ni tejido ganglionar); grado de regresión tumoral, que habilita al patólogo a

graduar la respuesta tumoral a la terapia neoadyuvante; margen de resección circunferencial (CRM) medido en mm. desde el borde tumoral más cercano al límite de resección; inestabilidad de microsátélites (controvertido); invasión perineural, que puede tener un peso pronóstico similar a la invasión linfovascular; estado KRAS mutado (asociado con falta de respuesta al tratamiento con anticuerpos monoclonales contra receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR); y 18qLOH (hay trabajos que lo clasifican como marcador pronóstico que pudiera sugerir la necesidad de terapia adyuvante en cáncer de colon estadio II).

Grado de regresión tumoral: La respuesta patológica al tratamiento neoadyuvante debe ser recogida de acuerdo con el *“Protocolo para el examen de especímenes de pacientes con carcinomas de colon y recto”* del *College of American Pathologist (CAP)*.

Tabla 5: Grado de regresión tumoral

Descripción	Grado de regresión tumoral
No células cancerosas	0 (respuesta completa)
Células cancerosas aisladas o en pequeños grupos	1 (respuesta moderada)
Cáncer residual con fibrosis	2 (respuesta mínima)
Cáncer residual extenso, mínima o sin necrosis tumoral	3 (pobre respuesta)

Margen de resección circunferencial: Es esencial un examen exhaustivo del margen más cercano al tumor principal.

Enfermedad residual (R): La resección completa depende de forma muy importante del margen circunferencial aunque la asignación de resección completa es global e incluye margen transversal y otros aspectos observados en la cirugía y no resecados.

Tabla 6: Clasificación según grado de regresión tumoral

R	TUMOR RESIDUAL
R0	Resección completa, márgenes histológicos negativos, no tumor residual después de la resección.
R1	Resección incompleta, márgenes histológicamente afectados, tumor microscópico residual después de la resección (tumor primario, ganglios regionales).
R2	Resección incompleta, márgenes macroscópicamente afectados o restos groseros después de la resección (tumor primario, ganglios regionales o metástasis hepáticas).

Afectación ganglionar molecular y por células aisladas: Mientras la tecnología progresa y la biopsia del ganglio centinela se convierte en un procedimiento fiable en la cirugía del colon y recto, la interpretación de la afectación de ganglios regionales por pequeños grupos de células cancerosas continuará siendo clasificada como pN0 y la terminología para este tipo de afectación continuará siendo CTA. El significado pronóstico de CTA continúa siendo poco claro. El hallazgo de CTA debe ser anotado en el informe como pN0i+ (“i” = “isolated tumor cells”) independientemente de si han sido halladas con HE o con el uso de IH y/o análisis moleculares.

KRAS: Análisis de ensayos clínicos recientes han demostrado que la presencia de mutación tanto en el codón 12 como del 13 de KRAS está asociada fuertemente a falta de respuesta en el tratamiento con anticuerpos anti-EGFR en pacientes con cáncer colorrectal metastásico.

Añadidos al TNM existen otros factores pronósticos independientes que se usan generalmente en el manejo del paciente con CCR y que tienen buen soporte en la literatura actual. Estos son: tipo histológico, grado histológico, niveles séricos de CEA, invasión venosa extramural e invasión vascular submucosa en carcinomas que asientan en adenomas.

2.6. Tratamiento adyuvante

El tratamiento quirúrgico se puede complementar con tratamiento oncológico (quimioterapia y/o radioterapia) según los casos.

Se cree que la recurrencia de la enfermedad es debida a micrometástasis clínicamente ocultas que están presentes en el momento de la cirugía. El objetivo del tratamiento adyuvante es la erradicación de estas micrometástasis en pacientes que hayan sido sometidos a un tratamiento quirúrgico con intención curativa. El tratamiento adyuvante ha demostrado claros beneficios en el estadio III de la enfermedad (una reducción del 30% en el riesgo de recurrencia y del 22 al 32% en la mortalidad). La indicación para el

estadio II es controvertida, salvo en pacientes con alto riesgo de recurrencia (Cunningham D et al. 2010).

Actualmente las combinaciones con Oxaliplatino se consideran las más adecuadas. El régimen más recomendado es la asociación de Oxaliplatino con Leucovorina (LV) e infusión de 5- fluoracilo (5-FU) (FOLFOX).

La estrategia más adecuada, en cuanto a combinar y secuenciar los diferentes fármacos activos se establece de forma individualizada. El análisis de biomarcadores está influyendo en la elección del tratamiento. Así, es bien conocido que la presencia tanto de mutación en KRAS como BRAF se asocia a una mayor resistencia al tratamiento con antiEGFR, y que tumores con inestabilidad de microstélites (IMS) presentan peor respuesta al tratamiento con 5-FU (Di Nicolantonio F et al. 2008, Tejpar S et al. 2009, Armaghany T et al. 2012).

2.7. Tratamiento de la enfermedad metastásica

La mayoría de los pacientes con CCR y enfermedad metastásica no pueden ser curados y la intención del tratamiento es paliativa. La quimioterapia paliativa contemporánea ha demostrado aumentar la supervivencia en al menos el doble, controlar la aparición de enfermedad sintomática y mantener la calidad de vida durante el mayor tiempo posible. También en ocasiones permite la resección quirúrgica de las metástasis (Macedo LT et al. 2012, Konopke R et al. 2012, Bartlett DL et al. 2012).

Las principales sociedades recomiendan el uso de FOLFIRI o FOLFOX asociado a fármacos dirigidos a los receptores de factores de crecimiento epidérmico (Cetuximab o Panitumumab) o al factor de crecimiento endotelial vascular (Bevaciumab) como primera línea de tratamiento.

Hay que tener en cuenta que al menos el 70% de los pacientes con CCR desarrollarán metástasis hepáticas a lo largo de su enfermedad. La resección hepática es el tratamiento potencialmente curativo, alcanzando índices de supervivencia del 58% a los 5 años. La única premisa necesaria para indicar la cirugía es poder extirpar toda la enfermedad macroscópica con márgenes libres de enfermedad. Existen procedimientos locales, alternativas al tratamiento quirúrgico como la radiofrecuencia, la quimioembolización, etc (Barlett DL et al. 2012, Konopke R et al. 2012).

3. MICROMETÁSTASIS GANGLIONARES (MM)

3.1. Definición

Histológicamente se definen como cualquier foco tumoral independiente y sin aporte sanguíneo específico cuyo tamaño es menor o igual a 2 mm y mayor a 0,2 mm. Se categorizan como verdaderas metástasis y se clasifican como pN1 (mic) cuando se observan en el examen patológico convencional.

Los depósitos tumorales menores a 0,2 mm se denominan células tumorales aisladas (CTA), y pueden identificarse bien por histología convencional (raramente), por tinciones inmunohistoquímicas o PCR; en la clasificación TNM se consideran como pN0(i+).

Hay autores que prefieren considerar el término células ocultas tumorales (COT) que engloba las MM y las CTA. Doekhie (Doekhie et al. 2006) postuló que es posible que en los individuos inmunocompetentes las COT sean destruidas por el sistema inmune antes de que puedan progresar a metástasis de mayor tamaño y puedan proliferar.

El mismo autor consideró la importancia de la localización de las células tumorales dentro del ganglio linfático. Así, pueden estar localizadas en los sinusoides subcapsulares, en los sinusoides paracorticales o en las estructuras medulares. También en el espacio parafolicular o con distribución difusa, aunque lo habitual es encontrar estas células en la zona subcapsular. Hasta el momento no se ha determinado el impacto de la localización de las células tumorales en las diferentes partes del ganglio linfático.

3.2. Técnicas para la detección de MM

3.2.1. HEMATOXILINA-EOSINA (H-E)

Es práctica habitual estudiar únicamente uno o dos cortes de cada ganglio (estudio convencional). Tschmelitsch (Tschmelitsch et al. 2000) estimó que el estudio de secciones únicas de 3 a 5 microm en un ganglio de 1 cm supone la valoración de sólo el 0,4% de

dicho ganglio. La **sección seriada** del mismo ganglio, con varios cortes con una separación de 0,2 mm (espesor mínimo de las MM) para explorar todo el ganglio y evitar la no detección de células tumorales en un corte único se ha estudiado mucho en casos de cáncer de mama y ganglio centinela, consiguiendo la supraestadificación hasta en un 30% de los casos con respecto al estudio convencional (EC).

En el CCR la experiencia es limitada; Wyk (van Wyk et al. 2000) sólo reestadifica un pequeño número de pacientes.

3.2.2. INMUNOHISTOQUIMIA (IHQ)

Es la primera herramienta con la que cuenta el patólogo que supera la capacidad diagnóstica de la tinción con H-E. Las técnicas de IHQ permiten la detección, identificación y localización de componentes celulares o tisulares gracias al reconocimiento de la reacción entre el elemento celular/tisular a estudiar (Ag) y el anticuerpo (Ac) contra este componente. Para poder hacer visible el complejo Ag-Ac hace falta un marcador. Hay diferentes tipos: el que habitualmente se utiliza en esta técnica es un enzima, concretamente la peroxidasa. La detección de MM por IHQ está basada en la unión específica de anticuerpos a antígenos presentes en las células tumorales pero no en el tejido normal. Ante la falta de antígenos específicos del tumor, en muchas ocasiones se utilizan antígenos específicos de células epiteliales, teniendo en cuenta que el CCR se origina en células epiteliales y que en los ganglios linfáticos normales no se hallan estas células. Los anticuerpos más comúnmente utilizados están dirigidos contra el antígeno

carcinoembrionario (CEA), el antígeno de la membrana epitelial (EMA) y citoqueratinas (CKs).

Las secciones del ganglio se tratan con el anticuerpo elegido (contra el antígeno epitelial primario) y después se incuban con otro anticuerpo llamado secundario, que se une al primero y da una reacción colorimétrica. El método clásico está basado en el complejo biotina-avidin-peroxidasa, donde la peroxidasa convierte un sustrato en un producto coloreado.

La significación diagnóstica de la detección de micrometástasis mediante tinción IHQ de ganglios que han sido negativos por la H-E ha originado importante controversia. Los primeros estudios en los que se utilizó esta técnica no indicaban mejoras en el diagnóstico de metástasis. Davidson (Davidson et al. 1992) utilizó IHQ de forma retrospectiva y reexaminó los ganglios con tinciones hematoxilina-eosina negativas, encontrando evidencia de metástasis en éstos; así evidenció que se habían infraestadificado. En estudios más recientes se observó una verdadera reestadificación de los pacientes con CCR aunque el significado clínico no estaba bien establecido.

Nueve de 28 estudios publicados muestran un peor pronóstico en los pacientes que presentaron MM o CTA detectadas por IHQ. Isaka (Isaka et al. 1999) aplicó la IHQ a los ganglios de 42 pacientes afectados de carcinoma rectal en estadio B de Dukes, con un anticuerpo monoclonal CAM 5.2 que se une a las CKs 8 y 18. Encontró así MM en 19 (2,9%) de 644 ganglios que correspondían a nueve pacientes. Aunque la existencia de MM no se correlacionó con parámetros clínico-patológicos del tumor, sí encontró diferencias

en las tasas de recurrencia y el intervalo libre de enfermedad a los 10 años de seguimiento.

Greenson (Greenson et al. 1994) estudió 568 ganglios de 50 pacientes afectados de CCR estadio B de Dukes determinando CK y una glicoproteína tumoral específica, ATG -72. Seis de los 14 pacientes con tinciones IHQ positivas murieron en los 66 meses posteriores a la intervención, mientras que sólo uno de los 36 pacientes con IHQ negativas falleció por su enfermedad (P=0.0009).

Sasaki y Yasuda no sólo confirman el valor pronóstico de la determinación de micrometástasis sino que además abogan por la importancia del número de células tumorales encontradas en relación con la supervivencia. Sasaki demostró una mayor frecuencia de restos celulares tumorales en los ganglios de pacientes con recurrencia de la enfermedad. Yasuda señaló que la existencia de restos celulares tumorales en cuatro o más ganglios tenía relación con la recidiva de la enfermedad (Yamauchi et al. 2008).

Por el contrario, existe un número significativo de trabajos que no han podido determinar relevancia clínica de las MM o de las CTA. En el estudio de Andreola, el porcentaje de ganglios positivos se incrementó hasta 40,4% al introducir la tinción IHQ con un conjunto de anticuerpos anti-citoqueratinas; sin embargo concluyen que el estudio IHQ supuso un gasto y un consumo de tiempo innecesarios debido al gran número de ganglios que fueron procesados (Andreola et al. 2001). Otros autores defienden que la determinación de MM por IHQ no predice las recidivas. Nakanishi (en un estudio tipo caso control) no halló diferencias en las frecuencias de MM entre ambos grupos (Nakanishi et al. 1999).

Tschmelitsch (55 pacientes en estadio II), reevaluando con IHQ las preparaciones con H-E, encontró MM en cuatro pacientes de 28 con recurrencia y en un paciente de los 27 sin recurrencia (Tschmelitsch et al. 2000).

En este mismo sentido, en la revisión sistemática y metanálisis liderado por Sloothaak en 2014 se concluye que los pacientes con estadio I/II y MM tienen peor pronóstico que pacientes sin COT. Las CTA no tiene valor predictivo en este grupo de pacientes. Entonces, la distinción entre CTA y MM debería de realizarse si la detección de COT es incorporada en las decisiones clínicas para tratamiento adyuvante (Sloothaak D et al. 2014).

Tal y como señaló Nordgard, la discrepancia entre estos estudios puede ser debida a la baja sensibilidad global de la IHQ, lo que viene dado por una falta de estandarización de los protocolos de tinción, por la variedad en el número de células analizadas y el amplio abanico de anticuerpos utilizados (Nordgard et al. 2009).

3.2.3. TÉCNICAS BASADAS EN LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

El desarrollo de la biología molecular ha proporcionado un amplio repertorio de técnicas, algunas de las cuales han encontrado aplicación en el campo de la detección de MM en ganglio linfático y otros tejidos.

En todas estas técnicas el denominador común es la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite la amplificación exponencial de pequeñas cantidades de ácidos nucleicos para detectar mutaciones específicas relacionadas con los tumores.

Las técnicas basadas en la PCR tienen la ventaja de utilizar todo el material ganglionar, al contrario de lo que sucede en la IHQ que examina sólo una pequeña porción del ganglio; de este modo, el resultado obtenido respecto a la existencia o no de MM es representativo de todo el material linfático procesado.

3.2.3.a) One Step Acid Nucleic Amplification (OSNA)

Recientemente se ha empezado a implementar este método estandarizado para la detección de metástasis en el ganglio linfático, que tiene las siguientes características: alta sensibilidad y especificidad diagnósticas; alta reproductibilidad; rapidez; y alto nivel de automatización.

El método OSNA se basa en una RT-LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) y consiste en una transcripción reversa de mRNA de Citoqueratina 19 (CK 19) con amplificación de cADN evitando los pasos de extracción y purificación de ácidos nucleicos. La reacción se desarrolla a temperatura isotérmica (65º C) y el tiempo de amplificación es de 16 minutos por muestra. El escaso tiempo requerido por procedimiento, alrededor de 30 minutos, permite realizar un diagnóstico en poco tiempo y con poco personal dedicado al mismo.

Por otra parte el OSNA permite el estudio del ganglio linfático en su totalidad, evitando lo incompleto de la exploración del tejido ganglionar con cualquier otro procedimiento histológico por exhaustivo que sea.

3.3. Relevancia clínica y perspectivas

La determinación de MM en el ganglio linfático se ha abordado desde diferentes técnicas que van desde la multisección en la histopatología convencional, pasando por técnicas más sensibles de tinción como la IHQ hasta técnicas moleculares más sofisticadas como los ensayos con distintas modalidades de PCR, y últimamente la técnica OSNA. Dentro de una misma técnica se han utilizado diversos marcadores con distintas sensibilidades y la metodología también difiere según cada grupo.

Por otro lado, algunos de los trabajos publicados son series de casos muy cortas en los que a pesar de obtener resultados prometedores, éstos no se han correlacionado con la evolución clínica.

Un metanálisis publicado por Iddings muestra la significación pronóstica de la determinación de MM en pacientes afectados de CCR. Los pacientes con evidencia de MM mediante RT-PCR tienen una supervivencia menor que los pacientes sin MM ($p < 0.01$) (Iddings D et al. 2006). Existe más variabilidad entre los grupos que utilizan técnicas de IHQ y ello parece ser el resultado de la falta de estandarización de la metodología.

Según los datos disponibles, existe evidencia suficiente para afirmar que la determinación de MM por alguna de las técnicas expuestas anteriormente es motivo suficiente para aplicar quimioterapia complementaria a los pacientes clasificados como N0 por la histopatología convencional, que pasarían a considerarse pN1 (mic). No ocurre lo mismo tras la detección de CTA, que siguen considerándose pN0.

Todos los autores coinciden en que son necesarios estudios multicéntricos, controlados, que incluyan un gran número de pacientes, con seguimiento a largo plazo, análisis de la supervivencia y con estandarización tanto de la técnica de identificación de los ganglios linfáticos del meso cólonico y rectal, como de las técnicas específicas empleadas para determinar las MM. Sólo así se podrá establecer qué pacientes N0 se beneficiarían de la quimioterapia adyuvante.

4. MAPEO LINFÁTICO Y GANGLIO CENTINELA

4.2. Definición de GC

Morton lo definió como “el ganglio linfático inicial donde el tumor primario drena” (Morton et al, 1992).

Debido a que el término “inicial” llevó a confusión, la definición fue posteriormente cambiada a “el ganglio en el trayecto linfático directo del tumor primario”.

Desde entonces han surgido varias definiciones en relación con la multidisciplinariedad de las distintas técnicas:

- “El GC es el más próximo al tumor primario”.. Es válida si el ganglio linfático más cercano al tumor recibe directamente el drenaje linfático desde el tumor (Nieweg et al, 2004).
- “GC es todo ganglio que se tiñe con el colorante inyectado”: Si se tiene en cuenta que los colorantes no son retenidos en los ganglios linfáticos y que de esta manera se acaban tiñendo todos los ganglios en su camino, este concepto no deja de ser confuso
- “El GC es el primero que se ve en la linfogammagrafía”. Esta definición no tiene en cuenta la posibilidad de que dos ganglios puedan recibir el drenaje linfático directamente desde el lugar de la inyección.
- “El GC es aquél que mayor actividad radiactiva acumula”. Algunos ganglios linfáticos pueden dejar pasar mayor cantidad de la sustancia inyectada a través de ellos y puede que ésta se acumule en un ganglio linfático que no reciba drenaje directo del tumor. Además un ganglio linfático afectado por células tumorales puede tener dificultad para la llegada del radiotrazador. (Nieweg et al, 2004).
- “GC es cualquier ganglio con actividad radiactiva”. Según esta definición habría que extirpar demasiados ganglios. Hay cirujanos que han extirpado hasta 14 ganglios de un territorio axilar y los han definido como ganglios centinela (Nieweg et al, 2004).

- Otra aproximación al concepto del GC es limitar la actividad radiactiva por encima de la cual consideramos a un ganglio como tal. Uno de los métodos es comparar la actividad del ganglio linfático con la actividad de fondo en los tejidos circundantes. La cantidad de actividad en un ganglio depende de muchos factores: uno de los más importantes es el tipo de molécula marcada utilizada para su detección. Además influyen otros factores dependientes del paciente y que no podemos modificar. Por tanto la cantidad de actividad radiactiva es muy variable: entre 0.001% y 2.5% de la actividad inyectada en estudios de cáncer de mama y entre el 0.0013% y el 6.8% en estudios en melanoma (Nieweg et al, 2004). Existe además una dificultad para definir dónde debe medirse la actividad de fondo. Esta definición es la elegida por nosotros en nuestro estudio.

4.3. Sustancias utilizadas en la identificación del ganglio centinela

4.3.1. COLORANTES

Los colorantes más utilizados en la detección del ganglio centinela son el azul de isosulfán, el azul patente V y el azul de metileno.

Con la inyección de azul de isosulfán, Morton localizó el GC en el 81.8% de los 237 territorios estudiados en pacientes con melanoma y Giuliano (Giuliano et al, 1994) en 1994 fue inyectando en una solución al 1% en 174 pacientes con cáncer de mama, localizando el GC en el 65.5% (posteriormente mejoró sus resultados)

Tras la inyección el colorante se une a las proteínas locales, especialmente a la albúmina y es absorbida por los linfáticos. Este colorante presenta efectos adversos, como la interferencia en las lecturas del pulsioxímetro, tatuaje de la piel e incluso se han descrito casos de anafilaxia (Efron et al, 2002; Albo et al, 2001). La incidencia de reacciones alérgicas varía entre el 1% y el 2% (Albo et al, 2001; Cimmino et al, 2001).

El azul patente V se utiliza en la biopsia selectiva del GC en el Reino Unido. El mecanismo de unión a proteínas es muy similar al azul de isosulfán (Tsopelas et al, 2002) y con similares efectos adversos (Mullan et al, 2001).

En 2001 el primer estudio publicado utilizando azul de metileno (Simmons et al, 2001) para la identificación del GC en pacientes con cáncer de mama alcanzó unas tasas de detección del 90%, resultado comparable con el azul de isosulfán y el azul patente. No obstante, el azul de metileno presenta también efectos adversos como la interferencia con el pulsioxímetro aunque en menor medida que otros colorantes (Piñero et al, 2004). En España es más accesible y mucho más barato: 1.13 euros por vial frente a 186.7 euros el azul de isosulfán (Piñero et al, 2004).

4.3.2. RADIOTRAZADORES

La utilización de los radiotrazadores en la detección intraoperatoria del GC comienza en 1993 (Alex et al, 1993), cuando Alex utiliza sulfuro coloidal marcado con ^{99m}Tc para

localizar el GC en pacientes con melanoma. Para ello utiliza una sonda gammadetectora portátil.

Se han utilizado multitud de radiotrazadores en la linfogammagrafía para la detección del GC (dextranos, albúmina sérica humana y multitud de coloides), la mayor parte de ellos marcados con ^{99m}Tc (Wilhelm et al, 1999). En Europa los más utilizados son los nanocoloides de albúmina menores de 80 nm marcados con ^{99m}Tc , aunque se han utilizado muchos otros.

Para visualizar el GC dependemos del transporte del trazador utilizado desde el lugar de la inyección a los ganglios linfáticos. Cuando las partículas radiomarcadas alcanzan el ganglio linfático son fagocitadas por los macrófagos y retenidas. Hay varios aspectos importantes en este proceso, como el tamaño y número de partículas y la dosis inyectada.

Considerando el tamaño, las partículas muy pequeñas viajan a través de los ganglios linfáticos tan rápido que no es posible detectarlas. Las partículas menores de 5 nm pueden penetrar por las membranas de los capilares y alcanzar el torrente sanguíneo, mostrando captación en bazo e hígado. Las partículas mayores de 100 nm pueden quedar atrapadas en el espacio intersticial sin alcanzar el sistema linfático y así subestimar el número de ganglios centinela (Whilhelm et al, 1999). Las partículas con tamaños comprendidos entre 10 y 50 nm son las que se consideran óptimas para la visualización de los ganglios linfáticos (Strand et al, 1989). Los tamaños de las partículas más frecuentemente utilizadas se representan en la Tabla 7 (modificada de Nieweg et al).

Tabla 7: Tamaños de las partículas utilizadas en la identificación del ganglio centinela

^{99m}Tc -Albúmina sérica humana	2-3 nm
^{99m}Tc -Dextrano	2-3 nm
^{99m}Tc -DTPA-manosil dextrano	6-8 nm
^{99m}Tc -Sulfato de antimonio	3-30 nm
^{198}Au -Coloide	5-30 nm
^{99m}Tc -Sulfuro coloidal filtrado	15-50 nm
^{99m}Tc -Nanocoloides de albúmina	5-80 nm
^{99m}Tc -Coloide de renio	50-100 nm
^{99m}Tc -Sulfuro coloidal	100-400 nm
^{99m}Tc -Fluoruro de estaño	50-600 nm
^{99m}Tc -Fitato de estaño	200-1000 nm
^{99m}Tc -Microcoloide de albúmina.	200->1000 nm

El segundo factor que influye en la identificación del GC es el número de partículas inyectadas y su concentración. Teniendo esto en cuenta, si se modifica la concentración de ^{99m}Tc -nanocoloides reduciendo el volumen de inyección de 4 ml a 2 ml aumenta la actividad radiactiva en los ganglios en la mayoría de pacientes con cáncer de mama, si bien aumenta la visualización de trayectos linfáticos (Valdés-Olmos et al, 2001).

El tercer factor es la dosis inyectada. Entre 40 y 80 MBq parece ser la dosis ideal en el melanoma, y entre 60 y 80 MBq si la cirugía se realiza el día después de la inyección (Nieweg et al, 2004). En el cáncer de mama se precisan dosis mayores de 100 MBq si la inyección es intraparenquimatosa. Se ha calculado que el riesgo de no identificar el GC

disminuye progresivamente al aumentar la dosis inyectada desde 60 MBq a más de 120 MBq (Tanis et al, 2002).

Hasta la fecha existen publicados dos casos de reacciones alérgicas a los radiotrazadores (Burton et al, 2003; Chicken et al, 2007).

4.3.3. TÉCNICA COMBINADA

No existe un consenso sobre cuál es la técnica ideal en la identificación de GC. Tanto las técnicas basadas en colorante como en la utilización de radiotrazadores han sido ampliamente utilizadas y han ofrecido resultados satisfactorios. Dependiendo de la localización del tumor primario es posible realizar una combinación de ambas técnicas, inyectando el día antes de la cirugía el radiotrazador y el colorante el mismo día.

4.4. Técnicas de identificación del GC

4.4.1. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA “IN VIVO”

En el momento de la intervención quirúrgica se procede a la inyección subserosa en los cuatro cuadrantes peritumorales del colorante o bien del radiotrazador. El colorante o radiotrazador se distribuye por las cadenas linfáticas siendo atrapado por los ganglios

linfáticos. Estos son considerados los GC. La identificación de los GC se realiza en el campo quirúrgico.

4.4.2. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA “EX VIVO”

La inyección del colorante se realiza tras la resección de la pieza quirúrgica mediante inyección subserosa peritumoral. Posteriormente la pieza es masajeadada durante cinco minutos y se debe explorar el mesenterio dentro de los 30 primeros minutos para identificar los GC. Esta técnica no incrementa el tiempo quirúrgico, se puede realizar de forma estandarizada y se evitan efectos adversos a los colorantes (urticaria, reacción anafiláctica, interferencia con la pulsioximetría). Tiene mayor tasa de detección de CG que la técnica “in vivo” (van der Zaag, 2012).

4.4.3. TÉCNICA DEL GANGLIO CENTINELA MIXTA

La inyección del colorante vital o radiotrazador se realiza “in vivo” en el momento de la intervención quirúrgica o previamente, pero la identificación de los GC se realiza tras la resección de la pieza quirúrgica, mediante estudio de campo en la sala de quirófano y puede ser realizado por un cirujano con experiencia o bien por un patólogo.

III. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

A pesar de los adelantos en el diagnóstico y tratamiento del CCR, éste sigue siendo la tercera causa de muerte por cáncer.

La afectación ganglionar es el factor pronóstico más importante cuando no hay metástasis a distancia y supone un punto fundamental en la decisión de instaurar quimioterapia adyuvante en estos pacientes. Así, el tratamiento principal del CCR no metastásico es la resección quirúrgica del tumor primario con exéresis en bloque de los ganglios regionales mesentéricos. Esta linfadenectomía se hace para aumentar el control locorregional de la enfermedad y conseguir un estadiaje oncológico y planteamiento terapéutico.

La AJCC recomienda al menos 12 ganglios extraídos del espécimen quirúrgico para una correcta estadificación. Este número no siempre se alcanza, habiendo estimaciones de que el 50% de pacientes en la práctica diaria no cumple este requisito (Mitchell PJ et al. 2009), lo cual supone un infraestadiaje. Un 30% de pacientes con CCR precoz sin afectación ganglionar tendrán recurrencia de su enfermedad, potencialmente curable, tras resección curativa y radical. Además de una incompleta resección quirúrgica como causa de dicha recurrencia, una inadecuada valoración ganglionar puede ser la causa de una supuesta infraestadificación y por tanto de un inadecuado esquema terapéutico.

El tratamiento con quimioterapia de los enfermos con ganglios infiltrados ha mejorado la supervivencia disminuyendo la mortalidad en más del 30%.

En 2004 la tasa de supervivencia en estadios IIB (T4N0M0) era menor que en pacientes con estadio IIIA (T1 ó T2 N1M0) con 72,2% respecto a 83,4%. Esto sugería que la alta tasa de recurrencia en estadios IIB podría ser debida a la no detección de metástasis linfáticas durante el estudio histológico convencional (O'Connell JB et al. 2004; Iddings D et al. 2006).

La exactitud predictiva del estadiaje TNM aumenta con la incorporación de nuevos factores pronóstico. Esto es de especial relevancia en los pacientes con estadio II, para identificar a los pacientes que se van a curar con cirugía sola.

El estudio anatomopatológico convencional tiene menor sensibilidad que los cortes seriados, IHQ y RT-PCR en la identificación de enfermedad metastásica de pequeño tamaño. La detección de micrometástasis en ganglios linfáticos con estos métodos más sensibles podría explicar algunas de las recidivas neoplásicas no esperables en estadios precoces del CC. Estos hallazgos nos darían una información útil que permitiría un estadiaje ganglionar más exacto, más en consonancia con la evolución clínica, y un manejo terapéutico más adecuado de estos pacientes.

Lo ideal sería poder emplear estas técnicas más sensibles en todos los ganglios extraídos del espécimen quirúrgico pero sería muy caro y con un consumo de tiempo y de recursos humanos inasumible en la práctica diaria.

El ganglio centinela ofrece una solución a dicho problema asumiendo que es predictor del estado ganglionar del resto de los ganglios de la pieza quirúrgica. Así, el patólogo se

puede volcar en estudiar con mayor detalle y profundidad la afectación metastásica de estos ganglios.

2. HIPÓTESIS

La BSGC en CC es un método viable y seguro. Es capaz de predecir la afectación ganglionar de los ganglios del espécimen quirúrgico.

El SE con H-E ser, IHQ y RT-PCR de un pequeño número de ganglios linfáticos seleccionados (GC) de la linfadenectomía estándar en la cirugía del CC permite mejorar la estadificación y modifica las decisiones terapéuticas. Es capaz de diagnosticar las MM y CTA que aparecen en la 6ª Ed. de la clasificación TNM con más precisión que el EC, haciendo así que algunos pacientes pasen a formar parte de estadio mayor que el que les correspondía por el EC.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

Comprobar si el SE del grupo en el que se realiza la BSGC mejora la estadificación de los pacientes con respecto al grupo control en el que sólo se realiza el EC de toda la linfadenectomía.

3.2. Objetivos secundarios

1. Valorar la relevancia clínica de la posible supraestadificación aportada por el SE.
2. Estudiar la relación coste-efectividad del SE.
3. Valorar la capacidad del estudio histopatológico para diagnosticar MM y CTA como aparece en TNM desde 6ª Ed.
4. Repercusión del estudio intensivo del GC en la práctica clínica.

IV. MATERIAL Y MÉTODO

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se ha llevado a cabo un estudio experimental de tipo quasiexperimental prospectivo que valora la intervención del superestudio del ganglio centinela en el grupo estudio comparado con el estudio histopatológico estándar del grupo control.

Por un lado está el grupo estudio que consta de una cohorte de pacientes diagnosticados de cáncer de colon intervenidos quirúrgicamente de forma electiva mediante colectomía laparoscópica o abierta y linfadenectomía oncológica estándar, en los que se ha realizado un estudio con identificación del ganglio centinela y análisis exhaustivo de los ganglios linfáticos centinela y de un subgrupo no centinela (aleatoria) mediante cortes seriados, IHQ y OSNA® en la estadificación de dichos pacientes; por otro lado está el grupo control de pacientes operados por el mismo diagnóstico, con los mismos criterios de exclusión en el mismo periodo de tiempo y mismo Centro a los que se les realiza la cirugía estándar con EC de la linfadenectomía, con recogida de los datos de forma prospectiva.

2. ÁMBITO

2.1. Centro

El presente estudio se ha llevado a cabo en el Hospital Universitario de Fuenlabrada. Este centro posee un área de influencia inmediata de 220.300 habitantes (fecha de referencia 1 Enero 2014; Fuente: Instituto Nacional de Estadística, INE) de los cuales 195.864 pertenecen a Fuenlabrada y el resto a Humanes de Madrid y Moraleja de Enmedio.

2.2. Servicios implicados

En el trabajo participan, con mayor o menor implicación, especialistas de Cirugía General y del Aparato Digestivo, Anatomía Patológica, Medicina Nuclear, Oncología Médica y Oncología Radioterápica. Asimismo se tiene en cuenta la decisión del Comité de Tumores.

3. POBLACIÓN

La población del grupo estudio incluyó pacientes diagnosticados de CC e intervenidos quirúrgicamente de forma electiva desde Octubre 2010 hasta Marzo 2014 (3'5 años)

mediante colectomía laparoscópica o abierta y linfadenectomía oncológica estándar, en los que se llevó a cabo mapeo linfático con radioisótopo y detección de ganglio centinela en el Hospital Universitario de Fuenlabrada. No se reclutan todos los pacientes intervenidos de cáncer de colon, sino los que cumplen los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión del protocolo del estudio (ver abajo) y son intervenidos por los cirujanos expertos en la técnica de la BSGC. El reclutamiento se ha llevado a cabo de forma prospectiva y sucesiva sin planificación de soluciones de continuidad temporal, conforme los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente por los cirujanos que formaban parte del estudio.

Por otro lado, el grupo control está formado por pacientes con el mismo diagnóstico de CC que cumplen los mismos criterios de inclusión intervenidos durante el mismo periodo de tiempo en el mismo Centro y no entraban en el grupo de BSGC. Todos intervenidos por los cirujanos miembros de la Sección de Coloproctología del Hospital.

4. MUESTRA

Se ha hecho una estimación muestral teniendo en cuenta que la detección de micrometástasis en el grupo control es del 1%, una detección de ganglio centinela con supraestadificación del 7,7%, una confianza del 80%, una potencia estadística del 80% y un porcentaje de pérdidas del 1%. Así se ha estimado necesario estudiar 69 pacientes en cada grupo.

En el Hospital de Fuenlabrada se han intervenido 435 pacientes por cáncer colorrectal (excluyendo los intervenidos por carcinomatosis peritoneal de origen colorrectal) entre Enero de 2010 y Diciembre de 2014; una media de 87 casos por año, de los que un tercio son de recto (media casos/año: 58 colon, 29 recto). Por tanto en el período de estudio (3'5 años) se han intervenido 203 pacientes con cáncer de colon (58 casos/año x 3'5 años), descartándose para el estudio aproximadamente un 20% de ellos por tratarse de intervenciones urgentes.

5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

5.1. Criterios de inclusión

- Pacientes con edad superior a 18 años diagnosticados de neoplasia de colon.
- Estadio clínico 0, I , II , III y IV.
- Pacientes intervenidos con criterios de radicalidad (intención curativa).
- Cirugía electiva.

La inclusión final está condicionada a que exista un diagnóstico de confirmación de adenocarcinoma en la pieza de resección quirúrgica del tumor primario. El estudio del ganglio centinela en el estadio IV no tiene relevancia clínica, pues no determina cambios en el tratamiento, pero puede usarse perfectamente para ver si aporta algún dato al diagnóstico.

5.2. Criterios de exclusión

- Tumores de recto: la detección de ganglio centinela es muy inferior, en lo que influyen de forma determinante el tratamiento radioquimioterápico preoperatorio y la situación anatómica.
- Rechazo del consentimiento informado (en el grupo de la BSGC).
- Tumores diferentes al adenocarcinoma: por tener un patrón distinto de diseminación linfática.
- Tumores apendiculares: por el mismo motivo.
- Cirugía paliativa: no se realiza disección linfática.
- Intervención quirúrgica de emergencia: imposible preparar el dispositivo para el mapeo linfático. Suponen aproximadamente un 20% de los pacientes intervenidos por cáncer de colon cada año.
- Intervenciones realizadas por cirujanos no involucrados en el estudio (en el grupo estudio).

6. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO. MAPEO LINFÁTICO Y GANGLIO CENTINELA

Todos los pacientes de la serie son sometidos a cirugía oncológica estándar. En el grupo de estudio se lleva a cabo, previa a la cirugía, la inyección peritumoral “in vivo” del isótopo, obteniéndose un espécimen quirúrgico que consiste en el tumor principal con la linfadenectomía locorregional convencional. Se identifica “ex vivo” el ganglio

centinela con gammacámara. Al departamento de Anatomía Patológica se envían dos muestras en recipientes separados. Uno de ellos en formol con el tumor principal y la linfadenectomía correspondiente y otro en fresco con la pieza denominada “ganglio centinela”. En el grupo control la cirugía es la habitual sin la determinación del GC, enviando a Anatomía Patológica una única pieza.

6.1. Descripción de la técnica de la BSGC

El procedimiento quirúrgico se realiza con abordaje laparoscópico o mediante técnica abierta (laparotomía), según criterio del cirujano. Una vez localizado el tumor primario se procede a inyectar de forma intraoperatoria (“in vivo”) el radiofármaco Nanocoloide de albúmina (tamaño de partícula \pm 80nm) marcado con ^{99m}Tc (Dosis: 3 mCi diluidos en 0,8 ml; dosis: 185 MBq). La inyección se realiza en los cuatro puntos cardinales de la subserosa peritumoral, con aguja subcutánea (técnica abierta) o aguja de punción lumbar de 22 F (laparoscópica).

Para permitir la migración del isótopo de la forma más fisiológica a través de los conductos linfáticos peritumorales hasta la primera estación linfática no se procede a la ligadura de los pedículos vasculares principales hasta pasados 15-20 minutos de la punción del isótopo. Para esto el colon es movilizado cuidadosamente sin lesionar los canales linfáticos. Pasado este tiempo se continúa con la técnica quirúrgica habitual según criterios oncológicos establecidos.

Una vez finalizada la resección quirúrgica y extraído el espécimen se procede a la detección e identificación del ganglio centinela mediante gammacámara portátil (Sentinella 102). Dicho procedimiento es llevado a cabo “ex vivo” por el cirujano y por el médico especialista en Medicina Nuclear experimentado en este campo. Con la minigammacámara se adquieren imágenes de 60 segundos sobre la muestra “ex vivo” para localizar el depósito del coloide en algún ganglio linfático regional y, con la sonda, se identifica el tejido linfático con la mayor tasa de cuentas por segundo. Se considera actividad de fondo una tasa de cuentas del 10% de la tasa de cuentas del ganglio centinela. El contaje de la radioactividad es positivo si es dos veces la actividad considerada de fondo.

Tras la extracción de la pieza quirúrgica se adquiere una imagen en el lecho quirúrgico para comprobar que no queda ningún depósito de trazador, descartando así rutas de drenaje linfático aberrante, esto es, ganglios fuera del área de resección oncológica habitual.

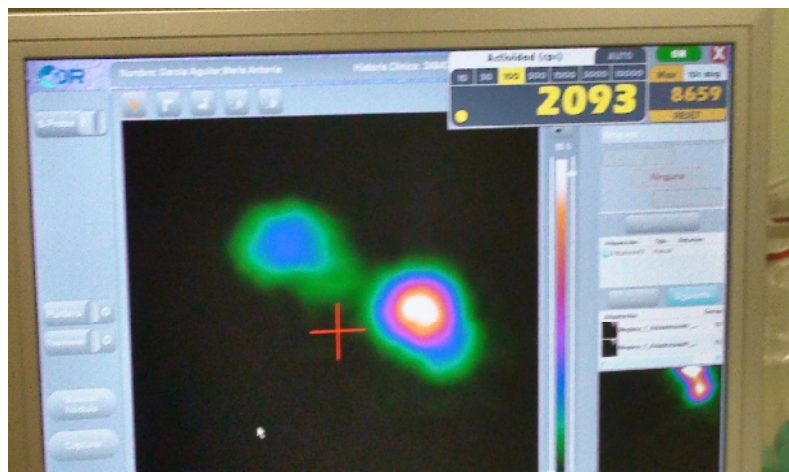


Figura 4: Dos imágenes de la Gammacámara con la imagen del ganglio centinela



Figura 5: Detección “ex vivo” del ganglio centinela sobre el espécimen quirúrgico

Una vez tenemos identificado el ganglio centinela se procede a la extirpación de la zona del mesocolon (pastilla de unos 2 cm³) en la que se ha detectado la mayor tasa de cuentas y en la que se espera que se encuentre la primera estación linfática de drenaje del tumor (ganglio centinela). Este ganglio centinela se remite al departamento de Anatomía Patológica como pieza independiente y en fresco. El resto del espécimen quirúrgico (neoplasia con linfadenectomía oncológica estándar) se procesa según protocolo habitual de cáncer colorrectal, a excepción de un ganglio linfático obtenido aleatoriamente del mesocolon. Éste será procesado también según protocolo de ganglio centinela (superestudio) y se le denomina ganglio no centinela.

Así, consideramos ganglio centinela al ganglio linfático que, con el sistema de detección gamma, emite mayor tasa de cuentas y está más próximo a la lesión primaria.

6.2. Gammacámara portátil Sentinella 102

El equipo Sentinella 102 es una cámara gamma portátil que proporciona imágenes de órganos pequeños y de áreas específicas del organismo a partir de la detección de los rayos gamma emitidos por los radioisótopos inyectados en el paciente. Estos radioisótopos permiten la detección efectiva de la expansión linfática del tumor. La alta resolución y sensibilidad del equipo Sentinella 102 posibilitan la obtención de imágenes en tiempo real y por tanto permiten conseguir una imagen funcional en cirugía.

Sentinella 102 ha sido extensamente probada en la detección del ganglio centinela en cáncer de mama, melanoma y en tumores de cabeza y cuello (especialmente patologías de tiroides y paratiroides), demostrando una alta fiabilidad.



Figura 6: Cámara del equipo Sentinella 102

7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA QUIRÚRGICA

En el estudio participan tres médicos y dos técnicos especialistas en Anatomía Patológica. Estos médicos, asistidos por los técnicos, reciben el ganglio centinela y el resto de la muestra.

En la pieza del ganglio centinela, los patólogos disecan manualmente los ganglios linfáticos presentes (generalmente mas de uno), los etiquetan, miden y pesan.

En el resto de la pieza quirúrgica se realiza el estudio anatomopatológico mediante un protocolo anatomopatológico específico, que incluye la fijación en formol durante 48 a 72 horas previa al tallado del tumor y disección de los ganglios linfáticos (no centinelas) de la linfadenectomía.

Sobre todos los ganglios aislados (incluido el ganglio centinela) se realiza estudio anatomopatológico con tinción H-E estándar según protocolo habitual de nuestro Centro.

Además, sobre los ganglios centinela y sobre dos seleccionados aleatoriamente del grupo no centinela, después de obtener los resultados del estudio de los cortes estándar teñidos con H-E (estudio convencional), se realiza el denominado “superestudio” mediante H-E en cortes seriados, IHQ y OSNA® (sólo realizado en ganglios centinela con peso suficiente).

En el grupo control el procesado de la muestra es el estándar para el estudio histopatológico de las piezas de CC como se describe en el EC.

7.1. Estudio convencional

- Antes de la fijación en formol:
 - Se teñirán con tinta china:
 - El margen radial de la pieza en caso de cercanía del tumor, valorado por palpación y visualización externa.
 - Los márgenes mucosos en caso de cercanía del tumor.
 - La superficie serosa en caso de sospecha macroscópica de afectación por el tumor.
 - Se abrirá la pieza segmentaria por su eje longitudinal de la forma que afecte menos a la integridad del tumor. Si esta valoración fuera a verse seriamente perjudicada se abriría longitudinalmente toda la pieza salvo la zona del tumor.
 - Se medirá en fresco el tamaño de la pieza y, si es posible en función del grado de apertura longitudinal de la pieza, el tamaño del tumor y su distancia a márgenes proximal y distal.
 - Se tomará un corte en fresco del tumor y otro de mucosa normal para congelación a -86° C, si procede, siguiendo protocolo de toma de muestras para el Banco de Tumores.

-
- Se colocará opcionalmente la pieza sobre un corcho sujeta con alfileres, dando algunos cortes no transmurales al tumor si por su tamaño fuese necesario para su fijación.

 - Se procederá a su fijación en formol durante 48-72 horas.

 - Tras la fijación:
 - Selección de bloques de tejido para el estudio microscópico: al menos cinco cortes del tumor, incluyendo: al menos un corte con su interfase con la mucosa no tumoral, al menos un corte en relación con la serosa visceral más involucrada, si procede, y al menos tres cortes de las zonas de máxima invasión (idealmente cinco cortes).

 - Márgenes quirúrgicos:
 - Proximal y distal: sólo es necesario su estudio microscópico si se encuentran macroscópicamente a menos de 5 cm del tumor. En caso de carcinoma sobre Enfermedad Inflamatoria Intestinal se incluirán siempre. En función de la mayor o menor cercanía del tumor con estos márgenes se tomarán cortes perpendiculares o paralelos a los mismos.
 - Un corte representativo de cada ganglio con tumor macroscópicamente evidente. En este caso es recomendable guardar el resto del ganglio en

formol de manera que pueda identificarse en caso de necesidad de reinclusión.

- Inclusión total de los ganglios linfáticos sin evidencia macroscópica de metástasis: sin partir si miden menos de 3 mm; en lonchas de 3 mm por su eje longitudinal si miden más de 3 mm.

7.2. Superestudio

Sobre los ganglios centinela y sobre otros dos seleccionados aleatoriamente del grupo no centinela en el grupo estudio, después de obtener los resultados del estudio de los cortes estándar teñidos con H-E (estudio convencional), se realiza el denominado “superestudio” por un patólogo distinto al del estudio estándar, quien realiza H-E en cortes seriados, IHQ y análisis del mRNA de célula tumoral mediante OSNA[®] (sólo realizado en los ganglios centinela que cumplen criterios técnicos suficientes, no se realiza en el subgrupo “no centinela” seleccionado para el superestudio), sin conocer los resultados de la H-E estándar. Cada ganglio se procesa individualmente según “protocolo ganglio centinela-superestudio”. De cada ganglio centinela identificado en fresco de más de 80 mg se procesa una mitad para la técnica de OSNA[®] y la otra se fija en formol e incluye en parafina. Los ganglios linfáticos de menos de 80 mg se fijan en formol en su totalidad e incluyen en parafina.

La grasa restante acompañante se fija en formol e incluye en su totalidad en parafina para poder localizar microscópicamente ganglios adicionales.

7.2.1. PROCESADO DE LA MUESTRA

Según el diámetro del ganglio linfático:

1. Menos de 4 mm: se biseccionan. Por debajo de este límite es muy probable que no se localicen en la disección manual del patólogo, pasen desapercibidos y por lo tanto, sean descubiertos tras la inclusión en parafina.
2. Mayor de 4 mm: se dividen en rodajas iguales a intervalos de 1 ó 2 mm, dependiendo del tamaño.

La mitad de estas secciones (no adyacentes entre sí) se utilizan para el análisis molecular OSNA[®] y la otra mitad para el estudio con cortes seriados de HE e IHQ.

Si el material seleccionado para estudio molecular tuviera un peso inferior al umbral de 40 mg se procesará también en parafina para estudio corte seriado-HE e IHQ, ya que no es posible el estudio de mRNA.

7.2.2. TINCIÓN DE H-E SERIADA E INMUNOHISTOQUÍMICA

Se realiza un estudio exhaustivo realizando seriación del ganglio, fijado previamente en formol e incluido en parafina, a tres niveles: con cortes a 0, 200 y 400 micras y para cada nivel se obtienen dos preparaciones histológicas con entre seis a ocho secciones

histológicas cada porta; un porta de cada pareja se tiñe con H-E y el otro porta se tiñe con IHQ de CK AE1/AE3 (cóctel de pancitoqueratinas de alto y bajo peso molecular denominado CK AE1/AE3, que incluye CK1 + CK2 + CK3 + CK4 + CK5 + CK6 + CK7 + CK8 + CK10 + CK14 + CK15 + CK16 + CK19; con este cóctel no pasa desapercibido ningún tipo de célula epitelial, tenga el perfil fenotípico que tenga).

Se realiza la tinción IHQ si los cortes teñidos con H-E son negativos a depósitos tumorales.

Las categorías del resultado de la IHQ son:

- Negativo: ausencia de células neoplásicas.
- Células tumorales aisladas: depósitos tumorales metastásicos de <0,2 mm o constituidos por < 200 células neoplásicas.
- Micrometástasis: depósitos tumorales metastásicos de entre 0,2 y 2 mm o constituidos por más de 200 células.
- Macrometástasis: depósitos tumorales metastásicos de > 2 mm.

7.2.3. AMPLIFICACIÓN DE mRNA DE CK 19 CON EL MÉTODO ONE STEP ACID NUCLEIC AMPLIFICATION

El OSNA[®] es un método molecular de detección de células tumorales basado en la medición cuantitativa del mRNA de la CK-19 usado como marcador en el cáncer de colon gracias a su elevada expresión en las células tumorales.

Si el material seleccionable para estudio molecular tuviera un peso inferior al umbral de 40 mg o un tamaño menor de 4 mm no sería posible el estudio molecular y el tejido se procesaría íntegramente en parafina para estudio corte seriado-HE e IHQ.

Si el método OSNA[®] no se pudiera llevar a cabo antes de 30 minutos desde la resección quirúrgica, las secciones se congelarán por inmersión directa en isopentano enfriado en Histobath[®] a temperaturas en torno a -50°C, y a continuación se almacenan a -80°C en un arcón congelador hasta que pueda aplicarse el método OSNA[®].

Se realiza una medida semicuantitativa y cuantitativa del mRNA CK19 que detecta macrometástasis y micrometástasis. Puede analizar hasta cuatro ganglios a la vez.

Preparación de la muestra (ganglio centinela) para el análisis OSNA:

- Cuando llega el ganglio al Servicio de Anatomía Patológica, el patólogo lo secciona en dos mitades procediendo a hacer extensiones de cada cara del ganglio para tinciones de Papanicolau y Giemsa rápido.
- Se limpia el ganglio de todo el exceso de grasa y así se evita que contamine la muestra.
- Cada ganglio se pesa en una báscula de precisión. El peso debe encontrarse entre 40 y 600 mg por razones técnicas propias del OSNA[®]. Si lo sobrepasa se dividirá en dos partes o más y se realizará el proceso como si fueran dos o más ganglios.
- El material ganglionar se introduce en un tubo con 4 ml de Lynorhag; después se bate y homogeniza hasta que queda totalmente líquido (90 segundos a 25.000 rpm).

- 1 ml del material batido se echa en un tubo de Eppendorf estéril y se centrifuga. De este modo conseguimos separar grasa (que se queda en la parte superior del tubo), DNA (que se queda en la parte inferior del tubo) y RNA (se queda en la parte central).
- Cogemos 500 μ l de RNA, atravesando la grasa con una pipeta y asegurándonos de no coger DNA.
- De estos 500 μ l de RNA cogemos 20 μ l, los necesarios para nuestra técnica y los mezclamos con 180 μ l de Lynorhag en un vial que tendrá como destino la máquina de análisis RD-100i®.
- Necesitamos una muestra aún más diluida por si el análisis en la primera parte resultara sospechosos de contaminación. Por lo tanto de este último tubo Eppendorf con 180 μ l Lynorhag + 20 μ l RNA sacamos 20 μ l que tendrán como destino otro tubo con 180 μ l de Lynorhag (muestra más diluida).

Los resultados se clasifican según número de copias detectadas en la muestra. Esto es:

- Mayor o igual a 5000 copias: resultado de macrometástasis.
- Mayor o igual a 250 copias y menor a 5000: resultado de micrometástasis.
- Menor de 100 copias: resultado negativo.
- Mayor o igual a 100 copias y menor a 250. El resultado es negativo. Sería positivo si la muestra diluida a 1:10 tiene más de 250 copias.

7.3. Interpretación del SE

El examen y diagnóstico anatomopatológico de las muestras procesadas con ambos métodos (H-E seriada + IHQ y OSNA[®]) se lleva a cabo de forma ciega e independiente por los patólogos del área de patología digestiva y distintos del responsable del estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica, quien sólo finalmente tiene acceso a la totalidad del material para efectuar el diagnóstico definitivo.

Los restantes ganglios linfáticos en el grupo estudio (a excepción de aquél que sigue el procesamiento igual al del ganglio centinela), tumor primario y los márgenes de resección se examinarán de acuerdo al procedimiento anatomopatológico estándar, así como la totalidad de la pieza del grupo control.

Resultados:

- **Células Tumorales Aisladas** (grupos de 10-20 células) o **Colonias Tumorales** (grupos de más de 20 células y de tamaño menor a 0,2 mm): grupos tumorales detectados de forma aislada o en grupos en la región subcapsular o intersticio, sin contacto con la pared de los senos y sin reacción estromal alrededor. Su detección no comporta cambio de la estadificación, pero se especificará como pN0(i+).
- **Micrometástasis:** acúmulo de grupos tumorales (o celulares) entre 0,2 y 2 mm. Sí modifica la estadificación: pN1(mi).
- **Metástasis:** afectación metastásica de más de 2 mm: pN1.

En ambos grupos las piezas de resección son analizadas por el Servicio de Anatomía Patológica según los criterios del UICC 2010.

Consideraremos afectación metastásica ganglionar (N+) si al menos un ganglio linfático está afectado por la neoplasia. No se diferenciará entre N1, N2 ó N3 para el análisis de estos resultados, pero la estadificación linfática exacta del paciente quedará reflejada en su historia clínica.

8. RECOGIDA DE INFORMACIÓN

La base de datos que se ha configurado para este estudio recoge un total de 83 variables por paciente que describen los parámetros clínicos, diagnósticos, técnicos, terapéuticos y evolutivos especialmente relevantes para el análisis de los datos.

Para evitar la aparición de errores sistemáticos durante la recogida de datos se ha procedido a categorizar sistemáticamente la mayoría de las variables cuantitativas de forma excluyente, con la intención de minimizar las probabilidades de error y homogeneizar el rango de valores posibles para cada variable.

Todos los parámetros estudiados contemplaban la posibilidad de presentar un “valor perdido” (“Missing value”) que es definido en las variables cualitativas como una categoría independiente y en las variables cuantitativas o temporales como un espacio en blanco, quedando esta información para el posterior análisis estadístico.

8.1. Información clínica

De cada uno de los casos incluidos en el estudio se recogió información relacionada tanto con el tumor como con el paciente:

8.1.1. FILIACIÓN

Nombre, número de historia clínica, sexo y fecha de nacimiento. Obtenidos de la historia clínica electrónica (programa informático Selene) del Hospital Universitario de Fuenlabrada.

A cada paciente se le asignó un número de caso correlativo en el momento de su inclusión en el estudio dentro de cada grupo.

8.1.2. INFORMACIÓN CLÍNICA

- a) Antecedentes personales, oncológicos y enfermedades concomitantes.
- b) Grado ASA en la valoración anestésica preoperatoria (clasificación del estado físico de la Sociedad Americana de Anestesiología). Se considera ASA I para pacientes sanos, ASA II para pacientes con enfermedad sistémica leve sin limitación funcional importante, ASA III para pacientes con enfermedad sistémica severa con limitación

funcional, ASA IV para pacientes con enfermedad sistémica severa que supone amenaza para la vida y ASA V para pacientes en fase terminal que no se espera que sobrevivan a la intervención.

- c) BMI o índice de masa corporal en el momento de inclusión.

- d) Datos clínicos preoperatorios relacionados con el tumor:
 - Datos analíticos: hemoglobina, hematocrito, albúmina, proteínas totales, marcadores tumorales (CEA o antígeno carcinoembrionario, Ca 19,9 o antígeno carbohidrato 19,9).
 - Localización del tumor.
 - Estadificación TNM clínico-radiológica: mediante TC multidetector de 16 detectores-válvulas. Así denominamos, en consenso con los radiólogos inmersos en nuestro estudio y especialistas en radiología oncológica abdominal, cTx al tumor desconocido, cT2 ó menor al tumor que invade la muscular sin sobrepasarla, cT3-4a al tumor que rompe la capa muscular, aunque no es posible discernir entre la invasión del espacio subseroso o infiltración y rotura de la serosa (no es posible distinguir entre T3 y T4a) y cT4b a la invasión de órganos o estructuras vecinas.
 - Descripción endoscópica del tumor.
 - Situación clínica local del tumor al diagnóstico (obstrucción, endoprótesis).

8.1.3. DATOS DE LA CIRUGÍA

- Técnica laparoscópica o laparotomía.
- Técnica quirúrgica resectiva.
- Éxito del mapeo linfático: determinar si el ganglio centinela es encontrado con éxito o no en el grupo estudio.
- Cirujanos expertos o no en la técnica de mapeo linfático en el grupo estudio (lo son los que tienen experiencia previa en detección del ganglio centinela en cirugía de mama y/o melanoma).

8.2. Datos anatomopatológicos

8.2.1. ESTUDIO CONVENCIONAL CON H-E

Datos obtenidos del informe anatomopatológico de cada espécimen:

- a) Tumor principal: siempre adenocarcinoma (tipo histológico).
 - Grado histológico.
 - Tamaño (pT). De acuerdo con la clasificación TNM (7ª Ed.).
 - Profundidad de los T3 en mm.
 - Espesor del tumor en cm.

- Aspecto macroscópico: exofítico, endofítico, polipoideo, circunferencial (> 75% de la circunferencia colónica).
 - Tipo de crecimiento: expansivo o infiltrativo.
 - Invasión vascular, linfática y/o perineural, según clasificaciónn TNM 7ª Ed.
 - Respuesta linfocitaria intratumoral y/o peritumoral tipo Crohn.
- b) Afectación ganglionar (pN). Incluye el estudio convencional del ganglio centinela. La afectación ganglionar se estudió según el número de metástasis ganglionares encontradas en cada paciente, dividiéndose en pNX, pN0, pN0i+, pN1 (a, b y c) y pN2 (a, b), según la clasificación TNM 7ª Ed. Se consideró a las micrometástasis ganglionares como ganglio con afectación tumoral. El hallazgo de células aisladas tumorales se describió como N0i+.
- Número total de ganglios analizados.
 - Número de ganglios positivos en relación con el número de ganglios analizados por paciente.
- c) Presencia de metástasis a distancia (M). Para determinar la presencia de metástasis a distancia se consideraron tanto los hallazgos intraoperatorios como los obtenidos mediante pruebas de imagen.
- d) Estadío tumoral. Se calculó el estadío tumoral, categorizándose, según la 7ª edición de la clasificación TNM, en estadío 0, estadío I, estadío IIA, estadío IIB, estadío IIC,

estadio IIIA, estadio IIIB, estadio IIIC y estadio IV tal y como se describe en la introducción.

8.2.2. SUPERESTUDIO EN EL GRUPO ESTUDIO

a) Datos sobre el ganglio centinela.

- Número de ganglios centinela encontrados y el porcentaje de éstos que están afectados por metástasis.
- Tamaño del ganglio centinela en cm (diámetro del ganglio de mayor tamaño del grupo de ganglios centinela).
- Peso del ganglio centinela en mg (peso del ganglio de mayor tamaño).
- Estudio específico del ganglio centinela (superestudio): H-E en cortes seriados, inmunohistoquímica (IHQ) y reacción en cadena de la polimerasa del RNA mensajero o PCR mRNA (OSNA®).

b) Datos del subgrupo no centinela: H-E en cortes seriados e inmunohistoquímica (IHQ).

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cualitativas estudiadas se describen con su distribución de frecuencia y se comparan con la prueba χ^2 de Pearson o con la prueba exacta de Fisher cuando no se cumplen las condiciones de aplicación (valores esperados en las celdas <5).

Las variables cuantitativas se describen con su media, su desviación estándar y sus intervalos de confianza al 95%. La asociación o independencia de las variables cuantitativas se ha estudiado con la prueba *t* de Student o U de Mann Whitney previo análisis de la normalidad de las distribuciones con la prueba de Saphiro-Wilks.

La comparación de variables cuantitativas con más de dos categorías se ha analizado con la prueba del análisis de la variancia (ANOVA). Si no se cumplían sus criterios de aplicación se usó la prueba no paramétrica de Kruskall-Walis.

Se ha hecho un estudio experimental de tipo quasiexperimental para comparar la estadificación conseguida con el superestudio del GC en un grupo de pacientes a los que se realiza una BSGC con la estadificación conseguida con el estudio histopatológico estándar del grupo control.

Se ha considerado patrón oro o gold standard diagnóstico al informe definitivo del patólogo de la pieza de la linfadenectomía.

La significación estadística entre las proporciones representativas de cada uno de los índices de validez de los diferentes diagnósticos se ha evaluado comparando la amplitud de los intervalos de confianza. Se consideró significación estadística un nivel $p < 0,05$. Se comparó la validez global del diagnóstico clínico entre el estudio habitual y el superestudio.

El efecto de la superestadificación con respecto al grupo control se ha evaluado con la Odds Ratio, su intervalo de confianza al 95% y la significación estadística.

Se diseñó una hoja de recogida de datos ad hoc y los datos se registraron en una base de datos relacional y normalizada diseñada en Access 7.0. El análisis estadístico se hizo con el programa estadístico SPSS 19.0 para Windows y el análisis epidemiológico con el programa EPIDAT v2.

10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

10.1. Recogida de datos

Se trata de un estudio experimental de tipo cuasiexperimental prospectivo con un grupo estudio en el que se realiza una intervención que se compara con el grupo control. En algunos pacientes no se han obtenido datos completos en todas las variables. Hemos obtenido la información disponible y los datos no registrados se han codificado como perdidos. Se ha valorado posteriormente si la proporción de datos no obtenidos de una

determinada variable era demasiado elevada como para realizar análisis estadísticos sobre ella.

10.2. Sesgo de verificación diagnóstica

El sesgo de verificación diagnóstica consiste en la determinación de la validez diagnóstica de forma sesgada si no se realiza el patrón oro a todos los pacientes y se da por sentado el diagnóstico de la prueba a evaluar como diagnóstico definitivo. Todos nuestros pacientes fueron evaluados con la prueba diagnóstica y el patrón oro por lo que hemos controlado el sesgo de verificación diagnóstica.

10.3. Sesgo de sospecha diagnóstica

El sesgo de sospecha diagnóstica consiste en la evaluación de las dos pruebas sin cegamiento y el diagnóstico por parte del patrón oro se hace conociendo el diagnóstico previo de la prueba a evaluar. Esto puede condicionar el resultado de la validez de la prueba. En nuestro caso el diagnóstico de la intervención y del estudio estándar se hicieron de forma ciega e independiente por lo que podemos garantizar el control de este sesgo de sospecha diagnóstica.

10.5. Sesgo por tamaño muestral

Se ha hecho una estimación de tamaño muestral para garantizar la precisión de los resultados. Así hemos podido controlar el sesgo sistemático de estimación imprecisa debido a la no adecuación del tamaño de la muestra.

11. ASPECTOS ÉTICOS

A todos los pacientes se les realiza la misma técnica quirúrgica. No existen pruebas adicionales ni cambio en la actitud en los pacientes en los que se estudia el ganglio centinela.

Para la realización de pruebas diagnósticas con isótopos radioactivos no es necesario rellenar específicamente una hoja de consentimiento informado según normas de BOE. Aún así, los pacientes de este estudio sometidos a mapeo linfático con radioisótopo fueron específicamente informados mediante consentimiento informado específico diseñado para este fin. De esta forma pudieron rechazar libremente su participación en el estudio. A los pacientes que no deseaban participar en el estudio se les realizaba la técnica quirúrgica convencional que no incluye el estudio del ganglio centinela y se consideran grupo control.

El protocolo ha sido revisado, aprobado y tutelado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Fuenlabrada. El equipo investigador siguió todas las normas citadas por el Comité de Ética e Investigación Clínica que autorizó este estudio.

Esta investigación se ha realizado de acuerdo a las normas de buena práctica clínica para estudios en humanos con plena aceptación de las normas éticas vigentes (Declaración de Helsinki, revisión de Edimburgo 2000) y respetando todos los aspectos establecidos en la legislación vigente en materia de investigación clínica.

V. RESULTADOS

1. POBLACIÓN

El grupo estudio incluye 83 pacientes, todos ellos pertenecientes al Área de influencia del Hospital Universitario de Fuenlabrada. Se añaden pacientes de forma prospectiva desde el último trimestre de 2010 al primer trimestre de 2014.

El grupo control incluye 92 pacientes, durante el mismo periodo de tiempo y pertenecientes al mismo Área de influencia.

En cuanto al grupo estudio, partiendo de la petición del radioisótopo al Servicio de Medicina Nuclear tenemos 83 pacientes: cinco de éstos no se sometieron a mapeo linfático, aún habiéndose realizado dicha petición, por: tumor muy voluminoso que infiltra asa yeyunal con gran plastrón inflamatorio, paciente en que el tumor primario, de forma intraoperatoria, resultó ser de recto, tumoración con gran plastrón inflamatorio peritumoral con biopsia inespecífica, falta de coordinación entre cirujano y médico especialista de Medicina Nuclear y pólipo tatuado, inextirpable endoscópicamente, en el que se realizó polipectomía a través de colotomía, sin linfadenectomía.

Además, en siete pacientes en los que se realizó el mapeo linfático, el resultado final anatomopatológico informó de enfermedad no invasiva (seis pacientes con adenoma tubulo-velloso y uno con diagnóstico definitivo de diverticulitis).

Por lo tanto, un total de 71 pacientes en el grupo estudio con cáncer de colon invasivo fueron sometidos a mapeo linfático con radiotrazador y localización de ganglio centinela con gammacámara portátil.

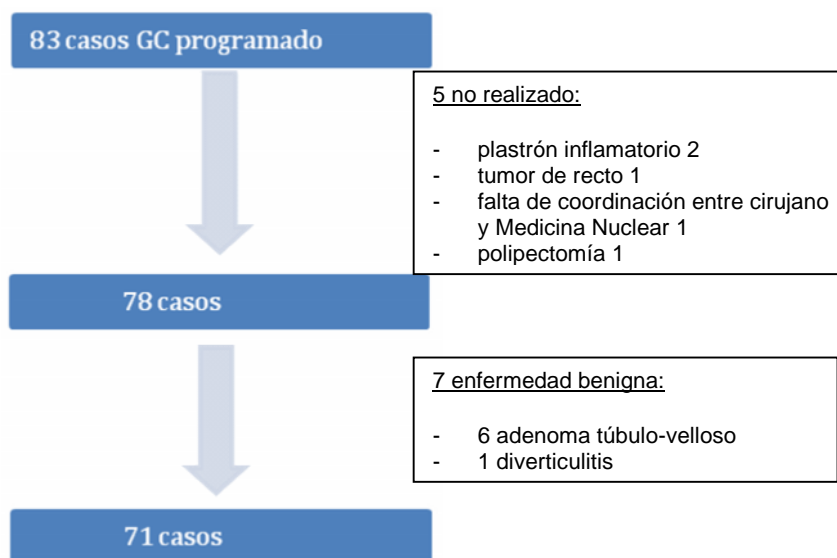


Figura 7: Diagrama de flujo del estudio en el grupo estudio.

En cuanto al grupo control, contamos con 92 pacientes (los pacientes operados por CC durante el mismo periodo de tiempo que no entran en el grupo estudio porque rechazan el consentimiento para ello o por ser intervenidos por cirujanos que no participan en el estudio).

De éstos hay 20 que no cumplen los criterios de inclusión por los siguientes motivos: cirugía urgente (11), cirugía paliativa (4), tumor sincrónico (1), neoplasia mucinosa apéndice (1), adenocarcinoma íleon (1), adenocarcinoma no infiltrante (1), adenoma tubulo-velloso (1).

Tras esta selección quedan 72 pacientes cuyos datos son recogidos de forma prospectiva de las historias clínicas en el sistema informático Selene, incluyendo los mismos datos que en el grupo estudio.

2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

2.1. Características clínicas de la población

Se especifican en la Tabla 8.

Los únicos datos con diferencia significativa en ambos grupos son la edad, con una media de 69,17 en el grupo estudio y de 65 en el grupo control ($p=0,001$) y el hematocrito: en el grupo estudio un 53,5% tienen hematocrito $>34\%$ mientras que en el grupo control se encuentran en este rango un 76,38% ($p=0,02$). Ninguna de estas dos características afecta al estudio ganglionar.

Por lo demás son grupos superponibles y comparables en cuanto a las características de los pacientes.

Tabla 8: Características clínicas preoperatorias

	grupo estudio n=71		grupo control n=72		p
	n	%	n	%	
Edad					
≥ 70	35	49,3	26	36,11	0,19
< 70	36	50,7	46	63,88	0,17
media (DE) 69,17 (11, 45)			65		0,001
rango 37-91			36-86		0,4
Sexo					
mujer	26	36,6	29	40,27	0,17
hombre	45	63,4	43	59,72	0,52
IMC					
< 25 (normal)	24	33,8	12	16,66	0,26
0 (sobrepeso)	27	38,02	26	36,11	0,57
30 (obesidad)	20	28,1	34	47,22	0,17
ASA					
I	1	1,4	1	1,38	0,19
II	40	56,3	45	62,5	
III	27	38	25	34,72	
IV	3	4,2	1	1,38	
		94,30%		97%	
Hematocrito					
> 34%	38	53,5	55	76,38	0,02
30-34%	20	28,2	8	11,11	0,33
< 30%	13	18,3	9	12,5	0,64
Albúmina					
≥3'5 gr/dl	46	64,8	53	73,61	0,18
<3'5 gr/dl	18	25,4	16	22,22	0,58
perdidos	7	9,9	3	4,16	0,7
CEA*					
≤ 6'3	55	77,5	48	66,66	0,25
> 6'3	13	18,3	19	26,38	0,61
perdidos	3	4,2	5	6,94	0,67
CA 19-9**					
≤ 35	57	80,3	53	73,61	0,13
> 35	6	8,5	11	15,27	0,59
perdidos	8	11,3	8	11,11	0,77
Estadificación Clínica					
cT					
cTx	15	21,1	7	9,72	0,62
≤ cT2	11	15,5	22	30,55	0,35
T3-4	45	63,4	42	58,33	0,49
perdidos			1	1,38	...
cN					
cN0	29	40,8	36	50	0,33
cN1	38	53,5	31	43,05	0,24
cN2	4	5,6	4	5,55	0,21
perdidos			1	1,38	...

*CEA: Ag. Carcinoembrionario en mg/dL (valor normal: 0-6,3)

** CA 19-9: Ag. Carbohidrato 19,9 en UI/mL (valor normal: 0-35)

2.2. Características del tumor

Especificadas en la Tabla 9.

Tabla 9: Características del tumor

	grupo del GC n=71		grupo control n=72		p
	n	%	n	%	
Localización colon					
ciego	10	14'1	8	11,11	dcho: 27 (51,371%)
ascendente	16	22'5	19	26,38	
transverso	5	7	10	13,88	
descendente	6	8'5	5	6,94	izdo: 35 (48,6%)
sigma	34	47'9	30	41,66	
Macro Endosc*					
plano-deprimido	19	26'8	18	25	0,54
vegetante-excrecente	52	73'2	52	72,22	0,5
perdidos			2	2,77	...
Macro AP**					
circunferencial endofítico	23	32'4	19	26,38	circunferencial > 50%
circunferencial exofítico	19	26'8	13	18,05	
endofítico	15	21'1	27	37,5	
exofítico	9	12'7	8	11,11	0,15
polipoideo	5	7	5	6,94	0,74
Tipo Histológico					
convencional	67	94'4	65	90,27	0,48
mucinoso	4	5'6	7	9,72	0,62
Grado Histológico					
bien diferenciado	9	12'67	18	25	0,32
moderadamente diferenciado	56	78'87	40	55,55	0,03
pobremente diferenciado	6	8'45	14	19,44	0,66
Estadificación anatomopatológica					
pT					
pT1	5	7,04	5	6,94	pT1-2: 18 (24,99%)
pT2	9	12'7	13	18,05	
pT3	47	66'2	37	51,38	pT3-4: 54 (74,99%)
pT4	10	14'1	17	23,61	
pN (estudio convencional)					
pN0-N0i+	39	54'9	29	40,27	0,27
pN1-2	32	45'1	43	59,72	0,11
pN (superestudio)					
pN0-N0i+	38	53'5			...
pN1-2	33	46'5			...

*Macro Endosc: aspecto macroscópico en colonoscopia

**Macro AP: aspecto macroscópico en anatomía patológica

Como queda reflejado, la única diferencia con significación estadística en cuanto a las características del tumor en ambos grupos es que el porcentaje de tumores con grado histológico moderadamente diferenciado es menor en el grupo control que en el grupo estudio (78,87% en el grupo estudio frente a 55,55% en el grupo control, $p=0,03$); esto es

a expensas de un mayor porcentaje de tumores pobremente diferenciados en el grupo control (19,44% frente a 8,45%), pero esta diferencia no tiene significación estadística.

Como está descrito en la literatura, más del 90% de los casos (94,4% en grupo estudio y 90,27% en grupo control) en nuestro estudio presenta un adenocarcinoma convencional, siendo mucinoso únicamente el 5,6%-9,72% respectivamente.

La clasificación N clínico-radiológica se basa únicamente en cambios y características macroscópicas de los ganglios linfáticos locorregionales.

Tabla 10: Distribución de pacientes por estadio

Distribución de pacientes por estadio n (%)							
	Grupo estudio		p(EC)	OR (IC95%)	Grupo control n=72	p(SE)	OR (IC95%)
	EC n=71	SE n=71					
I	10 (14,1)	10 (14,1)	0,42	0,82 (0,33-2,03)	12 (16,6)	0,42	0,82 (0,33-2,03)
IIA	23 (32,3)	22 (31)	0,34	1,25 (0,61-2,55)	20 (27,77)	0,41	1,17(0,57-2,41)
IIB	3 (4,2)	3 (4,2)	0,49	1,54 (0,24-9,53)	2 (2,77)	0,49	1,54 (0,24-9,53)
IIC	0	0	2 (2,77)
IIIA	5 (7%)	5 (7%)	0,62	1,02 (0,28-3,67)	5 (6,94)	0,62	1,02 (0,28-3,67)
IIIB	14 (19,7)	13 (18,3)	0,39	1,23 (0,53-2,88)	12 (16,66)	0,48	1,12 (0,47-2,66)
IIIC	10 (14)	12 (16,9)	0,39	1,31 (0,49-3,54)	8 (11,11)	0,22	1,63 (0,62-4,26)
IVA	5 (7)	5 (7)	0,29	0,61 (0,19-1,95)	8 (11,11)	0,29	0,61 (0,19-1,95)
IVB	1 (1,4)	1 (1,4)	0,31	0,33 (0,03-3,19)	3 (4,16)	0,31	0,33 (0,03-3,19)

La distribución de los pacientes por estadios en ambos grupos es superponible.

2.3. Detección del ganglio centinela en el grupo estudio

Un total de 71 pacientes con CC invasivo fueron sometidos a mapeo linfático.

Se define la tasa de detección del GC como el número de casos en los que ha habido confirmación histopatológica por el patólogo de la existencia real de ganglios linfáticos en el fragmento de mesocolon que le hemos enviado dividido por el número total de casos en los que se ha intentado x 100%. Esta confirmación por parte del patólogo quiere decir que no ha habido ningún problema en la realización de la técnica en la fase “in vivo” ni en la búsqueda “ex vivo” del ganglio centinela en el espécimen quirúrgico, considerándose por tanto éxito de detección. Esto es aplicable sólo al grupo estudio.

Definimos la detección del GC como:

A: negativo en quirófano. No migración del isótopo, en quirófano somos incapaces de detectar la supuesta zona que más capta. Fallo de detección (cinco casos).

B: negativo en el estudio anatomopatológico. El médico que realiza el mapeo cree que encuentra el GC (en quirófano se detecta una zona que parece GC y se envía como tal) pero no lo confirma el patólogo. Fallo de detección en quirófano o en la búsqueda por parte del patólogo (cuatro casos).

OK: el patólogo confirma que en la pieza enviada como GC se encuentran uno o más ganglios linfáticos. Éxito de detección (62 casos).

Por tanto nuestra tasa de detección del GC es de 62 de 71 pacientes (87,32%) en los que el patólogo nos confirma la existencia de ganglio linfático en la muestra enviada. En cuatro de los pacientes el patólogo no encuentra el ganglio centinela y cinco no llegan al patólogo porque no se encuentra ganglio linfático en quirófano (fallo de técnica). Total: nueve pacientes con fallo de técnica en la intervención en el grupo estudio que supone la detección del GC.



Figura 8: Éxito en la detección del ganglio centinela

2.4. Estudio Ganglionar

Para hacer el estudio histopatológico, se aíslan los ganglios de la linfadenectomía (NoCent) según el protocolo descrito. Los GC se aíslan en el fragmento de mesocolon remitido, se cuentan, se miden y se pesan.

Todos los ganglios de ambos grupos se someten a EC según el procedimiento descrito. Además se realiza el SE del GC en el grupo estudio que comprende H-E seriadas sobre ganglios centinela (62 casos) además de IHQ de los mismos en 46 pacientes en los que la H-E seriada ha resultado negativa; por otro lado, e independientemente del resultado de la H-E seriada se realiza estudio OSNA® en 46 pacientes que tienen ganglio centinela con

peso suficiente para hacerlo (>80 mg). También se realiza SE sobre un subgrupo de ganglios no centinela para aumentar la validez del estudio. El subgrupo consta de dos ganglios seleccionados aleatoriamente del resto de la linfadenectomía. Sobre éstos se realiza H-E básica, H-E seriada e IHQ si ésta es negativa. En estos no se realiza OSNA® por circunstancias de disponibilidad.

En la pieza de linfadenectomía del grupo control se hace el estudio histológico estándar que es el decrito previamente como EC.

Tabla 11: Resumen del estudio ganglionar

Resumen del estudio ganglionar				
		Grupo estudio (SE)	Grupo control	p
n		71	72	
Tasa detección GC		87,3% (62/71)		
Exactitud GC		80,64%		
Tasa detección MM y CTA		8 CTA en 8 pacientes de 62 (12,9%) 5 MM en 4 pacientes de 62 (6,45%) Tasa de detección de CTA + MM 19,35%	0%	
% N positivo por estadio	T1	1/5 (20%)	0/5 (0%)	0,51
	T2	3/9 (33,33%)	6/13 (46,15%)	0,44
	T3	23/47 (48,93)	17/37 (45,94%)	0,48
	T4	6/10 (60%)	12/17 (70,58%)	0,44
Tasa de N + (pacientes N+/total pacientes)		33/71 (46,47%)	35/72 (48,61%)	0,47
Ganglios estudiados		1310 (18,45/ paciente)	1467 (20,66/ paciente)	0,001

Como vemos en la tabla, destaca el hecho de que la detección de MM y de CTA es del 0% en el grupo control, poniendo en evidencia la escasa capacidad del EC para diagnosticar la

afectación ganglionar de pequeño tamaño, como se refleja en la literatura. En el SE del grupo estudio se detectan ocho CTA y cinco MM distribuidas en cuatro pacientes. Sumando ambas, la tasa de detección de hallazgos en forma MM + CTA tanto de GC como GnoC en el SE es del 19,35% de los pacientes. Los cuatro casos de MM son en GC (en el paciente en el que se encuentran dos MM éstas se reparten una en GC y otra en GnoC) pero de las CTA, seis se encuentran en GC y dos en GnoC. Por lo tanto, si nos centramos en los hallazgos del SE del GC, esta tasa es del 16,13% (cuatro MM + seis CTA). De la relevancia clínica de estos hallazgos hablaremos más adelante.

Por otro lado, llama la atención la diferencia estadísticamente significativa del número de ganglios estudiados, a favor del grupo control (media de 20,66 ganglios, siendo de 18,45 en el grupo estudio, $p=0,001$), lo cual va en contra de lo esperado. Ambas medias de números de ganglios se encuentran ampliamente por encima del número de ganglios internacionalmente recomendados para que el estudio sea válido.

Tabla 12: Comparación de la afectación ganglionar en ambos grupos

Comparación del estudio ganglionar en ambos grupos			
		Pacientes N +	%
Grupo estudio	EC	32/71	45,07
	SE	33/71	46,47
Grupo control		35/72	48,61
p	EC	0,39	
	EC-SE	0,47	
OR (IC _{95%})	EC	0,87	0,44-1,67
	EC-SE	0,92	0,48-1,76

En cuanto al número de pacientes N positivos, no hay significación estadística comparando el porcentaje de casos N positivos del EC con el SE del grupo estudio ni éstos con el grupo control.

En el grupo control hay un 48,61% (35 de 72) de casos N positivos mientras que en el grupo estudio el 45,07% (32 de 71) del EC sube a un 46,47% (33 de 71) con el SE. Estas cifras se encuentran dentro de lo esperado.

2.4.1. HALLAZGOS DE MM Y MACROMETÁSTASIS CON EL SE

El mayor número de ganglios examinados en el espécimen resecado está claramente asociado con mejores resultados de supervivencia e intervalo libre de enfermedad.

En nuestro grupo estudio se aíslan un total de 1.310 ganglios en los 71 pacientes de la muestra completa (18,45 ganglios/ paciente). En los 62 pacientes en los que se consigue la detección del GC, se aíslan 1.164 ganglios en total. De éstos, 145 en 62 pacientes son GC (2,34 GC por paciente) y 1.019 son no centinela (que incluye 124 del subgrupo de SE de GnoC con el resto de ganglios de la linfadenectomía) en 62 pacientes.

En total se superestudian 145 ganglios centinela y 124 del grupo no centinela (269 ganglios, de los cuales 112 son positivos).

Tabla 13: Detalle de los ganglios estudiados

Descripción de los ganglios estudiados		Nº total ganglios estudiados	Nº ganglios +	% ganglios +
Grupo estudio	EC	1310	101	7,71
	SE	1310	112	8,54
Grupo control		1467	123	9,06
p	EC		0,97	
	EC-SE		0,88	
OR (IC _{95%})	EC		0,99	0,76-1,31
	EC-SE		1,02	0,78-1,33

No hay significación estadística en el porcentaje de ganglios afectados en ambos grupos ni con las distintas técnicas, aunque el porcentaje sea mayor en el grupo control y con el SE del grupo estudio (7,71% de ganglios positivos en el grupo estudio con EC y 8,54% con SE; 9,06% en grupo control), lo cual es contrario a lo publicado en la mayoría de las series.

Sobre el número global del grupo estudio (71 casos), el número de ganglios positivos para metástasis es de 101/1.310 (en 32 pacientes) con el estudio convencional y 112/1.310 (en 33 pacientes) con el superestudio. Es decir, 11 ganglios linfáticos que con el EC habían resultado negativos, son positivos con el SE.



Figura 9: Esquema de los resultados del estudio de los ganglios del grupo estudio

Si analizamos exclusivamente los 62 casos con ganglio centinela aislado, las cifras son las siguientes:

Tabla 14: Ganglios positivos en relación al total de ganglios del grupo estudio

Estudio de la linfadenectomía (n=62)	Estudio convencional	Superestudio	p
GRUPO ESTUDIO			
Número total de ganglios positivos en la serie	101/1.164	112/1.164	0,43

De los 11 ganglios hallados como positivos con el SE en el grupo estudio, nueve son detectados en el SE del GC (en ocho pacientes) y dos en el SE del subgrupo del GnoC (en un paciente que además tiene positivo el SE del GC, por lo tanto incluido en los ocho

pacientes del grupo descrito anteriormente). Es decir, que el SE del grupo estudio aporta información de 11 ganglios pero en ocho pacientes.

Tabla 15: Hallazgo de MM y macrometástasis con el SE del grupo estudio

Hallazgo de MM en 11 GC con el SE de 8 pacientes		
GC	H-E ser	macrometástasis
		macrometástasis [#]
	IHQ	MM
		MM
		MM ^{>}
	OSNA	MM
		macrometástasis [#]
macrometástasis		
	macrometástasis	
GnoC	H-E ser	macrometástasis ^{>}
	IHQ	MM ^{>}

#En el mismo paciente
>EN el mismo paciente

De los nueve ganglios rescatados en el grupo del GC del grupo estudio como afectados por el SE tenemos:

- Dos por H-E seriada, ambos hallazgos de macrometástasis.
- Tres por IHQ, todos hallazgos de micrometástasis.
- Cuatro por OSNA[®], con tres macrometástasis y uno micrometástasis.

De los dos ganglios rescatados en el subgrupo GnoC:

- Uno por H-E seriada, macrometástasis.
- Uno por IHQ, micrometástasis.

2.4.2. CÉLULAS TUMORALES AISLADAS

En cuanto a las células aisladas, CTA en adelante, (NOi+), en nuestra serie del grupo estudio encontramos ocho ganglios con CTA en ocho pacientes, todas en el SE, no encontrando ningún caso en el EC de ninguno de los dos grupos.

Ganglios en los que se encuentran CTA en el SE		
GnoC	IHQ	pNO(i+)
		pNO(i+)
GC	IHQ	pNO(i+)
		pNO(i+)
	OSNA	pN+
		pN+

} Ya son N+ antes de CTA

Figura 10: Relevancia del hallazgo de CTA

Cuatro de los casos son NO, por lo tanto tras el SE pasan a ser NO(i+) pero los otro cuatro casos ya son N positivos por algún otro ganglio de la linfadenectomía, por lo que este hallazgo no aporta nada a la estadificación.

2.4.3. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS EN EL SE DEL GRUPO ESTUDIO

En total hay ocho pacientes en los que se detectan nuevos ganglios positivos gracias al SE del GC.

Tabla 16: Cambios de N y estadio tras SE del GC

nº caso	pTN EC*	estadio EC*	GC en EC	pTN SE**	estadio SE**
16	T3N1b (2)	IIIB	NEG (skip)	T3N1b (3)	IIIB
17	T3N1b (2)	IIIB	NEG (skip)	T3N1b (3)	IIIB
39#	T4N1b (3)	IIIB	NEG (skip)	T4N2a (6)	IIIC
47^	T4N1b (3)	IIIB	POS	T4N2a (4)	IIIC
53	T3N2b (13)	IIIC	NEG (skip)	T3N2b (14)	IIIC
62	T3N0 (0)	IIA	NEG	T3N1a (1)	IIIB
64	T3N1b (2)	IIIB	NEG (skip)	T3N2a (4)	IIIB
77^	T3N1a (1)	IIIB	POS	T3N1b (2)	IIIB

* EC: estudio Convencional. ** SE: Superestudio

este es el único caso en que se identifica además MM en el SE del subgrupo NOCENT (con otros ganglios + en EC)

^ en los casos 47 y 77 el GC era ya + en EC

En seis de ellos el GC se rescata como positivo para metástasis (por tanto, falsos negativos del GC en estudio convencional), encontrando tanto micro como macrometástasis, como se describe en la tabla (Hallazgos de MM en 11 GC con el SE en 8 pacientes). En los otros el GC ya era positivo en el EC, por lo que el SE no aporta nada en su estadificación.

De estos seis pacientes, uno N negativo pasa a ser N positivo (de N0 a N1a) gracias a OSNA® (caso 62, sin otros ganglios positivos), supraestadificándose de IIA a IIIB. Los otros cinco (casos 16, 17, 39, 53 y 64) dejan de considerarse skip metástasis (“GC -, otros +” en EC, pero ahora ya GC positivo) y reducen la tasa de skip metástasis de manera considerable (ver más abajo), pero en ninguno de ellos se modifica la situación N0/N+

puesto que en todos ellos había ganglios positivos en el resto de la linfadenectomía (y siguen siendo N+), aunque sí cambia el subíndice N en dos casos (casos 39 y 64) y el estadio en uno de ellos (caso 39, de IIIB a IIIC) al aumentar el número de ganglios afectados (ver tabla 16).

Además hay otros dos pacientes (casos 47 y 77) con GC positivo en EC, pero en los que gracias al SE del GC se identifican más GC positivos. No son por tanto skip metástasis rescatadas por el SE, pues ya eran positivos con el EC. Ambos cambian de subíndice N (N1b a N2a y N1a a N1b respectivamente) y uno de ellos de estadio (el caso 47, de IIIB a IIIC).

El resultado definitivo del superestudio sobre el GC se resume en la siguiente figura:

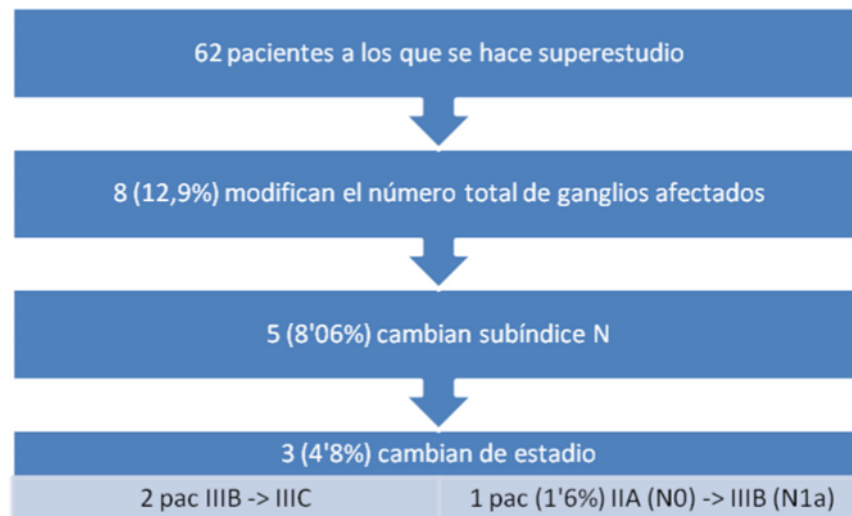


Figura 11: Resultado del SE del GC

En resumen, hay ocho de 62 pacientes (12'9%) que modifican su número total de ganglios afectados gracias al SE (con su posible implicación pronóstica), de los cuales cinco (5/62; 8'06%) modifican el subíndice N y tres (3/62; 4'8%) modifican su estadio (entre los cuales se cuenta el único (1/62; 1,6%) que pasa de N negativo a N positivo, y por tanto el único en que cambiaría la decisión de tratamiento quimioterápico adyuvante según los estándares actuales.

De aquí deducimos que la tasa de supraestadificación es de un 4,8% (tres pacientes cambian de estadio de los 62).

Tabla 17: Supraestadificación con el SE en el grupo estudio

Supraestadificación grupo estudio			p	OR	IC _{95%}
	EC (62)	SE (62)			
nº ganglios +	101/1164	112/1164	0,43	0,89	0,67-1,18
3 pacientes N1b -> N2a	3 IIIB	2 IIIC + 1 IIIB			
1 paciente N1a -> N1b	IIIB	IIIB			
1 paciente N0 -> N1a	IIA	IIIB			

Si tenemos en cuenta el número de casos en los cuales tras un SE del GC se revelan depósitos tumorales que de otra forma no hubieran sido detectados en nuestro estudio, tenemos ocho pacientes. Otra cuestión muy importante a tener en cuenta es considerar únicamente los pacientes N0 con EC como los únicos susceptibles de hallazgos tras el SE. Es decir, únicamente los pacientes N0 con EC pueden ser transformados en N+. Este concepto es importante puesto que de 31 pacientes (31/62 N0 con EC o 39/71 por

intención de tratar) NO con EC conseguimos hallar **un** paciente (3,22% sobre 62; 2,56% sobre 71). Este hallazgo podría tener relevancia si se extrapola a un gran número de pacientes y además **sí** tiene implicaciones clínicas en la toma de decisiones terapéuticas.

Tabla 18: Estudio del GC en el grupo estudio

Estudio del GC en el grupo estudio		
	n	%
Tasa de detección	62/71	87,32
Exactitud	50/62	62,5
Sensibilidad	20/32	62,5
Falsos negativos	12/32	37,5
N + en EC	32/71	45,07
N - en EC	39/71	54,92
CTA, MM, macrometástasis en GC	20/62	32,25
GC +, resto -	5/20	25
CTA	8/62	12,9
MM	4/62	6,45

con SE (aplicable a Tasa de detección, Exactitud, Sensibilidad, Falsos negativos, N + en EC, N - en EC, CTA, MM, macrometástasis en GC)

con SE (aplicable a GC +, resto -, CTA, MM)

Tabla 19: Hallazgos del SE en el grupo estudio distribuidos según técnica de estudio

Hallazgos del SE en el grupo estudio	
H-E ser	2 macrometástasis en GC 1 macrometástasis GnoC
IHQ	5 CTA en GC 3 MM en GC 2 CTA en GnoC 1 MM en GnoC
OSNA	1 CTA en GC 1 MM en GC 3 macrometástasis en GC

Vemos que el superestudio no sólo revela MM y CTA que no se diagnostican en nuestra serie con el EC, sino que también evidencia macrometástasis que habían pasado desapercibidas en el EC; la H-E ser es capaz de hallarlas cuando se encuentran alejadas del centro del ganglio, que es la superficie valorada con le H-E en corte único. El OSNA® valora la totalidad del volumen del ganglio.

Los resultados con EC y con SE sobre los 62 pacientes en los que se detecta el GC y sobre la serie global (71 pacientes) se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 20: Relación GC/otros en el grupo con GC aislado y serie global en el grupo estudio

Tabla 19: relación GC/otros en grupo con GC aislado y serie gobal, con EC y SE (disminución de la tasa de skip metástasis y aumento de N positivos tras SE)						
	EC N=62		SE N=62		EC N=71	SE N=71
GC +, otros -	4 (6,45%)	} 22,6%	5 (8,06%)	} 32,3%	4 (5,63%)	5 (7,04%)
GC +, otros +	10 (16,12%)		15 (24,19%)		10 (14,08%)	15 (21,12%)
GC no encontrado					9 (12,68%)	9 (12,68%)
					N+ 1 caso.	N+ 1 caso.
GC -, otros -	31 (50%)	} 77,4%	30 (48,38%)	} 67,7%	31 (43,66%)	30 (42,25%)
GC -, otros +	17 (27,41%)		12 (19,35%)		17 (23,94%)	12 (16,9%)
TOTAL N +	4 + 10 + 17 = 31 (50%)		5 + 15 + 12 = 32 (51'6%)		4 + 10 + 1+ 17 = 32 (45%)	5 + 15 + 1 + 12 = 33 (46,47%)

El GC fue el único ganglio positivo (siendo el resto negativos) en cuatro pacientes en el EC, que se incluyen en definitiva como N positivos ya que el GC lógicamente sería uno de los ganglios aislados en un estudio estándar (en el que no se hiciese localización de GC). Si atendemos al SE, el número “GC +, otros –” aumenta a cinco pacientes, rescatando el falso negativo del EC que gracias al estudio con OSNA® en el GC pasa de N0 a N positivo (caso 62), supraestadificándose. Así, en la serie de 62 pacientes se pasa de 31 pacientes N

positivos a 32 (y por tanto de 31 pacientes NO a 30), mientras que en la serie global (71 casos) se pasa de 32 pacientes N positivo a 33 (y de 39 pacientes NO a 38).

3. CARACTERÍSTICAS DE LA INTERVENCIÓN

3.1. Sensibilidad

Definimos sensibilidad de nuestra prueba intervención (detección y SE del GC) como la capacidad de nuestro test de predecir el estado ganglionar N positivo (GC positivos del total de N positivos).

Así, la sensibilidad de nuestra prueba diagnóstica con EC del GC sería $14/31$ (45,16 %), es decir, de 31 pacientes N positivos en la serie (62 pacientes), 14 tienen el GC positivo.

Tabla 21: Sensibilidad del EC de los pacientes con GC detectado = $14/31 = 45,16\%$

EC 62	N+	N-	Total
GC +	14	0	14
GC -	17	31	48
<u>Total</u>	31	31	62

Si añadimos el superestudio a nuestra prueba diagnóstica, la sensibilidad mejora notablemente, como refleja la tabla siguiente:

Tabla 22: Sensibilidad del SE del GC = $20/32 = 62,5\%$

SE 62	N+	N-	Total
GC +	20	0	20
GC -	12	30	42
<u>Total</u>	32	30	62

No se pueden calcular los falsos positivos ni la especificidad de la prueba, ya que si el estudio del GC es positivo, la linfadenectomía ya se considera N positivo, y por tanto es imposible que haya un solo caso de ganglio centinela positivo con linfadenectomía considerada negativa (que sería la definición de falso positivo).

Más adelante veremos que no en todas las publicaciones se definen los conceptos de la misma manera, lo que explica la gran amplitud de cifras en las mismas.

3.2. Tasa de falsos negativos

Definimos como tasa de falsos negativos al porcentaje de pacientes en los que la intervención no es capaz de predecir el estado ganglionar N positivo (GC negativo del total del N positivo, es decir, todos los pacientes con GC negativo en EC que pasan a ser GC positivo tras el SE, seis pacientes: cinco skip metástasis + el caso número 62). Se calcula sobre las mismas tablas que la sensibilidad.

Si consideramos sólo el EC, el resultado sería del 54,83% (17/31). Si añadimos el SE, cinco pacientes desaparecerían del grupo de skip metástasis, pasando de 17 a 12 y además el paciente (caso 62) que se había considerado N0 con EC pasaría a ser N positivo. De esta forma la tasa de falsos negativos baja al 37,5% (12/32).

3.3. Valor Global o Exactitud del test

Definimos valor global de nuestra intervención como el porcentaje de pacientes correctamente diagnosticados como N0 ó N positivos del total de la serie sobre la muestra de 62 pacientes con GC aislado. Se calcula también sobre la misma tabla.

De éstos, con el EC tenemos 31 N0 y 31 N positivos. De los 31 N positivos, el GC es positivo en 14 y de los 31 N0, todos tienen el ganglio centinela negativo. Por lo tanto el resultado es de 45/62, 72,58%.

Si consideramos el SE, la serie estaría compuesta por 30 pacientes N0 (puesto que un paciente que se consideraba N0 pasa a ser N1 gracias al SE) siendo el ganglio centinela negativo en todos ellos, y 32 N positivos de los cuales estarían bien clasificados como tal 20 pacientes con el ganglio centinela (14 previos + uno, el caso 62, que pasa de N0 a N positivos) + cinco skip metástasis rescatadas. Por lo tanto el resultado sería 50/62 (80,64%).

En la siguiente tabla se muestra el resumen de la intervención:

Tabla 23: Resumen de la estadística descriptiva

	EC GC	SE GC	p
SENSIBILIDAD	14/31 (45,16%)	20/32 (62,5%)	0,26
FALSOS NEGATIVOS	17/31 (54,83 %)	12/32 (37,5%)	0,26
VALOR GLOBAL	45/62 (72,58 %)	50/62 (80,64%)	0,39

3.4. Curva de aprendizaje

Consideramos la evolución de la técnica a lo largo del tiempo. Los casos en los que consigue aislar el GC se distribuyen según la tabla:

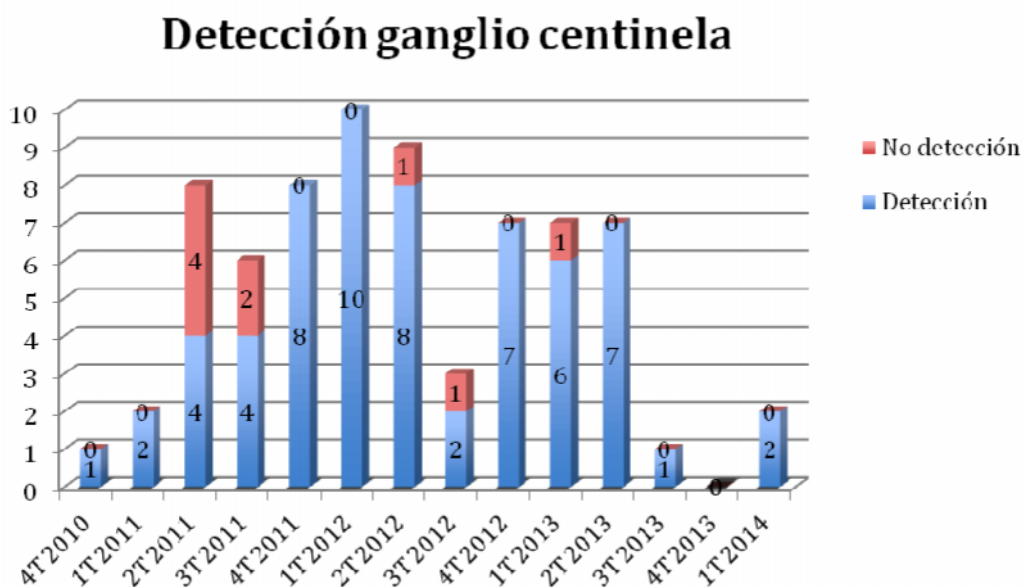


Figura 12: Detección del GC en el tiempo

Se puede observar cómo seis de los nueve fallos de detección se concentran en los casos realizados en el 2^a y 3^o trimestre de 2011, cuando la técnica había evolucionado a poco más de diez casos.

VI. DISCUSIÓN

1. CALIDAD DEL ESTUDIO

A pesar de que tanto la incidencia como la mortalidad específica por CCR se han reducido gracias a las mejoras en el screening y tratamiento, éste continúa siendo la tercera causa de muerte por cáncer a nivel mundial. El tratamiento de elección del CCR no metastásico es la resección quirúrgica del tumor primario en bloque con los ganglios linfáticos regionales. Esta linfadenectomía regional contribuye al control locorregional de la enfermedad y su estudio histológico establece la estadificación y determina la indicación de tratamiento adyuvante (Compton CC et al. 1999; Chang GJ et al. 2007; Cohen AM et al. 1991), mejorando la supervivencia. Así, el estudio de los ganglios linfáticos supone el factor pronóstico más importante en el CCR sin metástasis a distancia.

Los pacientes encuadrados en estadios de mejor pronóstico teórico (IIB: T4N0M0) que otros (IIIA: T1/2N1M0) tienen peor supervivencia a los 5 años (60,6% vs 73,7% SEER), lo que puede relacionarse con la aplicación de tratamiento adyuvante, (la mortalidad en el seguimiento se reduce un 25% tras la administración del tratamiento adyuvante en los casos de mal pronóstico, fundamentalmente N positivos (IMPACT 1995)) que sólo se considera indicado en el segundo grupo, con afectación ganglionar confirmada. Esto hace pensar que determinados pacientes seleccionados de este grupo (estadio II) puedan beneficiarse de las ventajas de tratamientos adyuvantes.

Alrededor de un 30% de los pacientes con resección quirúrgica potencialmente curativa (estadio II) presentarán recurrencia de la enfermedad en el seguimiento (Figueredo A. et al. 2008), probablemente en relación con una linfadenectomía incorrecta o un estudio

histológico inadecuado de la misma (se aíslan los 12 o más ganglios recomendados por la AJCC para una correcta estadificación en menos del 50% de los especímenes, Mitchell PJ et al. 2009) o con la existencia de depósitos tumorales de pequeño volumen en los ganglios (micrometástasis o células tumorales ocultas) que no se hayan diagnosticado en el estudio convencional.

El SE de los ganglios mediante cortes seriados, IHQ y/o PCR puede diagnosticar con mayor precisión esta afectación de pequeño tamaño (Koyanagi K et al. 2008). Aunque su relevancia ha sido controvertida (Rosen LS et al. 2007), hoy en día se acepta que la existencia de micrometástasis empeora el pronóstico y que estos pacientes deben ser catalogados como N positivos. Idealmente se deberían examinar todos los ganglios aislados con estas técnicas pero el coste y el tiempo necesario hacen inviable esta opción. En este sentido el GC puede ofrecer una solución, haciendo este estudio intensivo sólo en ese ganglio que teóricamente mejor predice el estado ganglionar de un paciente.

Para evaluar una nueva prueba diagnóstica es necesario analizar tanto su precisión como su calidad metodológica. Para evaluar la calidad metodológica se ha desarrollado la escala de valoración QUADAS. Los criterios de validación (Whiting P. et al. 2003) son:

- Estudio prospectivo.
- Pacientes consecutivos.
- Especificar criterios de inclusión y exclusión.
- Procedimiento de detección y definición del GC (claro para su posible estandarización).

- Test histológico válido de referencia.
- >20 procedimientos por año.
- Definición clara de parámetros para estadiaje y localización de la enfermedad.
- Uso adicional de IHQ y/o PCR para subclasificar y supraestadiar a los pacientes.

Para determinar su precisión diagnóstica atendemos a la declaración STARD (Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy). La iniciativa STARD está dirigida a editores de revistas y a los autores de artículos, con el objetivo de poder valorar los sesgos potenciales del estudio (validez interna) y la generalización o aplicabilidad de los resultados (validez externa). Actualmente los criterios de calidad de STARD se cumplen en un porcentaje bajo de publicaciones. Lo cual no quiere decir que los estudios sean de mala calidad, sino que es necesario describir el proceso, para que se puedan interpretar con transparencia los resultados. La declaración STARD clasifica la evaluación en cinco secciones, que son las clásicas IMRD de cualquier artículo original (Introducción, Métodos, Resultados y Discusión), con una sección previa (Título y Resumen).

Nuestro estudio cumple todos los puntos.

1.1. Serie del Hospital Universitario de Fuenlabrada

Hemos diseñado un estudio experimental de tipo quasiexperimental prospectivo, con la inclusión de pacientes de forma consecutiva teniendo en cuenta una serie de criterios de inclusión y exclusión ya expuestos en ambos grupos.

El equipo multidisciplinar describe el procedimiento y define el GC según grandes estudios publicados. Los conceptos y procedimiento están basados en los estudios de grupos de expertos y pioneros en este campo como S. Saha y A. J. Bilchick, ambos habiendo liderado estudios multicéntricos en GC en CCR, y M. Bertagnolli y Edwin S. van der Zaag, estos últimos, con su estudio multicéntrico y revisión sistemática, respectivamente, profundizando en la supraestadificación que aporta el SE (Saha et al 2001; Bilchick J et al 2001; Bertagnolli et al 2004; van der Zaag ES et al 2012).

El equipo multidisciplinar está formado por tres patólogos expertos en patología oncológica digestiva. Definieron y usaron el test histológico estándar para este tipo de procedimientos (H-E convencional) y además adicionalmente utilizaron H-E en cortes seriados, IHQ y/o RT-PCR.

Nuestro estudio se realiza en un Centro, Hospital Universitario de Fuenlabrada. El número de casos intervenido por CCR/ año está cercano a 100, de los cuales aproximadamente 70-80 casos por año son CC. Teniendo en cuenta este número de casos anuales, ha sido posible realizar >20 procedimientos/año BSGC.

En la recogida de datos se utilizó una base de datos definida y predeterminada al inicio del estudio, con parámetros clara y perfectamente definidos.

En su publicación de 2003, Bilchik (Bilchik et al. 2003) compara un grupo de 120 pacientes de los cuales encuentra el GC en 115, haciendo estudio IHQ y H-E en estos GC con un grupo control de 370 pacientes con cirugía y estudio histopatológico estándar, todos con

CCR tratados en el mismo centro y en el mismo periodo de tiempo. Dice que de los 37 pacientes N0 en el EC, encuentra CTA o MM en 23 con el SE: ocho MM y 15 CTA (29,4% de pacientes N0 con hallazgos en el SE). Equipara el hallazgo de CTA al de MM. La media de ganglios por paciente fue de 10 en el grupo control y de 14 en el grupo estudio, quedando en evidencia que el estudio del grupo control es insuficiente.

En la revisión sistemática de la BSGC en CCR publicada por van der Zaag en 2012 (van de Zaag E. et al. 2012) seleccionan un total de 57 artículos con un total de 3.934 pacientes con 3.944 procedimientos realizados, incluyendo diez estudios multicéntricos. Únicamente diez estudios tienen más de 100 pacientes estudiados. Nuestro estudio se realiza en un Centro (Hospital Universitario de Fuenlabrada). En nuestra serie incluimos 71 pacientes en el grupo estudio y 72 en el grupo control. Únicamente incluimos pacientes con CC.

En esta revisión (van de Zaag E. et al. 2012) hay 21 estudios de 57 con pacientes con CC como única entidad; los demás estudian CCR o solo recto. La mayoría de los estudios incluyen pacientes con cáncer de colon y recto. En nuestro caso excluimos a los pacientes con cáncer de recto por dificultad añadida en la punción y búsqueda del GC, dadas las características anatómicas de la pelvis.

Los métodos para identificar el GC son colorante azul y radiotrazadores. Nosotros hemos realizado nuestro estudio con radiotrazador (^{99m}Tc Nanocoloide de albúmina). En la revisión sistemática, únicamente en dos estudios se utilizó ^{99m}Tc Nanocoloide de albúmina. La mayoría utilizaron la combinación de ambos.

En cuanto a la técnica de la BSGC, la nuestra es mixta. En esta revisión la mayor parte de los estudios utilizan técnica in vivo (32 estudios), ex vivo en 17 y en ocho utilizaron ambas.

Todos los estudios analizados en la revisión sistemática tienen un diseño prospectivo y usan un test de referencia histológico válido con claros criterios y protocolos en cuanto al GC. Sin embargo sólo 20 de 57 estudios cumplen al menos tres de los cinco criterios de validez restantes (pacientes consecutivos, criterios de inclusión y exclusión claramente descritos, >20 estudios por año, presentación específica de parámetros y resultados, uso de técnicas de subclasificación y supraestadiaje). El nuestro cumple todos los criterios.

Por lo tanto, nuestro estudio cumple tanto los criterios de STARD, que evalúan la precisión de nuestra prueba como los de QUADAS, que evalúan el rigor de estudios primarios para su uso en revisiones sistemáticas y metaanálisis.

1.2. Técnica e identificación del GC

En la revisión sistemática de Van der Zaag (van de Zaag E. et al. 2012) de 3.643 especímenes, identificó GC en 92%. En nuestra serie el éxito del test fue del 87,3%. El rango se encuentra entre 58-100%, con la mayoría de los estudios (41 de 57) con una tasa de identificación por encima del 90%. En dos estudios en los que únicamente se utilizó radiotrazador, Y. Kitagawa tienen un 91% de detección del GC y Bembenek en su estudio de 2004, 96%, ambos en cáncer de recto únicamente (Kitagawa et al 2002; Bembenek et al 2004). En los estudios que sólo incluyen CC la tasa es significativamente más alta que

en estudios en los que se incluye sólo recto (93,1 vs 83,1% respectivamente, $p=0,03$). Ya hemos explicado los motivos que disminuyen la tasa de detección en el recto, por lo que lo excluimos.

2. POBLACIÓN A ESTUDIO. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

2.1. Pacientes excluidos

Como sucede en otras importantes series como la de Bertagnolli (Bertagnolli M. et al. 2004), en cinco de los 83 pacientes seleccionados para el grupo estudio, éste no llegó finalmente a realizarse por varias razones. Pérdidas en torno al 5%, como se tuvo en cuenta en el planteamiento del estudio. En la serie de Bertagnolli las pérdidas son del 13%.

Como en su serie, otros siete pacientes en los que se realizó punción del radiotrazador son excluidos finalmente del estudio linfático al no presentar patología maligna (seis con adenomas tubulovelloso y un paciente con diagnóstico definitivo de diverticulitis).

2.2. Inclusión de pacientes excluidos en otras series

- T3-T4, N positivos:

Hemos incluido pacientes en estadio clínico avanzado (T3-4a, N+). Por un lado, los tumores T3-4a pueden suponer un factor distorsionante en la sensibilidad y ser falsos negativos de la prueba. Y por otro, la infiltración ganglionar puede alterar el flujo linfático alterando la migración del isótopo. Sin embargo, según el metanálisis de Dighe (Dighe S. et al. 2010), aunque la validez de las pruebas de imagen para diferenciar los tumores que invaden o sobrepasan la muscular propia y aquéllos que no lo hacen es buena (sensibilidad del 86%, especificidad del 78%) la diferenciación entre T3 y T4a es muy difícil, como hemos visto en nuestra serie. Igualmente la validez de las pruebas de imagen es muy pobre en cuanto a la identificación de ganglios afectados con sensibilidad y especificidad que oscilan entre 66-83% y 35-81% respectivamente. En nuestro Centro disponemos del es el TC multidetector (la técnica más precisa para valorar tanto el T como el N), con una sensibilidad del 75%, especificidad del 55% y valor global del 64% (Morris et al. 1999). Dada la dificultad de estadificar clínicamente a los pacientes en el grupo T y N correcto decidimos incluirlos a en nuestro estudio para no perder pacientes.

Dado lo difícil que es localizar los ganglios de pequeño tamaño que pueden ser causa de falsos negativos, podemos considerar su búsqueda, al menos en el grupo más probablemente afectado, mediante BSGC.

En nuestro estudio hemos incluido a los pacientes con independencia de la característica T. La ratio T1-2:T3-4 en nuestro estudio es 2:8 en el grupo estudio y 2:6 en el grupo control, por lo que no es posible sacar conclusiones con el bajo porcentaje de T1-2 aunque no hay diferencia en el éxito de la prueba entre ambos grupos.

- Estadio IV:

En nuestro estudio incluimos pacientes en estadio IV, aunque aquí los hallazgos a nivel ganglionar no tienen la repercusión en el pronóstico y en la decisión porque es la M lo que va a condicionar tanto la evolución como el tratamiento; esta es la principal razón para excluir a estos pacientes de los estudios BSGC, pero son válidos para ver si cambia el estudio ganglionar. De los seis pacientes M1 del grupo estudio, tres (50%) resultaron ser NO en estudio anatomopatológico definitivo, por lo que los consideramos válidos en cuanto a curva de aprendizaje y a estudio de migración de células malignas desde el tumor primario.

Lo que sí que hay que tener en cuenta son los cambios anatomopatológicos que sufren los ganglios tras la quimioterapia en pacientes con estadio IV que han recibido quimioterapia sistémica antes de la cirugía.

- Cáncer de recto:

La no inclusión de pacientes con cáncer de recto, ya comentada anteriormente, tiene que ver con que la identificación del GC es más dificultosa por las características anatómicas de la pelvis y de la radioterapia que ha demostrado inducir fibrosis y alterar así el flujo linfático (Van der Zaag ES et al. 2009).

Kitagawa realiza BSGC con radiotrazador en recto con inyección submucosa y endoscópica. Esto dificulta la realización del estudio por mayor empleo de recursos y la dificultad de punción preoperatoria endoscópica, teniendo en cuenta nuestro protocolo Fast-Track.

Otra cuestión es su alta tasa de FN debida al tratamiento neoadyuvante recibido en casos de tumores avanzados. En este sentido Bembenek reportó dos estudios en recto con radiotrazador con tasa identificación de 91% y FN de 18% en el primero y de 96% y FN 56% en el segundo, pero el 90% de esta serie tenía uT3-4 y habían sido sometidos a radioquimioterapia neoadyuvante (Bembenek A. et al. 2004).

3. MAPEO LINFÁTICO

La definición y concepto de GC parte de en la teoría de Halsted que habla de la ordenada progresión y flujo linfático desde el tumor primario.

En el CCR no es siempre así de ordenado, apareciendo skip metástasis causadas por: 1) infiltración tumoral de canales linfáticos que cambia el patrón de drenaje y flujo, 2) conexiones cruzadas entre vías linfáticas, y/o 3) presión directa de tumoración grande que conduce el flujo linfático por otros canales alternativos.

3.1. Detección del GC

Nuestra tasa de identificación del GC es del 87,3%, similar a la de la revisión sistemática de Van der Zaag (van de Zaag E. et al. 2012), en la que el GC se identificó en el 92% de los casos (>90% en 41 de 57 estudios).

3.1.1. CURVA DE APRENDIZAJE

El éxito en la identificación del GC es mayor en series con más de 100 casos (94,6%) que en series más pequeñas (89,55%, $p=0,02$), lo que parece deberse a la curva de aprendizaje. Nuestros fallos de identificación se concentran en los primeros 17 pacientes, es decir, en los primeros siete meses del estudio. Aquí están seis de los nueve fallos en la identificación del GC, mientras que en el resto del estudio presenta una tasa de detección cercana al 100%.

El éxito de localización del GC depende en gran medida de la experiencia y formación de los cirujanos con la técnica. Hay autores que sugieren que la curva de aprendizaje en CCR

es desconocida pero podría ser menor que en cáncer de mama, siendo precisos entre cinco y diez casos en CCR (Kelder et al. 2007).

Es muy importante una buena técnica de inyección del radiotrazador: puede ser inyectado erróneamente en la luz intestinal en vez de en la serosa o la aguja puede emplazarse demasiado profunda hasta submucosa extendiendo el trazador por todos los ganglios paracólicos.

3.1.2. BSGC CON RADIOISÓTOPOS

La técnica de BSGC se puede realizar con colorante azul y/o con radiotrazador.

El colorante azul es fácil de obtener, se identifica a simple vista, no precisa aparataje y tiene un tránsito rápido, con ventana desde la inyección hasta mapeo de cinco a diez minutos así como una migración rápida por los canales linfáticos (partículas más pequeñas que radioisótopos); pero puede producir reacciones alérgicas (1-1,5%) y producir interferencias con el pulsioxímetro.

En cuanto al radiotrazador, no causa reacciones alérgicas ni interferencias con el pulsioxímetro pero requiere instrumentación, la Gammacámara, requiere una ventana más amplia de marcaje tras la inyección del trazador; es más lento que el azul y la transición de isótopos es más lenta y por lo tanto los ganglios localizados a igual periodo de tiempo serán más numerosos en el mapeo con el azul.

Hemos utilizado radiotrazador por nuestra experiencia en el procedimiento en mama y melanoma, porque poseemos el equipamiento necesario sin aumentar costes y no necesitamos entrenar al personal. Las colaboraciones interdisciplinarias están más que consolidadas. Según nuestro conocimiento no existe una serie de BSGC únicamente con radiotrazador exclusivamente en cáncer de colon.

Además, la más estable acumulación de las partículas radioactivas que nos permite mayor fiabilidad en la detección del GC.

Hay datos discordantes sobre la tasa de detección del GC con ambos métodos (colorante y radiotrazador), generalmente superior al 90%. En unos estudios es ligeramente superior con colorante (Saha S et al. 2004). En otros trabajos la combinación de colorante y radiotrazador mejora la tasa de éxito (Trocha et al. 2003).

Cuando el GC está a distancia del tumor primario, el radiotrazador tiene claras ventajas (con azul puede teñirse todo el trayecto y confundir la localización del GC; Kitagawa et al. 2002).

3.1.3. TÉCNICA MIXTA: IN VIVO Y EX VIVO

En cuanto a la técnica de punción, Viehl (Viehl et al. 2003) mostró que la cantidad de trazador o colorante inyectado se correlacionaba con mejores resultados en la

identificación del GC si al menos se inyectaba 0,5 ml por centímetro de diámetro del tumor. Este es nuestro método de punción.

Nuestra técnica de identificación es mixta: la punción del radioisótopo se realiza in vivo así como el barrido abdominal en busca de una vía aberrante pero la búsqueda del GC se realiza en una mesa auxiliar, ex vivo, con la colaboración de especialista en Medicina Nuclear, con la pieza fuera del campo quirúrgico.

Ambas técnicas, ex vivo e in vivo presentan ventajas y desventajas con respecto a la otra. Los argumentos a favor de la técnica in vivo son la identificación, en caso de que exista, de la vía aberrante y una mejor circulación linfática del trazador cuando la pieza no ha sido resecada.

Los argumentos a favor de la técnica ex vivo son que evita riesgo de perforación y diseminación de células tumorales por la manipulación de la neoplasia en el paciente, evita reacciones anafilácticas al colorante, no interviene en la técnica quirúrgica y permite una curva de aprendizaje más corta, además de mayor sencillez en tumores grandes.

Las diferencias entre las series publicadas presentan resultados comparables en cuanto al porcentaje de determinación del GC. Saha (Saha et al. 2005) en una serie de 240 casos, describió la técnica "in vivo" con la inoculación de 1-2 ml de azul de isosulfán (Lymphazurin) al 1%, consiguiendo la detección del GC en el 100% de los casos con un 89% de sensibilidad. En cuanto a la técnica "ex vivo", Wong (Wong et al. 2001) describió la inoculación de 1 ml de azul de isosulfán al 1% consiguiendo identificar el GC en el

92,3% de los pacientes. En dos estudios (Medina-Franco et al. 2005, Roseano et al. 2003) se emplearon las dos técnicas in vivo y ex vivo y no hubo diferencias significativas.

En nuestro estudio tenemos una tasa de técnica laparoscópica >60%. En grupos de superespecialización para cirugía CCR el abordaje laparoscópico no debería ser un inconveniente (Pallarés-Segura et al 2014).

3.2. Evaluación de la calidad

En la revisión de Cahill de 2008 (Cahill RA et al. 2008) se recoge una gran variabilidad en la tasa de detección (58-100%) y de falsos negativos (0-75%) entre distintos estudios, relacionando las tasas de detección bajas (<90%) con tasas altas de FN (>20%). En la revisión de van der Zaag de 2012 (van der Zaag ES et al. 2012) la sensibilidad general recalculada del total de estudios fue del 69.6% (95% IC 64,7-74,6) con FN 30,4% (95% IC 25.5-35,3) y valor global del 88.2% (95% IC 86,0-90.3). Si añadimos los hallazgos con SE (IHQ) se describe un incremento de la sensibilidad hasta el 80,2%. Concluye que el examen anatomopatológico de sólo el GC no puede reemplazar al examen de rutina de todo el mesenterio. En contraste con mama y melanoma (con tasas de FN muy inferiores), en los que el GC se utiliza para hacer una cirugía menos invasiva, el GC en CCR se utiliza principalmente para refinar la estadificación, teniendo en cuenta que la BSGC es una técnica fácil y reproducible y que se puede considerar al tiempo que la resección oncológica.

En nuestro estudio la sensibilidad de la BSGC varía del 45,16% al 62,5% dependiendo del estudio histopatológico realizado. La tasa de FN es del 54,83% (EC) y del 37,5% (SE). Esto nos lleva a concluir que el examen histopatológico de sólo el GC no puede reemplazar al examen de rutina de todo el mesocolon resecado.

En cuanto al concepto de skip metástasis, los trabajos de Dukes y Gabriel mostraron que la afectación metastásica de la red linfática en cáncer de recto acontecía de forma secuencial, desde la pared colónica a los ganglios epicólicos, paracólicos, intermedios y posteriormente paraaórticos (Gabriel W et al. 1935), pero esta regla se veía alterada en 1% de los casos. En el desarrollo e investigación de BSGC en CCR se ha observado la existencia de este fenómeno de skip metastasis con una frecuencia entre el 1 y 5% (Merrie AE et al. 2001; Dan A et al. 2004). Yagci reportó un porcentaje de skip metástasis del 12,5% en su estudio de BSGC en CCR con multisección y tinción IHQ (Yagci et al. 2007). Saha publicó una tasa de skip metástasis del 3,6% en CC en su trabajo de ganglio centinela con multisección y utilización de IHQ (Saha S et al. 2004), informando de fallo predictor del estado ganglionar en 8 de 81 pacientes (11%) en otro estudio en 2005 (Saha S et al. 2005). Sin embargo hay que tener en cuenta que en este estudio tanto los ganglios con micrometástasis como las células asiladas visibles solamente por IHQ son clasificados como positivos. En nuestro estudio encontramos skip metastasis en un 27'41% de los casos con EC, que baja a un 19'35% con SE, resultado completamente discordante con los datos previos; nosotros consideramos N positivos a las MM pero no a las CTA.

Si su sentido fuera el mismo que en el cáncer de mama, el mayor problema de la técnica es la tasa de falsos negativos, que tendría que resolverse antes de usar de rutina esta

técnica en el manejo habitual del CCR (Cahill RA et al. 2008) , pero aquí no tiene esa trascendencia. Nuestra cifra de FN (54% con EC, 37'5% con SE) es similar a la de otros estudios publicados (Bertagnolli et al. 2004, Merrie AEH et al. 2001, Kitagawa Y et al. 2002 y Joosten JJ et al. 1999), con tasas de 18-60%. Incluso con el estudio intensivo del GC, nuestra tasa de FN no baja del 37,5%. Bertagnolli observa un 54% de falsos negativos en su estudio multicentrico (Bertagnolli et al. 2004). En nuestra serie el porcentaje de pacientes clasificados incorrectamente como N0 (FN) atendiendo al resultado del GC es del 54,83% con EC, similar a los descritos por Bertagnolli y demás autores.

En nuestra serie el SE corrige la tasa de falsos negativos de forma importante, de 18 a 12 pacientes (del 54,83 al 37,5%). De estos seis pacientes rescatados gracias al estudio exhaustivo, cinco son skip metástasis y sólo un paciente pasa de N0 a N positivo gracias al hallazgo por OSNA® de micrometástasis en el GC, considerándose por tanto un FN del EC. En ninguna de las skip metástasis se ha cambiado el estado nodal del paciente puesto que en todos ellos había ganglios positivos con estudio convencional en el resto de la linfadenectomía.

Tabla 24: Comparación del estudio con otros publicados

	GC -, otros +, EC	GC -, otros +, micrometástasis +	GC fuera del margen de resección habitual
HUF, 2015	17/32 (53,12%)	12/33 (36,36%)	0/71 (0%)
Bertagnolli et al, 2004	13/24 (54%)		0/66 (0%)
Saha et al, 2004	3/17 (18%)	3/17 (18%)	NR**
Bilchik et al, 2003	5/42 (12%)	5/65 (8%)	NR**
Saha et al, 2001*	8/54 (15%)	8/81 (10%)	11/198 (6%)
Bilchik et al, 2001*	0/10 (0%)	0/14 (0%)	3/40 (8%)

*Estudio multicéntrico; **No reportado.

5. CÉLULAS TUMORALES OCULTAS: MICROMETÁSTASIS Y CÉLULAS TUMORALES AISLADAS

Hay cierta evidencia de que cuanto más avanzado esté el tumor primario, más difícil puede ser su detección y más alta la tasa de falsos negativos por el bloqueo linfático y alteración de las rutas de drenaje convencionales.

El fallo del mapeo, si se ha realizado correctamente, podría deberse a dos causas: que la obstrucción linfática no permita la migración del radioisotopo y por lo tanto no seamos capaces de encontrar el GC (fallo de detección) o que la obstrucción-infiltración de los canalículos linfáticos principales fueren el drenaje linfático por otros canalículos no principales (skip metástasis). Wong, en la discusión del estudio de Bertagnolli, comenta la alta tasa de falsos negativos. Argumenta que hay alguna evidencia de que esta tasa sea más alta en tumores más avanzados por bloqueo y alteración del flujo linfático convencional (Bertagnolli et al. 2004).

En realidad es poco importante el que la validez y seguridad de la prueba sean altos en estadios III y IV, ya que estos pacientes se van a tratar igualmente y se van a beneficiar de tratamiento adyuvante. El principal beneficio del SE del BSGC consiste en supraestadificar pacientes N0, y por tanto fundamentalmente en estadios precoces de la enfermedad. Como las actuales pruebas de imagen no son fiables en cuanto a las características T y N en la estadificación clínica, no podemos seleccionar de antemano los pacientes que más se beneficiarían. Además hay que tener en cuenta que cada vez más los pacientes con CCR se van a diagnosticar en fases mas precoces de la enfermedad gracias a programas de

cribado y a métodos diagnósticos altamente tecnológicos. Es especialmente importante en este grupo de pacientes con tumores poco avanzados localizar a pacientes que realmente se van a beneficiar de adyuvancia (van der Zaag ES et al. 2012).

Aunque hay datos discordantes en la literatura publicada al respecto, la tendencia es a pensar que el éxito del mapeo es mayor en los tumores precoces. En nuestro estudio esto no se ha confirmado. El éxito del mapeo no es peor en los tumores T3/4 (61,40% vs 64,28% con EC o 71,90% vs 64,28% con SE). Tampoco hubo diferencias significativas en la tasa de detección entre ambos grupos (87,70% en T3-4; 85,70% en T1-2). Incluso añadiendo a la serie los cinco pacientes con adenomas tubulo-vellosos no ha mejorado nuestra tasa de detección (85,71% vs 87,32% sin incluir adenomas).

En la revisión de van der Zaag de 2012 los resultados en cuanto a sensibilidad en cáncer precoz T1/2 respecto a casos avanzados T3/4 presentaron diferencias estadísticamente significativas a favor del grupo de tumores precoces (93,4 vs 58,8%), presumiblemente al tener más problemas para la migración del radioisótopo por infiltración de canalículos linfáticos o por el propio volumen o tamaño tumoral (van der Zaag ES et al. 2012).

Es en estos pacientes en estadios precoces I y II (N0) en los que hallazgo de MM puede ser de utilidad, ya que estos datos demuestran que el estudio convencional de la pieza de linfadenectomía de un CC es menos sensible que un estudio exhaustivo del GC para encontrar MM y CTA, aunque la BSGC no mejora el estudio en cuanto a número de ganglios hallados.

En nuestra serie el superestudio con cualquiera de las tres técnicas utilizadas tanto del GC como del GnoC encuentra CTO y macrometástasis que no se habían diagnosticado con el EC, evidenciando que la tinción H-E en corte único infraestima fundamentalmente la presencia de CTO, pero también macrometástasis localizadas fuera del corte único.

5.1. Bases del SE: H-E seriada, IHQ y OSNA®

Contando con que la técnica quirúrgica es oncológicamente correcta y la linfadenectomía suficiente, el número de ganglios detectados y/o afectados en la misma se debe a una mayor implicación del patólogo, que realiza un estudio más meticulado en la búsqueda de ganglios hasta alcanzar el número recomendado de 12. Existen técnicas como el aclaramiento de grasa (acetona y soluciones alcohólicas) con las que se obtiene mayor número de ganglios que con la disección manual (Cawthorn et al. 1986; Herrera et al. 1992; Andreola S et al. 1996; Kelder et al. 2008). Es decir, tanto el cirujano como el patólogo son los responsables de una estadificación exacta y del eventual tratamiento adyuvante. Una mala combinación de los dos profesionales lleva a la infraestadificación y por lo tanto a infratratamiento, mientras que una buena combinación de ambos mejora la estadificación. El hecho de participar en un estudio probablemente influye en la motivación de ambos.

Un número inadecuado de ganglios en el estadiaje de pacientes afectos de cáncer colorrectal se considera como factor de mal pronóstico y alto riesgo de recurrencia. Se debe ofrecer, en los casos en los que la linfadenectomía es insuficiente, el tratamiento

adyuvante por no tener seguridad de que no sea necesario. Cuando un equipo de cirujanos y patólogos obtienen a menudo linfadenectomías por debajo del mínimo establecido debería revisar sus procedimientos para buscar el fallo. El número de ganglios de la linfadenectomía en pacientes con CCR es un indicador de calidad del grupo de trabajo, (Chen et al. 2006). Gleisner, en su estudio de 2013 concluye que para predecir con una exactitud del 85% el estado ganglionar es necesario estudiar más de 40 ganglios para lesiones T1/T2 y al menos 40 para lesiones T3; pero no es posible técnicamente y es problemático desde el punto de vista coste-efectivo. Este problema se podría resolver con la BSGC (Gleisner et al. 2013). Así, el estudio de Bilchick de 2003 muestra que se hallan más ganglios en total y positivos en el grupo de pacientes con BSGC, quizás por la mayor motivación de los profesionales, pero también por el empleo de métodos más sensibles. Los GC fueron examinados con H-E estándar, IHQ y secciones multinivel. El grupo de BSGC, comparado con el grupo de examen estándar, obtuvo un porcentaje más alto de metástasis ganglionares (53% vs 36%; $p < 0.01$) y más alta incidencia de MM y CTA (29,4% vs 1,9%; $p < 0,0001$). La media de ganglios linfáticos aislados en el grupo BSGC fue de 14 respecto a 10 en el grupo de comparación ($p < 0,00001$). Concluye que el examen convencional de ganglios linfáticos en CCR es inadecuado para la detección de MM y CTA (que se incluyen en la nueva clasificación TNM) y que quizás la BSGC y el análisis del GC (SE) debieran ser considerados para estadificar adecuadamente el CCR (Bilchick AJ et al. 2003). Sin embargo, la media de ganglios del grupo control es insuficiente (por debajo de los 12 recomendados), lo cual es un punto criticable de este estudio porque el EC no es lo bueno que debiera.

En nuestro estudio la media de ganglios obtenidos por linfadenectomía es de 18,45 ganglios por paciente, cifra que cumple con creces las recomendaciones estipuladas, en el grupo estudio y de 20,66 en el grupo control (con significación estadística $p=0,001$), lo cual habla a favor de que, como queda reflejado en la literatura, cuanto mayor es el número de ganglio estudiados, más certero es el diagnóstico y menos aporta el SE. La supervivencia aumenta con el número de ganglios estudiados, fundamentalmente si éstos son negativos.

Y ¿qué ocurre con el tamaño ganglionar? Monig (Monig et al. 1999) demostró que el tamaño ganglionar no es un indicador de afectación ganglionar; la mayoría de las metástasis linfáticas ocurren en ganglios menores de 0,5 cm. Estos ganglios están a menudo escondidos en la grasa mesentérica y no localizables al tacto por el patólogo. Sin embargo el mapeo linfático hace que se localice el GC aunque sea menor de ese tamaño, lo que constituye una de las razones para realizar y defender el mapeo linfático.

El análisis anatomopatológico intensivo del GC resulta en una estadificación muy exacta en el cáncer de mama y melanoma. Los protocolos incluyen de manera regular la IHQ y RT-PCR en la valoración del GC (Morton DL et al. 1992) ya que el estudio estándar (valoración simple con H-E) puede omitir hasta un 33% de las metástasis (Feezor et al. 2002).

El estudio estándar reconocido a nivel mundial y que determina la afectación ganglionar y por tanto la necesidad o no de tratamiento adyuvante en pacientes con CC es la utilización de la tinción con hematoxilina eosina (H-E único corte); estudia menos del 1%

del volumen ganglionar y por lo tanto, las MM y CTA pueden pasar inadvertidas por su pequeño tamaño. Incluso macrometástasis pasan desapercibidas si se encuentran fuera de la superficie de corte. El estudio ganglionar tiene sus diferencias y variaciones según los grupos de trabajo, sobre todo en cuanto al número de secciones ganglionares examinadas (Stojadinovic A et al. 2005). Así, en el cáncer de mama son necesarias un mínimo de dos secciones en el ganglio para obtener una buena exactitud en la afectación ganglionar (Turner R et al. 1999).

Durante décadas múltiples estudios se han centrado en la prevalencia y la importancia pronóstica de la detección de micrometástasis en pacientes catalogados como N0 por el análisis histopatológico convencional. Las conclusiones de todos estos estudios coinciden en demostrar una re-estadificación ganglionar al alza con técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) o técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) (Iddings D et al. 2006) dada la casi nula capacidad del estudio para diagnosticarlas. Pero como no es posible realizar SE de todos los ganglios de una linfadenectomía, los esfuerzos se han ido centrando en el SE del GC.

En la revisión de van der Zaag se observa una media de sobreestadificación con SE del GC del 18,9% (rango 0-50%) con MM y CTA (verdadero de 7,7% sólo con MM). Por lo tanto un número importante de casos N0 con EC se sobrestadificaron gracias a SE. Pero sólo diez de los estudios revisados subclasificaron estos hallazgos en MM y CTA como advierte la AJCC.

Durante años, hasta recientemente, se ha considerado a las CTA similares a las MM. Ahora está claro que la relevancia clínica de las unas no es la misma que la de las otras, considerándose N positivas sólo las MM mientras que las CTA, aunque han de constar, se considera NO (No i+). Por esto algunos estudios consideran sobreestadificación en conjunto a pacientes con MM y CTA, consiguiéndose unas tasas muy altas de supraestadificación (Bilchik et al. 2003: supraestadificación del 20%).

En nuestra serie, con el estudio anatomopatológico convencional del grupo estudio (tinción H-E), se detectaron 101 ganglios positivos de 1.164 (porcentaje de positividad del 8,67%) y 123 de 1467 en el grupo control (9,06%) sin hallar ninguna micrometástasis en esta fase del estudio ganglionar. Una vez aplicado el superestudio en el GC y el subgrupo GnoC reestadificamos 11 ganglios más como positivos tras cortes seriados con tinción H-E, tinción IHQ y/o RT-PCR OSNA[®]. Los hallazgos que supusieron una reestadificación de estos ganglios fueron tanto micro como macrometástasis (desapercibidas en el EC). Así se alcanzó un total de 112 ganglios positivos tras SE (9,62%); es decir, reestadificamos un 1% más de ganglios tras el SE en GC y subgrupo GnoC. En la bibliografía existe amplia variabilidad de datos al respecto debido a los diferentes anticuerpos utilizados, distinto número de secciones estudiadas y diferentes técnicas de PCR utilizadas. Entre los grupos que utilizaron técnicas de IHQ, Zhen reestadificó un 9% de ganglios, Palma un 1,82%, Messerini un 2,6% (Zhen et al. 2004; Palma et al. 2003; Messerini et al. 2006). En este sentido hemos de considerar la repercusión de estos ganglios reclasificados sobre los pacientes en cuestión y, cómo no, su repercusión en cuanto al estadio (ver apartado de sobreestadificación).

En el grupo control el hallazgos de MM y CTA es del 0% (no se encuentran) y en el SE del grupo estudio es del 19,35% (cuatro MM y ocho CTA). Es el porcentaje que en otros estudios denominan supraestadificación porque consideran ambas con la misma relevancia clínica. Para nosotros, como define AJCC, sólo es supraestadificación MM en paciente N0.

Por lo tanto, es muy importante discriminar entre MM y CTA. Su diferenciación es fundamental ya que es esencial para plantear el tratamiento adyuvante. Existe discrepancia en cuanto al concepto de MM entre patólogos. El principal escollo es si múltiples grupos celulares deben ser medidos como uno solo. La Guía AJCC dice que cuando la controversia existe, debe seleccionarse la categoría menor. Otro aspecto es la distinción entre CTA y falsos positivos, aunque esto no tiene repercusión ni impacto en las recomendaciones de tratamiento (Redston M et al. 2006).

En cuanto a la tercera de las técnicas del SE, el estudio OSNA[®], Hirofumi aporta una valoración de la afectación ganglionar equivalente a un estudio anatomopatológico con cortes seriados de 2mm, en un estudio de concordancia prácticamente total con el estudio histológico (Hirofumi et al. 2011). En el mismo sentido Yamamoto describe la identificación de CK19 mRNA como marcador óptimo en pacientes con CCR y determina el punto de corte para discriminar entre ganglios positivo y negativo en el rango de 75-500 copias/microlitro, con 96,5% sensibilidad y 100% especificidad (Yamamoto et al. 2013).

En la práctica clínica habitual el método OSNA[®] ha sido validado en cáncer de mama respaldado por varios estudios. Visser en 2008 estudió el método intraoperatorio rápido basado en la expresión de CK19 mRNA para detectar metástasis en el GC en cáncer de mama. Los resultados apoyan que OSNA[®]-CK19 puede usarse clínicamente (Visser M et al. 2008). También Tsujimoto, con el propósito de desarrollar un método más eficiente de detección intraoperatoria de ganglios linfáticos metastásicos muestra una concordancia entre OSNA[®] y tres niveles histológicos del 98,2 %, con ningún falso positivo en OSNA[®] (Tsujimoto M et al. 2007).

Snook en un estudio multicentrico para la evaluación intraoperatoria de GC en cáncer de mama, concluye que OSNA[®] es un método intraoperatorio de alta precisión diagnóstica y que cuando el GC es positivo, el paciente puede ser sometido inmediatamente a un vaciamiento axilar evitando un segundo procedimiento (Snook KL et al. 2010).

Basándose en todo esto, es práctica clínica habitual el estudio del GC en la cirugía del cáncer de mama para sentar la indicación, de forma intraoperatoria, de una cirugía más o menos invasiva con sus correspondientes efectos secundarios.

El objetivo de nuestro estudio no es comparar OSNA[®] y H-E Ser-IHQ ya que el volumen de pacientes es bajo para sacar conclusiones. Con ambos métodos hemos localizado CTO en ganglios negativos con EC, con la sensación de que dependía más de la situación espacial de metástasis en el ganglio que de la propia sensibilidad del método.

5.2. Localización espacial de MM

Como acabamos de ver, la localización espacial de las MM en el ganglio a estudio supone un punto importante en el momento de su búsqueda. Noura informa de que la tasa de detección de micrometástasis usando uno, dos o cinco cortes en el ganglio linfático fue de 3,8, 6,3 y 11,8% respectivamente, consiguiendo una concordancia entre el método histológico y OSNA[®] del 95,7%. Tres ganglios fueron positivos histológicamente y negativos con OSNA[®] y cinco negativos histológicamente y positivos con OSNA[®]. La RT-PCR respaldó los tres pacientes discordantes de OSNA[®] sugiriendo que las metástasis estaban localizadas exclusivamente en el tejido estudiado por OSNA[®] o por estudio histológico, es decir, un problema exclusivo de localización. Por lo tanto estos pacientes se excluyen como discordantes y la concordancia pasaría al 95,7%. (Noura et al. 2002). En nuestra serie está claro que la concordancia entre una mitad del ganglio y la otra es muy baja apoyando la teoría y situación real de que en ganglios relativamente grandes la localización espacial de la micrometástasis determina si se localiza por un método u otro. Es decir, si en la parte que se utiliza para OSNA[®] no hay metástasis la puede haber en la parte utilizada para corte seriado, incluso siendo macrometástasis, ya que se estudia una mitad del ganglio con cada técnica.

5.3. ¿Tiene el GC mayor probabilidad de metástasis?

El hallar una vía aberrante de drenaje linfático podría cambiar la extensión de la linfadenectomía con el SE del GC, pero no hemos tenido ningún caso en nuestra serie.

Otro objetivo de este estudio es facilitar al patólogo aquellos ganglios, idealmente representativos del resto, sobre los que poder realizar el estudio exhaustivo en busca de células tumorales ocultas en forma de MM o CTA. Con un 54% de falsos negativos no podemos considerar que el GC prediga correctamente la situación del resto de los ganglios más que en un poco menos de la mitad de los casos, igual que en el estudio de Bertagnolli. Para supraestadificar todo lo que podría supraestadificar el SE no habría otra opción que realizarlo en todos los ganglios aislados (Bertagnolli et al. 2004), opción inviable por cuestiones de coste-efectividad. Por lo tanto, nos queda como objetivo mejorar la estadificación en ese otro grupo de pacientes en los que el GC sí predice la situación ganglionar, lo que no deja de ser un objetivo relevante que hay que balancear con el coste y el tiempo que consume el procedimiento.

En el estudio de van der Zaag publicado en 2010 se incide en que el papel primordial del SE de la BSGC en CCR es incrementar la exactitud en estadios N0, aunque para conseguir este objetivo el test debería tener alta sensibilidad y pocos FN. En este estudio se muestra que se hallan 4 veces más COT en GC (12% MM y 21% CTA) que en el resto, es decir, en el GC hay mayor probabilidad de encontrar depósitos tumorales (van der Zaag et al. 2010). En otros estudios se informa que el SE del GC ha demostrado detectar CTO en torno a 40% de pacientes negativos para enfermedad con EC (Matter et al. 2007). En la misma línea Kitagawa muestra que la incidencia de metástasis en GC (22%) fue significativamente más alta que en ganglios no centinela (3%), realizando únicamente EC en ambos subgrupos de ganglios (Kitagawa et al. 2002).

Soni comparó en 2011 los ganglios positivos en el grupo de BSGC con análisis de dos a 11 ganglios con cirugía convencional con otro grupo con 12 a 25 ganglios analizados; los resultados son de 42% a 36% a favor el grupo de centinela teniendo en cuenta que se analizan menos ganglios (Soni M et al. 2011).

En definitiva, parece que el grupo del GC presenta mayor tendencia a tener metástasis que el resto de ganglios de la linfadenectomía, lo que se confirma también en nuestro estudio, donde encontramos un 17,24% (25/145) de ganglios positivos en el grupo de GC con SE mientras que en el resto la cifra global es del 7'46% (87/1165) y en el subgrupo seleccionado de GnoC en el que hemos hecho SE del 8,53%, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) en el grupo estudio.

5.4. Ganglio centinela como único positivo

Soni describe un 41 % de pacientes cuyo único ganglio positivo es el centinela y un 57% de pacientes de este subgrupo poseen únicamente micrometástasis (Soni M et al. 2011). En la misma línea, Wood cifra en un 17% el número de pacientes cuyo único ganglio positivo es el GC (Wood TF et al. 2001). También Saha refiere un 18% de casos en los que el único ganglio positivo fue el GC (Saha et al. 2001). En esto influye de forma determinante el sesgo de no realizar el mismo estudio en el grupo de centinelas que de no centinelas, pero precisamente el GC se aísla para poder hacer SE en un pequeño número de ganglios.

Nuestros datos no se enmarcan en este sentido. El porcentaje de pacientes con GC como único positivo ha sido del 5'63% (4/71 pacientes) con EC y del 7'04% (5/71 pacientes) con SE, rescatando un paciente que gracias al estudio con OSNA® en el ganglio centinela pasa de N0 a N1.

5.5. Significado clínico de las CTO (MM y CTA)

Se estima que sólo un muy pequeño porcentaje de células tumorales libres en circulación (<0,05%) son capaces de iniciar un foco metastásico (Abati et al. 1996). Las MM pueden desarrollarse sólo si previamente las células son atrapadas, se implantan y proliferan en el órgano diana. Las CTA no muestran evidencia de actividad metastásica en forma de proliferación, reacción estromal o penetración vascular o linfática. Por esta razón la AJCC y IACC sugieren desde 2002 distinguir MM de CTA, considerando las MM como verdaderos N positivos mientras las CTA no lo son. Las definiciones que utilizan son las acordadas en sistema de estadificación TNM del American Joint Committee on Cancer (AJCC) y The International Union against Cancer (UICC): metástasis ordinarias o macrometástasis son grupos celulares mayores de 2 mm de diámetro; micrometástasis, grupos celulares malignos de tamaño entre 0,2 y 2 mm; y CTA grupos celulares menores de 0,2 mm o células aisladas (se consideran N0 aunque hay que denominarlas N0i+ para evidenciar su presencia).

Rahbari hace un metanálisis en el que asocia la presencia de CTO con el descenso de la supervivencia. Se aceptaron PCR o RT-PCR y no todos los estudios diferenciaron entre

MM y CTA. En un subgrupo del análisis mostró que la detección de MM se asoció con pobre supervivencia específica de la enfermedad y libre de enfermedad, pero el análisis para CTA no pudo realizarse por no encontrarse definido en múltiples estudios (Rahbari et al 2012).

En un metanálisis de Sloothaak publicado en 2014, la detección de CTO en pacientes con estadios I/II con cáncer colorrectal está asociada con un descenso de la supervivencia. Los resultados en cuanto a recurrencia se calcularon para MM (107 pacientes) y CTA (270 pacientes) separadamente (681 pacientes con CTO negativas). En pacientes con CCR la recurrencia de la enfermedad se incrementó significativamente con la presencia de MM (OR 5,63; 95%CI 2.4-13.13) y más aún en pacientes con cáncer colon (OR 7,25; 95%CI 1,82-28.97). En contraste, la recurrencia no se incrementó con la presencia de CTA (OR 1,00 95%CI 0,53-1,88). Por tanto en pacientes con cáncer de colon estadio I/II la existencia de MM confiere un peor pronóstico mientras que las CTA no tienen valor predictivo, y es muy importante su distinción.

Obviamente hay que considerar cuidadosamente la sobrestadificación de pacientes de estadio I/II a III por sus implicaciones terapéuticas y pronósticas. En general, el tratamiento quimioterápico adyuvante se recomienda en estadios II con factores de alto riesgo como: T4, invasión perineural, invasión linfática y venosa. Todos ellos se consideran factores independientes de alto riesgo para una peor supervivencia, con HRs entre 1,9 y 2,1. En el metaanálisis de Sloothaak el riesgo de recurrencia en pacientes con estadio I/II en presencia de MM es muy superior al de cualquiera de esos factores. En consecuencia, si las MM son importantes de cara al pronóstico y éstas son más frecuentes

en el GC entonces quizás la BSGC tenga cabida para buscar estas MM (Sloothaak et al. 2014).

En una reciente revisión entre miembros de la Society of Surgical Oncology (SSO) y American Society of Clinical Oncology (ASCO), se hizo una encuesta a 602 clínicos sobre su opinión acerca del valor pronóstico de las MM. 51% consideraron las MM como un factor de alto riesgo. Más interesantemente, el 63% ofrecería quimioterapia a aquellos pacientes con MM. Sin embargo no se mencionaba una definición clara de MM.

En la misma línea Saha, en un estudio multicéntrico retrospectivo sobre un total de 868 pacientes con CCR y seguimiento mínimo de dos años afirma que los pacientes estratificados con técnica de GC presentan una menor tasa de recurrencia neoplásica que se atribuye al uso de quimioterapia en caso de GC afectado con SE. Asimismo observan mayor supervivencia cáncer específica en pacientes con BSGC, estadísticamente significativa (85 vs 63% $p=0.007$). Cuando se analizó la supervivencia en estadio III en el grupo de pacientes con BSGC con micrometástasis tratados con quimioterapia mostraron ventaja en la supervivencia sobre pacientes con macrometástasis tratados con quimioterapia (100% vs 75%; Saha S et al. 2005).

Es muy difícil que se desarrolle un estudio aleatorizado en el futuro inmediato que confirme el potencial beneficio de la terapia adyuvante sistémica en pacientes con MM. El único ensayo iniciado para valorar el impacto en supervivencia de la quimioterapia adyuvante en presencia de CTO se ha suspendido en 2014 por problemas de reclutamiento.

Las instrucciones para diagnosticar y distinguir MM y CTA están disponibles desde la 6ª edición del TNM aunque en la práctica diaria hay desacuerdos y variaciones interobservador (van der Zaag Es et al. 2011). Se han introducido nuevos criterios en la 7ª edición TNM (Sobin et al. 2009), para facilitar su reproductibilidad y animar a los patólogos a que se adhieran a estas definiciones. En nuestro estudio hemos diferenciado, según las recomendaciones de la AJCC, entre MM y CTA. Hemos tomado decisiones terapéuticas en el Comité de Tumores sobre un paciente N positivo para MM con OSNA® a favor de administrar tratamiento quimioterápico. Dado que el número de pacientes sobreestadificados es muy bajo, no puede calcularse la repercusión en la supervivencia y recurrencia de la enfermedad en nuestra serie.

6. RELEVANCIA DEL ESTUDIO.

El mayor número de ganglios analizados tiene impacto en la supervivencia. Un recuento bajo de ganglios aumenta el riesgo de ignorar ganglios positivos e infraestadificar a los pacientes. La ratio ganglionar (ganglios positivos respecto al total) es un factor pronóstico importante y por tanto el número total de ganglios afecta al pronóstico incluso en casos positivos (Rosenberg R. et al. 2008). Chen y Wang en sus respectivos trabajos concluyeron que la supervivencia decrece en pacientes con ratio ganglionar alto (0,50 y 1) y >12 ganglios linfáticos examinados (Chen SL et al. 2011; Wang J et al. 2008). También, en el mismo sentido, Swanson concluyó que la supervivencia relativa en T3 N0 fue de 86% si más de 25 ganglios son extraídos pero de 64% si sólo uno o dos ganglios han sido investigados (Swanson RS et al. 2003).

En nuestro estudio la media de ganglios identificados fue de 18,59 en el grupo estudio y de 20,66 en el grupo control. Únicamente en cinco de 71 pacientes se aíslan <12 ganglios en la linfadenectomía, por tanto el 92,95% de los pacientes tuvieron una linfadenectomía dentro de los límites establecidos. Se practicó disección ganglionar manual del fragmento GC (resto de la pieza GC en parafina en busca de ganglios no palpables) y del resto de la linfadenectomía (fijación en formol y estudio en parafina).

Se identificaron un total de 1.310 ganglios en los 71 pacientes incluidos del grupo estudio (1.164 ganglios en 62 pacientes), de los que 141 fueron positivos, tras añadir 11 ganglios gracias al SE (nueve en el grupo GC y dos en el subgrupo GnoC) a los 130 positivos con el EC. Estos resultados afectan a ocho de los 71 pacientes: tres pacientes pasan de N1b a N2a, un paciente pasa de N1a a N1b y otro pasa de N0 a N1. Los otros tres no modifican su N aunque sí lo haga su número total de ganglios afectados. Esto puede tener implicaciones pronósticas.

En el grupo control hay 123 ganglios positivos de los 1.467 estudiados (9,06%).

Esta reestadificación ganglionar afecta a ocho pacientes (11'26%) de la serie, de los cuales seis pasan a ser GC positivo. De estos ocho, cinco modifican su N (7,04%), y tres su estadificación (4,22%).

De los seis GC que pasan a GC positivo, uno N negativo pasa a ser N positivo (de N0 a N1a) gracias a OSNA®, supraestadificándose de IIA a IIIB. Los otros cinco dejan de considerarse skip metástasis, pero en ninguno de ellos se modifica la situación N0/N+ puesto que en

todos ellos había ganglios positivos en el resto de la linfadenectomía, aunque sí el subíndice N en dos y el estadio en uno de ellos (de IIIB a IIIC) al aumentar el número de ganglios afectados.

Los otros dos pacientes afectados por la reestadificación ya tenían GC positivo en el EC, pero gracias al SE del GC se identifican más GC positivos. Ambos cambian de subíndice N (N1b a N2a y N1a a N1b respectivamente) y uno de ellos de estadio (de IIIB a IIIC).

Los datos publicados respecto a porcentajes de reestadificación con IHQ van del 3-38%. Con respecto a las técnicas moleculares, los porcentajes de reestadificación en general son más elevados, aunque también con gran variabilidad de protocolos de trabajo y marcadores utilizados. Es más elevado el número de células tumorales halladas por RT-PCR respecto a la IHQ en aquellos estudios que compararon ambas técnicas (Liefers G. et al. 1998; Dorudi S et al. 1998). Saha estima que un 20-30% de pacientes se sobreestadifican con los hallazgos en el GC y que un 10-20% de los GC son positivos gracias a micrometástasis. En su serie, el 26% de pacientes se sobreestadifica gracias a los hallazgos en GC y el 11% de los GC contienen MM (Saha et al. 2003). En la revisión de van der Zaag, la media de supraestadificación incluyendo CTA fue de 18,9% (rango 0-50%), pero la real, excluyendo las CTA, fue mucho más baja, del 7,7% (van der Zaag et al. 2012).

De la misma manera Bilchik comunica (Bilchik et al. 2003) una tasa de supraestadificación del 29%, pero también incluye CTA junto con las MM además de tener en el grupo control una linfadenectomía muy escasa que hace que la calidad del EC se vea mermada.

Si tenemos en cuenta el número de casos en los cuales tras un análisis sofisticado del ganglio centinela (SE) éste revela depósitos tumorales que de otra forma no hubieran sido detectados, en nuestro estudio, como hemos dicho, tenemos ocho pacientes. Otra cuestión muy importante a tener en cuenta es considerar únicamente los pacientes N0 como los únicos susceptibles de hallazgos tras el SE. Es decir, únicamente los pacientes N0 con EC pueden ser transformados en N positivos. Este concepto es importante puesto que de 31 pacientes (31/62 N0 con EC ó 39/71 por intención de tratar) N0 con EC conseguimos hallar un paciente (3,22% sobre 62; 2,56% sobre 71). Este hallazgo podría tener relevancia si se extrapola a un gran número de pacientes y además sí tiene implicaciones clínicas en la toma de decisiones terapéuticas. El resto, a pesar de los hallazgos del SE, no tiene traducción clínica. De aquí la alta variabilidad de las cifras de supraestadificación comunicadas en la literatura, por la falta de homogeneidad de términos.

Una de las razones para realizar BSGC en CCR con punción in vivo (como en nuestro caso), es que podemos encontrar ganglios fuera de los márgenes convencionales de las linfadenectomías en los que el tumor primario drena directamente. Hay datos publicados al respecto de 6-8% de casos (Bilchick et al. 2001; Saha et al. 2001). En nuestra serie, al igual que Bertagnolli, no hemos encontrado ningún caso de vía aberrante (0%) a pesar de rastreo con gammacámara de la cavidad abdominal una vez realizada la resección oncológica convencional. Podemos concluir en nuestro caso que el mapeo linfático no ha modificado en ningún caso la extensión de la linfadenectomía.

En contraposición a esto Saha en su estudio de 2001 informa que la BSGC cambió la extensión de la linfadenectomía en 22% de los pacientes de su serie, con un 10% del total de la serie de vía aberrante que implicó modificaciones importantes de la técnica quirúrgica fuera de las resecciones oncológicas estándar. Por lo tanto estos pacientes se hubieran perdido si no se hubiera realizado BSGC (Saha et al. 2001).

En nuestra serie el 75% de los pacientes con GC positivo tiene otros ganglios positivos en el resto de la linfadenectomía (en contraposición con otras series con gran porcentaje de GC positivo único). Si además consideramos los falsos negativos, es evidente que la extensión de la linfadenectomía no debe reducirse por la utilización de GC en CC, lo que por otra parte no nuestro objetivo. En mama y melanoma es ese precisamente el objetivo fundamental, pero en estas patologías sí está justificado por su alta sensibilidad y baja tasa de falsos negativos (Paramo JC et al. 2001).

En cuanto a las CTA (NOi+), en nuestra serie encontramos ocho ganglios con células aisladas en ocho pacientes. En cinco de ellos gracias a IHQ en el GC, en un paciente gracias a OSNA[®] en GC y en otros dos gracias a IHQ en el grupo GnoC. De los ocho pacientes, cuatro se etiquetan de NOi+ gracias a estos hallazgos; dos de ellos por los hallazgos en el GC y otros dos por los hallazgos en el GnoC. En el resto el hallazgo de células aisladas no influye en el subíndice N dado que son N positivos. No consideramos CTA como sobrestadaje, incidiendo de esta forma en la necesidad de diferenciar MM de CTA de cara al pronóstico, decisiones terapéuticas y posibles comparaciones entre estudios.

VII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El SE del GC en el grupo estudio consigue mejorar el diagnóstico (supraestadificar) de un pequeño porcentaje de pacientes (4,8%), aunque la relevancia clínica es menor (2,6%) porque sólo cambia la actitud en pacientes N0 en el EC que pasan a ser N positivos (un paciente).
2. El EC es insuficiente para diagnosticar MM y CTA (ningún caso en nuestra serie) y el SE aporta un 6,45% de MM y un 13,33% de CTA.
3. Aunque el porcentaje de supraestadificación no sea alto, hay algún paciente que sí se beneficia de este cambio de estadio porque recibirá tratamiento que sin el SE no habría recibido y predeciblemente mejorará su supervivencia; por otro lado, el GC hace posible que este estudio pueda llevarse a cabo sin tener que superestudiar todos los ganglios de la linfadenectomía, lo cual sería inviable desde el punto de vista coste-efectividad.
4. El EC de nuestro Centro es excepcionalmente bueno, lo que refleja tanto un técnica quirúrgica adecuada como un buen estudio histopatológico. La media de ganglios por paciente es incluso mejor en el grupo control que en el grupo estudio (20,66 frente a 18,45 del grupo estudio). El mayor número de ganglios linfáticos estudiados, además de correlacionarse con una mayor supervivencia, hace que el estudio histopatológico sea más certero y, por tanto, que el SE tenga menos que aportar.

5. Es muy importante homogeneizar y definir bien los términos para poder comparar las publicaciones previas porque hay una gran disparidad de resultados debido a la poca concreción de términos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Abati A, Liotta LA. Looking forward in diagnostic pathology: the molecular superhighway. Cancer .1996 Jul 1;78(1):1-3.

Alazraki N, Glass EC, Castronovo F, Olmos RA, Podoloff DJ Procedure guideline for lymphoscintigraphy and the use of intraoperative gamma probe for sentinel lymph node localization in melanoma of intermediate thickness 1.0.Nucl Med; 2002 Oct;43(10):1414-8.

Albertini JJ, Cruse CW, Rapaport D, Wells K, Ross M, DeConti R, et al.. Intraoperative radio-lympho-scintigraphy improves sentinel lymph node identification for patients with melanoma. Ann Surg 1996 Feb;223(2):217-24.

Albo D, Wayne JD, Hunt KK, Rahlfs TF, Singletary SE, Ames FC, Feig BW, Ross MI, Kuerer HM. Anaphylactic reactions to isosulfan blue dye during sentinel lymph node biopsy for breast cancer. Am J Surg. 2001 Oct;182(4):393-8.

Alex JC, Weaver DL, Fairbank JT, Rankin BS, Krag DN. Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. Surg Oncol.1993 Oct;2(5):303-8.

Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol. 2012 Sep; 27(9):1423-31. Review

Andersson Y, Frisell J, de Boniface J, Bergkvist L.

Prediction of non-sentinel lymph node status in breast cancer patients with sentinel lymph node metastases: evaluation of the tenon score. Breast Cancer. 2012;6:31-8.

Andreola S, Leo E, Belli F, Bufalino R, Tomasic G, Lavarino C, et al. Manual dissection of adenocarcinoma of the lower third of the rectum specimens for detection of lymph node metastases smaller than 5 mm. Cancer. 1996 Feb; 15;77(4):607-12.

Armaghany T, Wilson J D, Quyen Chu, Mills G. Genetic Alterations in Colorectal cancer. Gastrointestinal Cancer Research 2012 Jan;5:19-27.

Ayhan A, Celik H, Dursun P. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in gynecological cancers: a critical review of the literature. World J Surg Oncol 2008 May 20;6:53.

Baas PC, Schraffordt Koops H, Hoekstra HJ, van Bruggen JJ, van der Weele LT, Oldhoff J. Groin dissection in the treatment of lower-extremity melanoma. Short-term and long-term morbidity. Arch Surg 1992 Mar;127(3):281-6.

Bachter D, Balda BR, Vogt H, Büchels H. Primary therapy of malignant melanomas: sentinel lymphadenectomy. Int J Dermatol. 1998 Apr;37(4):278-82.

Balch CM1, Gershenwald JE. Clinical value of the sentinel-node biopsy in primary cutaneous melanoma. N Engl J Med. 2014 Feb 13;370(7):663-4.

Barnholtz-Sloan JS, Maldonado JL, Pow-sang J, Giuliano AR Incidence trends in primary malignant penile cancer. Urol Oncol. 2007 Sep-Oct;25(5):361-7.

Bartlett DL, Chu E. Can metastatic colorectal cancer be cured? Oncology (Williston Park). 2012 Mar; 26(3):266-75.

Baxter NN, Virnig DJ, Rothenberger DA, Morris AM, Jessurun J, Virnig BA. Lymph node evaluation in colorectal cancer patients: a population-based study. J Natl Cancer Inst. 2005 Feb 2;97(3):219-25.

Bembenek A, Rau B, Moesta T, Markwardt J, Ulmer C, Gretschel S, et al. Sentinel lymph node biopsy in rectal cancer--not yet ready for routine clinical use. Surgery. 2004 May;135(5):498-505.

Bembenek AE, Rosenberg R, Wagler E, Gretschel S, Sendler A, Siewert JR, et al. Sentinel lymph node biopsy in colon cancer: a prospective multicenter trial. Ann Surg. 2007 Jun;245(6):858-63.

Bendavid Y, Latulippe JF, Younan RJ, Leclerc YE, Dube S, Heyen F et al. Phase I study on sentinel lymph node mapping in colon cancer: a preliminary report. J Surg Oncol. 2002 Feb;79(2):81-4.

Berninini A, Spencer M, Frizelle S, Madoff R, Willmott L, McCormick S, et al. Evidence for colorectal cancer micrometastases using reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of MUC2 in lymph nodes. Cancer Detect Prev. 2000;24(1):72-9.

Bertagnolli M1, Miedema B, Redston M, Dowell J, Niedzwiecki D, Fleshman J, et al. Sentinel node staging of resectable colon cancer: results of a multicenter study. Ann Surg. 2004 Oct;240(4):624-8.

Beyersdorff D1, Bahnsen J, Frischbier HJ. Nodal involvement in cancer of the uterine cervix: value of lymphography and MRI. Eur J Gynaecol Oncol 1995;16(4):274-7.

Bianchi P P, Petz W, Casali L. Laparoscopic lymphatic roadmapping with blue dye and radioisotope in colon cancer. Colorectal Dis. 2011 Nov;13 Suppl 7:67-9.

Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, Stonecypher JA, Wood TF, Sostrin S, et al. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. J Clin Oncol. 2001 Feb 15;19(4):1128-36.

Bilchick AJ, Saha S, Tsioulis GJ, et al. Aberrant drainage and missed micrometastases : the value of lymphatic mapping and focused analysis of sentinel lymph nodes in gastrointestinal neoplasms. Ann Surg Oncol. 2001;8(suppl):82S-85S.

Bilchik AJ, Nora DT, Sobin LH, Turner RR, Trocha S, Krasne D et al. Effect of lymphatic mapping on the new tumor-node-metastasis classification for colorectal cancer. J Clin Oncol. 2003 Feb 15;21(4):668-72.

Bilchick AJ, Compton C. Close collaboration between surgeon and pathologist is essential for accurate staging of early colon cancer. Ann Surg. 2007 Jun;245(6):864-6.

Bilchik A, Nissan A, Wainberg Z, Shen P, McCarter M, Protic M, et al. Surgical quality and nodal ultrastaging is associated with long-term disease-free survival in early colorectal cancer: an analysis of 2 international multicenter prospective trials. Ann Surg 2010 Sep;252(3):467-74.

Bilimoria K, Bentram D, Stewart K. Lymph node evaluation as a colon cancer quality measure: a national hospital report card. J Natl Cancer Inst 2008;100:1310-7.

Bonenkamp JJ, Hermans J, Sasako M, van de Velde CJ, Welvaart K, Songun I, et al. Extended lymph-node dissection for gastric cancer. N Eng J Med.1999 Mar 25;340(12):908-14.

Borgstein PJ, Pijpers R, Comans EF, van Diest PJ, Boom RP, Meijer S. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: guidelines and pitfalls of lymphoscintigraphy and gamma probe detection. J Am Coll Surg.1998 Mar;186(3):275-83.

Broderick-Villa G, Ko A, O'Connell TX, Guenther JM, Danial T, DiFronzo LA Does tumor burden limit the accuracy of lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer? Cancer J. 2002 Nov-Dec;8(6):445-50

Burton DA, Cashman JN. Allergic reaction to nanocolloid during lymphoscintigraphy for sentinel lymph node biopsy. Br J Anaesth 2003; Jan;90(1):105.

Cabanas RM (1977) An approach for the treatment of penile carcinoma. Cancer 39(2):456-466.

Cagir B, Gelmann A, Park J, Fava T, Tankelevitch A, Bittner E, et al. Guanylyl cyclase C messenger RNA is a biomarker for recurrent stage II colorectal cancer. Ann Intern Med. 1999 Dec;131(11):805-12.

Cahill RA, Leroy J and Marescaux J. Could Lymphatic mapping and sentinel node biopsy provide oncological providence for local resectional techniques for colon cancer? A review of the literature. BMC Surgery 2008 Sept;2482-8-17.

Cappell., Mitchell S. Pathophysiology, clinical presentation, and management of colon cancer. Gastroenterology clinics of North America 2008; 37:1-24.

Castells A, Marzo-Castillejo M, Mascort J, et al. Guía de practicas clínicas en prevención del cancer colorectal. Gastroenterol Hepatol. 2009 Dec; 32(10):717.41-58.

Cawthorn SJ, Gibbs NM, Marks CG. Clearence technique for the detection of lymph nodes in colorectal cancer. Br J Surg. 1986 Jan; 73(1):58-60.

Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. J Natl Cancer Inst. 2007 Mar 21;99(6):433-41.

Chao C, Wong SL, Ackermann D, Simpson D, Carter MB, Brown CM, Edwards MJ, McMasters KM. Utility of intraoperative frozen section analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer. Am J Surg. 2001 Dec;182(6):609-15.

Chen SL, Bilchick AJ. More extensive nodal dissection improves survival for stages I or III of colon cancer: a population-based study. Ann Surg. 2006 Oct;244(4):602-10.

Chen SL, Steele SR, Eberhardt J, Zhu K, Bilchik A, Stojadinovic A. Lymph node ratio as a quality and prognostic indicator in stage III colon cancer. Ann Surg. 2011 Jan;253(1):82-7.

Chicken DW, Mansouri R, Ell PJ, Keshtgar MR. Allergy to technetium-labelled nanocolloidal albumin for sentinel node identification. Ann R Coll Surg Engl. 2007 Mar;89(2):W12-3.

Cimmino VM1, Brown AC, Szocik JF, Pass HA, Moline S, De SK, Domino EF. Allergic reactions to isosulfan blue during sentinel node biopsy--a common event. Surgery. 2001 Sep;130(3):439-42.

Cohen AM, Tremterra S, Candela F, Thaler HT, Sigurdson ER. Prognosis of node-positive colon cancer. Cancer. 1991 Apr 1;67(7):1859-61.

Cohen AM, Garin-Chesa P, Hanson M, Weyhrauch k, Kemeny N, Fong Y, Paty P, Welt S, Old L. In vitro detection of occult bone marrow metastases in patients with colorectal cancer hepatic metastases. Dis Colon Rectum. 1998 Sep;41(9):1112-5.

Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologist Consensus Statement 1999.

Arch Pathol Lab Med. 2000 Jul;124(7):979-94

Coverlizza S, Risio M, Ferrari A, Fenoglio-Preiser CM, Rossini FP. Colorectal adenomas containing invasive carcinoma. Pathologic assessment of lymph node metastatic potential. Cancer. 1989 Nov 1;64(9):1937-47.

Csermi G, Vinh-Hung V, Burzykowski T. Is there a minimum number of lymph nodes that should be histologically assessed for a reliable nodal staging of T3N0M0 colorectal carcinomas? J Surg Oncol. 2002 Oct;81(2):63-9.

Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch H, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. Lancet 2010; 375:1030-47.

Cuschieri A. Surgical treatment of patients with invasive gastric cancer: dogma, debate and data. Eur J Surg Oncol. 2002 Oct;81(2):63-9. 1999 Apr;25(2):205-8.

Dahl K, Westlin J, Kraaz W, Winqvist O, Bergkvist L, Thörn M. Identification of sentinel nodes in patients with colon cancer. Eur J Surg Oncol. 2005 May;31(4):381-5.

Dan A, Saha S, Monson K, Wiese D, Schochet E, Barber K, et al. 1% lymphazurin vs 10% fluorescein for sentinel node mapping in colorectal tumors. Arch Surg 2004 Nov; 139(11):1180-4.

Davidson BR, Young H, Waddington WA, Babich J, Clarke GA, Short MD, et al. Preoperative imaging of colorectal cancers. Targeting the epithelial membrane antigen with a radiation-labeled monoclonal antibody. Cancer. 1992 Feb 1;69(3):620-5.

Degiuli M, Sasako M, Calgaro M, Garino M, Rebecchi F, Mineccia M, et al. Morbidity and mortality after D1 and D2 gastrectomy for cancer: interim analysis of the Italian Gastric Cancer Study Group (IGCSG) randomised surgical trial. Eur J Surg Oncol. 2004 Apr;30(3):303-8.

Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, de Mestier P, Morere JF et al. Is sentinel lymph node mapping in colorectal cancer a future prognostic factor? A meta-analysis. World J Surg. 2007 Jun;31(6):1304-12.

Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastasis colorectal cancer. J Clin Oncol. 2008 dec 10; 26(35):5705-12.

Diez Tasende J y Marín JC. Cribado del cancer colorectal mediante test de sangre oculta en heces, Rev Esp Enferm Dig 2008; 100(6):315-319

Dighe S, Purkayastha S, Swift I, Tekkis PP, Darzi A, A'Hern R, et al. Diagnostic precision of CT in local staging of colon cancers: a meta-analysis. Clin Radiol. 2010 Sep;65(9):708-19.

Doekhie FS, Kuppen PJ, Peeters KC, Mesker WE, van Soest RA, Morreau H, et al. Prognostic relevance of occult tumour cells in lymph nodes in colorectal cancer. Eur J Surg Oncol. 2006 Apr;32(3):253-8.

Dorudi S, Kinrade E, Marshall N, Feakins R, Williams N, Bustin S. Genetic detection of lymph node micrometastases in patients with colorectal cancer. Br J Surg. 1998 Jan;85(1):98-100.

Dukes C. The classification of cancer of the rectum. J Pathol Bacteriol 1932; 35:323-332.

Efron P, Knudsen E, Hirshorn S, Copeland EM. Anaphylactic reaction to isosulfan blue used for sentinel node biopsy: case report and literature review. Breast J. 2002 Nov-Dec;8(6):396-9.

Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990 Jun 1;61(5):759-67. Review.

Feezor RJ, Copeland EM, Hochwald SN. Significance of micrometastases in colorectal cancer. Ann Surg Oncol. 2002 Dec;9(10):944-53.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010 Dec 15;127 (12): 2893-917

Fielding LP, Phillips RK, Fry JS, Hittinger R et al. Prediction of outcome after curative resection for large bowel cancer. Lancet. 1986 Oct 18;2(8512):904-7.

Figueredo A, Coombes ME, Mukherjee S, Adjuvant therapy for completely resected stage II colon cancer. Cochrane Database Syst Rev. 2008;3:CD005390.

Frizelle FA, Hobday KS, Batts KP, Nelson H. Adenosquamous and squamous carcinoma of the colon and upper rectum: a clinical and histopathologic study. Dis Colon Rectum. 2001 Mar;44(3):341-6.

Gaarenstroom KN, Kenter GG, Trimbos JB, Agous I, Amant F, Peters AA, et al. Postoperative complications after vulvectomy and inguinofemoral lymphadenectomy using separate groin incisions. Int J Gynecol Cancer 2003 Jul-Aug;13(4):522-7.

Gabriel W, Dukes C, H. B. Lymphatic spread in cancer of the rectum. Br J Surg. 1935;23:9.

Gall FP, Hermanek P Expanded lymph node dissection in stomach and colorectal cancer--uses and risks. Chirurg. 1988 Apr;59(4):202-10.

Galimberti V, Chifu C, Rodriguez Perez S, Veronesi P, Intra M, Botteri E, et al. Positive axillary sentinel lymph node: is axillary dissection always necessary? Breast. 2011 Oct;20 Suppl 3:S96-8

Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R, Le Bail N, Faggiuolo R, Focan C, et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2000 Jan; 18(1): 136-47.

Gil-Vernet JM. Prostate cancer: anatomical and surgical considerations. Br J Urol 1996 Aug;78(2):161-8.

Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL . Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg 1994 Sep; 220(3):391-398.

Giuliano AE, Han SH. Local and regional control in breast cancer: role of sentinel node biopsy. Adv Surg 2011;45:101-16.

Gleisner AL, Mogal H, Dodson R, Efron J, Gearhart S, Wick E, et al. Nodal status, number of lymph nodes examined, and lymph node ratio: what defines prognosis after resection of colon adenocarcinoma? J Am Coll Surg. 2013 Dec;217(6):1090-100.

Gobardhan PD, Elias SG, Madsen EV, van Wely B, van den Wildenberg F, Theunissen EB, et al. Prognostic value of lymph node micrometastases in breast cancer: a multicenter cohort study. Ann Surg Oncol 2011 Jun;18(6):1657-64.

Goldstein NS, Sanford W, Coffey M, Layfield LJ. 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. Am J Clin Pathol 1996 Aug; 106(2):209-16.

Green JB, Timmcke AE, Mitchell WT, Hicks TC, Gathright JB Jr, Ray JE. Mucinous carcinoma-just another colon cancer? Dis Colon Rectum. 1993 Jan;36(1):49-54.

Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, Mojzsis C, Houchens D, Martin EW Jr. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Duke's B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Correlation with long-term survival. Cancer 1994 Feb 1;73(3):563-9.

Haboubi NY, Abdalla SA, Amini S, Clark P, Dougal M, Dube A, Schofield P. The novel combination of fat clearance and immunohistochemistry improves prediction of the outcome of patients with colorectal carcinomas: a preliminary study. Int J Colorectal Dis. 1998;13(2):99-102.

Harris GJ, Church JM, Senagore AJ, Lavery IC, Hull TL, Strong SA, et al. Factors affecting local recurrence of colonic adenocarcinoma. Dis Colon Rectum. 2002:1029-34.

Hayashi N, Ito I, Yanagisawa A, Kato Y, Nakamori S, Imaoka S et al. Genetic diagnosis of lymph-node metastases in colorectal cancer. Lancet. 1995 May;345(8960):1257-9.

Hayashi H, Ochiai T, Mori M, Karube T, Suzuki T, Gunji Y, et al. Sentinel lymph node mapping for gastric cancer using a dual procedure with dye- and gamma probe-guided techniques. J Arm Col Surg. 2003 Jan;196(1):68-74.

Heitman SJ, Ronksley PE, Hilsden RJ, Manns BJ, Rostom A, Hemmelgarn BR. Prevalence of adenomas and colorectal cancer in average risk individuals: a systematic review and meta-analysis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2009 Dec;7(12):1272-8

Herrera L, Villarreal JR. Incidence of metastases from rectal adenocarcinoma in small lymph nodes detected by a clearing technique. Dis Colon Rectum. 1992 Aug;35(8):783-8.

Houssami N, Ciatto S, Turner RM, Cody HS 3rd, Macaskill P Preoperative ultrasound-guided needle biopsy of axillary nodes in invasive breast cancer: meta-analysis of its accuracy and utility in staging the axilla. Ann Surg. 2011 Aug;254(2):243-51.

Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchick A. The prognostic effect of micrometastases in previously staged lymph node negative (N0) colorectal carcinoma: a meta-analysis. Ann Surg Oncol. 2006;13:1386-92.

Ike H, Shimada H, Ohki S, Togo S, Yamaguchi S, Ichikawa Y. Results of aggressive resection of lung metastases from colorectal carcinoma detected by intensive follow-up. Dis Colon Rectum. 2002 Apr;45(4):468-73; discussion 473-5.

IMPACT. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials investigators. Lancet. 1995 Apr 15;345(8955):939-44.

Isaka N, Nozue M, Doy M, Fukao K. Prognostic significance of perirectal lymph node micrometastases in Dukes' B rectal carcinoma: an immunohistochemical study by CAM5.2. Clin Cancer Res. 1999 Aug;5(8):2065-8.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.

Jinnai D. Nihon Rinsho 1981 May;39(5):2002-5.

Johnson PM, Malatjalian D, Porter GA. Adequacy of nodal harvest in colorectal cancer: a consecutive cohort study. J Gastrointest Surg. 2002 Nov-Dec;6(6):883-88.

Joosten JJ, Strobbe LJ, Wauters CA et al. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. Br J Surg 1999;86:482-486.

Juhl G, Larson Gm, Mullins R, Bond S, Polk Hc. Six-Year results of annual colonoscopy after resection of colorectal cancer. World J. Surg. 1990;14:255-261

Kelder W, Braat AE, Karrenbeld A, Grond JA, de Vries JE, Oosterhuis JW, et al. The sentinel node procedure in colon carcinoma: a multi-centre study in The Netherlands. Int J Colorectal Dis. 2007;22:1509-14.

Kelder W, Inberg B, Plukker J, Groen H, Baas P, Tiebosch A. Effect of modified Davidson's fixative on examined number of lymph nodes and TNM-stage in colon carcinoma. Eur J Surg Oncol. 2008 May;34(5):525-30.

Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, et al.: The role of the sentinel lymph node in gastrointestinal cancer. Surg Clin North Am 2000;80:1799-1809.

Kitagawa Y, Watanabe M, Hasegawa H, Yamamoto S, Fujii H, Yamamoto K, et al. Sentinel node mapping for colorectal cancer with radioactive tracer. Dis Colon Rectum. 2002;45:1476-1480 Dis Colon Rectum. 2002 Nov;45(11):1476-80.

Kodama Y, Sugimachi K, Soejima K, Matsusaka T, Inokuchi K. Evaluation of extensive lymph node dissection for carcinoma of the stomach. World J Surg. 1981 Mar;5(2):241-8.

Konopke R, Roth J, Volk A, Pistorius S, Folprecht G, Zöphel K, Schuetze C, et al. Colorectal liver metastases: an update on palliative treatment options. J Gastrointestin Liver Dis. 2012 Mar; 21(1):83-91

Kosaka T, Ueshige N, Sugaya J, Nakano Y, Akiyama T, Tomita F, et al. Lymphatic routes of the stomach demonstrated by gastric carcinomas with solitary lymph node metastasis. Surg Today. 1999;29(8):695-700.

Koyanagi K, Bilchik AJ, Saha S, Turner RR, Wiese D, McCarter M, et al. Prognostic relevance of occult nodal micrometastases and circulating tumor cells in colorectal cancer in a prospective multicenter trial. Clin Cancer Res. 2008;14:7391-96.

Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT (1993) Surgical resection and radiolocalization of sentinel lymph node in breast cancer using gamma probe. Surg Oncol. 1993 Dec 2(6):335-339.

Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, Feldman S, Kusminsky R, et al. The sentinel node in breast cancer- a multicenter validation study. N Engl J Med 1998 Oct 1;339(14):941-6.

Krag DN, Weaver DL Pathological and molecular assessment of sentinel lymph nodes in solid tumors. Semin Oncol. 2002 Jun;29(3):274-9.

Krag DN, Julian TB, Harlow SP, Weaver DL, Ashikaga T, Bryant J, et al. NSABP-32: Phase III, randomized trial comparing axillary resection with sentinel lymph node dissection: a description of the trial. Ann Surg Oncol. 2004 Mar;11(3 Suppl):208S-10S.

Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, Brown AM, Harlow SP, Costantino JP, et al. Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. Lancet Oncol 2010 Oct;11(10):927-33.

Kuriakose MA, Trivedi NP. Sentinel node biopsy in head and neck squamous cell carcinoma. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2009 Apr;17(2):100-10.

Lacroix J, Doeberitz MK. Technical aspects of minimal residual disease detection in carcinoma patients. Semin Surg Oncol. 2001 Jun;20(4):252-64.

Layland MK, Sessions DG, Lenox J. The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, and hypopharynx: N0 versus N+. Laryngoscope. 2005 Apr;115(4):629-39.

Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, et al. G. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. J Clin Oncol. 2003 Aug 1;21(15):2912-9.

Lens MB, Dawes M, Goodacre T, Newton-Bishop JA. Elective lymph node dissection in patients with melanoma: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Surg. 2002 Apr;137(4):458-61.

Leijte JA, Hughes B, Graafland NM, Kroon BK, Olmos RA, Nieweg OE, et al. Two-center evaluation of dynamic sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the penis. J Clin Oncol. 2009 Jul 10;27(20):3325-9.

Leong SP, Steinmetz I, Habib FA, et al. Optimal selective sentinel lymph node dissection in primary malignant melanoma. Arch Surg 1997;132:666-72.

Liefers G, Cleton-Jansen A, van de Velde C, Hermans J, van Krieken J, Cornelisse C, et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. N Engl J Med. 1998 Jul;339(4):223-8.

Luini A, Galimberti V, Gatti G, Arnone P, Vento AR, Trifirò G, et al. The sentinel node biopsy after previous breast surgery: preliminary results on 543 patients treated at the European Institute of Oncology. Breast Cancer Res Treat. 2005 Jan;89(2):159-63.

Macedo LT, da Costa Lima AB, Sasse AD. Addition of bevacizumab to first-line chemotherapy in advanced colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis, with emphasis on chemotherapy subgroups. BMC Cancer. 2012 Mar;13:12:89.

Matter M, Winckler M, Aellen S, Bouzourene H. Detection of metastatic disease with sentinel lymph node dissection in colorectal carcinoma patients. Eur J Surg Oncol. 2007 Dec;33(10):1183-90.

McMasters KM, Wong SL, Chao C, Woo C, Tuttle TM, Noyes RD, et al. Defining the optimal surgeon experience for breast cancer sentinel lymph node biopsy: a model for implementation of new surgical techniques. Ann Surg. 2001 Sep;234(3):292-9.

Medina-Franco H, Takahashi T, González-Ruiz GF, De-Anda J, Velazco L. Sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: a pilot study. Rev Invest Clin. 2005 Jan-Feb;57(1):49-54.

Merrie AE, Phillips LV, Yun K, McCall JL. Skip metastases in colon cancer: assessment by lymph node mapping using molecular detection. Surgery. 2001 Jun;129(6):684-91

Merrie AEH, van Rij AM, Phillips LV, et al. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. Dis Colon Rectum. 2001;44:410-417.

Messerini L, Cianchi F, Cortesini C, Comin C. Incidence and prognostic significance of occult tumor cells in lymph nodes from patients with stage IIA colorectal carcinoma. Hum Pathol. 2006 Oct;37(10):1259-67.

Metcalf KS, Johnson N, Calvert S, Peel KR. Site specific lymph node metastasis in carcinoma of the cervix: Is there a sentinel node? Int J Gynecol Cancer. 2000 Sep;10(5):411-416.

Michel R, Hofer C. Radiation safety precautions for sentinel lymph node procedures. Health Phys. 2004 Feb;86(2 Suppl):S35-7.

Mitchell PJ, Ravi S, Griffiths B, Reid F, Speake D, Midgley C, et al. Multicentre review of lymph node harvest in colorectal cancer: are we understaging colorectal cancer patients? Int J Colorectal Dis. 2009;24:915-21.

Miyake Y, Yamamoto H, Fujiwara Y, Ohue M, Sugita Y, Tomita N, et al. Extensive micrometastases to lymph nodes as a marker for rapid recurrence of colorectal cancer: a study of lymphatic mapping. Clin Cancer Res. 2001 May;7(5):1350-7.

Mönig SP1, Baldus SE, Zirbes TK, Schröder W, Lindemann DG, Dienes HP, et al. Lymph node size and metastatic infiltration in colon cancer. Ann Surg Oncol. 1999 Sep;6(6):579-81.

Mori M, Mimori K, Inoue H, Barnard G, Tsuji K, Nanbara S, et al. Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Cancer Res. 1995 Aug; 55(15):3417-20.

Mori T, Takahashi K, Yasuno M. Radical resection with autonomic nerve preservation and lymph node dissection techniques in lower rectal cancer and its results: the impact of lateral lymph node dissection. Langenbecks Arch Chir 1998;383:409-15.

Morton DL1, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. Arch Surg. 1992 Apr;127(4):392-9.

Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, 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. Ann Surg. 1999 Oct;230(4):453-63.

Mullan MH, Deacock SJ, Quiney NF, Kissin MW.. Anaphylaxis to patent blue dye during sentinel lymph node biopsy for breast cancer. Eur J Surg Oncol. 2001 Mar;27(2):218-9.

Mullenix PS, Carter PL, Martin MJ, Steele SR, Scott CL, Walts MJ, et al. Predictive value of intraoperative touch preparation analysis of sentinel lymph nodes for axillary metastasis in breast cancer. Am J Surg. 2003 May;185(5):420-4.

Mulsow J, Winter DC, O'Keane JC, O'Connell PR. Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. Br J Surg. 2003 Jun;90(6):659-67. Br J Surg. 2003 Jun;90(6):659-67.

Nakanishi Y, Ochiai A, Yamauchi Y, Moriya Y, Yoshimura K, Hirohashi S. Clinical implications of lymph node micrometastases in patients with colorectal cancers. A case control study. Oncology. 1999 Nov;57(4):276-80.

Netzer P, Forster C, Biral R, Ruchti C, Neuweiler J, Stauffer E, et al. Risk factor assessment of endoscopically removed malignant colorectal polyps. Gut. 1998 Nov;43(5):669-74.

Nicholl M, Bilchik AJs routine use of sentinel node biopsy justified in colon cancer? Ann Surg Oncol. 2008 Jan;15(1):1-3.

Nieweg OE1, Estourgie SH. What is a sentinel node and what is a false-negative sentinel node? Ann Surg Oncol. 2004 Mar;11(3 Suppl):169S-73S.

Nordgård O, Oltedal S, Kjørner H, Aasprong OG, Tjensvoll K, Gilje B, et al. Quantitative RT-PCR detection of tumor cells in sentinel lymph nodes isolated from colon cancer patients with an ex vivo approach. Ann Surg. 2009 Apr;249(4):602-7.

Noura S, Yamamoto H, Miyake Y, Kim Bn, Takayama O, Seshimo I, et al. Immunohistochemical assessment of localization and frequency of micrometastases in lymph nodes of colorectal cancer. Clin Cancer Res. 2002 Mar;8(3):759-67.

O'Brien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, et al. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high grade dysplasia in colorectal adenomas. Gastroenterology. 1990;98:371.

Paganelli G. Lymphoscintigraphy and sentinel node biopsy in breast cancer: where are we after 10 years? Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2007 Dec;34(12):2152-3.

Pallarés-Segura JL, Balague-Pons C, Dominguez-Agustin N, Martinez C, Hernandez P, Bollo J, et al. El papel del ganglio centinela en la evolución del cancer de colon. Cir Esp. 2014 Dec;92(10):670-5.

Palma RT, Waisbergj, Broberg SH, Simao AB, Godoy AC. Micrometastases in regional lymph nodes of extirpated colorectal carcinoma: immunohistochemical study using anti-cytokeratin antibodies AE1/AE3. Colorectal Dis. 2003 Mar;5(2):164-8.

Paramo JC, Summerall J, Wilson C, Cabral A, Willis I, Wodnicki H, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. Am J Surg. 2001 Jul;182(1):40-3.

Parkin DM, Muir CS. Cancer Incidence in Five Continents. Comparability and quality of data. IARC Sci Publ. 1992;(120):45-173.

Patten LC, Berger DH, Rodriguez-Bigas M et al.: A prospective evaluation of radiocolloid and immunohistochemical staining in colon carcinoma lymphatic mapping. Cancer 2004;100:2104-2109.

Perinetti E, Crane DB, Catalona WJ. Unreliability of sentinel lymph node biopsy for staging penile carcinoma. J Urol. 1980 Nov;124(5):734-5.

Pernas S, Gil M, Benítez A, Bajen MT, Climent F, Pla MJ, et al. Avoiding axillary treatment in sentinel lymph node micrometastases of breast cancer: a prospective analysis of axillary or distant recurrence. Ann Surg Oncol. 2010 Mar;17(3):772-7.

Pettaway CA, Pisters LL, Dinney CP, Jularbal F, Swanson DA, von Eschenbach AC, et al. Sentinel lymph node dissection for penile carcinoma: the M. D. Anderson Cancer Center experience. J Urol. 1995 Dec;154(6):1999-2003.

Pietra N; Sarli L; Costi R; Ouchemi C; Grattarola M; Perachia A. Role of follow-up in management of local recurrences of colorectal cancer: a prospective, randomized study. Dis. Colon Rectum. 1998;41:1127-1133

Piñero A, Illana J, García-Palenciano C, Cañizares F, Canteras M, Cañadillas V, et al. Effect on oximetry of dyes used for sentinel lymph node biopsy. Arch Surg. 2004 Nov;139(11):1204-7.

Plentl AA, Friedman EA. Lymphatic system of the female genitalia. The morphologic basis of oncologic diagnosis and therapy. Major Probl Obstet Gynecol. 1971;2:1-223.

Pocard M, Sabourin JC. Sentinel lymph node biopsy in gastro-intestinal surgery: facts and future implications. J Chir (Paris). 2008 Dec;145 Spec no. 4:12S17-12S20.

Poletti P1, Fenaroli P, Milesi A, Paludetti A, Mangiarotti S, Virotta G, et al. Axillary recurrence in sentinel lymph node-negative breast cancer patients. Ann Oncol. 2008 Nov;19(11):1842-6.

Port ER, Fey J, Gemignani ML, Heerdt AS, Montgomery LL, Petrek JA, et al. Reoperative sentinel lymph node biopsy: a new option for patients with primary or locally recurrent breast carcinoma. J Am Coll Surg. 2002 Aug;195(2):167-72.

Povoski SP, Olsen JO, Young DC, Clarke J, Burak WE, Walker MJ, et al. Prospective randomized clinical trial comparing intradermal, intraparenchymal, and subareolar injection routes for sentinel lymph node mapping and biopsy in breast cancer. Ann Surg Oncol. 2006 Nov;13(11):1412-21. Epub 2006 Sep 7.

Rahbari NN, Bork U, Motschall E, Thorlund K, Büchler MW, Koch M, et al. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. J Clin Oncol. 2012 Jan 1;30(1):60-70.

Ratto C, Sofo L, Ippoliti M, Merico M, bossola M, Vecchio FM et al. Dis Colon Rectum 1999 Feb;42(2):143-54.

Redston M, Compton CC, Miedema BW, Niedzwiecki D, Dowell JM, Jewell SD, et al. Analysis of micrometastatic disease in sentinel lymph nodes from resectable colon cancer: results of cancer and leukaemia group B trial 80001. J Clin Oncol. 2006 Feb 20;24(6):878-83.

Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F, et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. Ann Surg. 1994 Dec;220(6):759-67.

Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, et al. Serrated lesions of the colorectum: Review and recommendations from an expert panel. The American journal of Gastroenterology. 2012 Sep; 107(9):1315-29

Ries LAG MD, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlader N, Horner MJ, et al. SEER Stat Fact Sheets-Cancer of the Colon and Rectum Review 1973. 2007.

Rodriguez-Bigas MA, Maamoum S, Weber TK, Penetrante RB, Blumenson LE, Petrelli NJ. Clinical significance of colorectal cancer: metastases in lymph nodes. Ann Surg Oncol. 1996 Mar;3(2):124-30.

Roseano M, Scaramucci M, Ciutto T, et al. Sentinel lymph node mapping in the management of colorectal cancer: preliminary report. Tumori 2003 89:412-416.

Rosen LS, Bilchick AJ, Beart RW, Jr., Benson AB, 3rd, Chang KJ, Compton CC, et al. New approaches to assessing and treating early-stage colon and rectal cancer: summary statement from 2007 Santa Monica Conference. Clin Cancer res. 2007 Nov 15;13(22 Pt2):6853s-6s.

Rosen M; Chan L; Beart Rwj; Vukasin P; Anthone G. The appropriate use of colonoscopy in the curative management of colorectal cancer. Follow-up of colorectal cancer: a meta-analysis. Dis.Colon. Rectum, 1998;41:1116-1126.

Rosen PP, Lesser ML, Kinne DW, Beattie EJ. Discontinuous or "skip" metastases in breast carcinoma. Analysis of 1228 axillary dissections. Ann Surg. 1983 Mar;197(3):276-83.

Rosenberg R, Hoos A, Mueller J, Nekarda H. Impact of cytokeratin-20 and carcinoembryonic antigen mRNA detection by RT-PCR in regional lymph nodes of patients with colorectal cancer. Br J Cancer. 2000 Nov;83(10):1323-9.

Ruano Pérez R, Ramos Boyero M, García-Talavera Fernández JR, Ramos Grande T, González-Orús JM, Gómez-Caminero López F, et al. Incidence of axillary recurrence after a negative sentinel lymph node result in early stages of breast cancer: a 5-year follow-up. Rev Esp Med Nucl Imagen Mol. 2012 Jul-Aug;31(4):173-7.

Ruers TJ, Roumen RM. The sentinel node biopsy in patients with breast cancer: recommendations for the introduction of this procedure. Dutch Working Group Sentinel Node Biopsy in Breast Cancer. Ned Tijdschr Geneeskd. 1998 Oct 10;142(41):2237-40.

Saha S, Nora D, Wong JH, Weise D. Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer--a review. Surg Clin North Am. 2000 Dec;80(6):1811-9.

Saha S, Bilchik A, Wiese D, Espinosa M, Badin J, Ganatra BK, et al. Ultrastaging of colorectal cancer by sentinel lymph node mapping technique: a multicenter trial. Ann Surg Oncol. 2001;8(suppl):94S-98S.

Saha S, Dan AG, Berman B, Wiese D, Schochet E, Barber K et al. Lymphazurin 1% versus 99Tc Sulfur Colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. Ann Surg Oncol. 2004;11(1):21-26.

Saha S, Monson K, Bilchick A, Beutler T, Dan A, Schochet E, et al. Comparative analysis of nodal upstaging between colon and rectal cancers by sentinel lymph node mapping: a prospective trial. Dis Colon rectum. 2004 Nov;47(11):1767-72.

Saha S, Dan AG, Viehl CT, Zuber M, Wiese D. Sentinel lymph node mapping in colon and rectal cancer: its impact on staging, limitations, and pitfalls. Cancer Treat Res. 2005;127:105-22.

Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. N Engl J Med. 2000 Sep 28; 343(13): 905-14.

Sano T, Sasako M, Yamamoto S, Nashimoto A, Kurita A, Hiratsuka M, et al. Gastric cancer surgery: morbidity and mortality results from a prospective randomized controlled trial comparing D2 and extended para-aortic lymphadenectomy--Japan Clinical Oncology Group study 9501. J Clin Oncol. 2004 Jul 15;22(14):2767-73.

Scott KWM, Grace RH. Detection of lymph node metastases in colorectal carcinoma before and after fat clearance. Br J Surg 1989;76:1165-1167.

Selman TJ, Luesley DM, Acheson N, Khan KS, Mann CH. A systematic review of the accuracy of diagnostic tests for inguinal lymph node status in vulvar cancer. Gynecol Oncol. 2005 Oct;99(1):206-14.

Sharma P1, Topalovski M, Mayo MS, Weston AP. Methylene blue chromoendoscopy for detection of short-segment Barrett's esophagus. Gastrointest Endosc. 2001 Sep;54(3):289-93.

Sherman A, Nolan JF, Allen WM. The experimental application of radioactive colloidal gold in the treatment of pelvic cancer. Am J Roentgenol Radium Ther. 1950 Jul;64(1):75-85.

Sim FH, Taylor WF, Ivins JC, Pritchard DJ, Soule EH. A prospective randomized study of the efficacy of routine elective lymphadenectomy in management of malignant melanoma. Preliminary results. Cancer. 1978 Mar;41(3):948-56.

Simmons RM, Smith SM, Osborne MP. Methylene blue dye as an alternative to isosulfan blue dye for sentinel lymph node localization. Breast J. 2001 May-Jun;7(3):181-3.

Sloothaak DA, Sahami S, van der Zaag-Loonen HJ, van der Zaag ES, Tanis PJ, Bemelman WA, et al. The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Eur J Surg Oncol. 2014 Mar;40(3):263-9.

Snook KL, Layer GT, Jackson PA, de Vries CS, Shousha S, Sinnott HD, et al. Multicentre evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. Br J Surg. 2011 Apr;98(4):527-35.

Sobin LH, Gospodarowicz C. UICC TNM classification of malignant tumours. 7th ed. New York: John Wiley and Sons Inc.;2009.

Soni M, Wiese D, Korant A, Sirop S, Chakravarty B, Gayar A, et al Comparison of nodal positivity between SLNM vs conventional surgery in colon cancer patients with <12 and > 12 lymph nodes harvested. Am J Surg. 2011 Aug;202(2):207-13.

Stojadinovic A, Allen PJ, Protic M, Potter JF, Shriver CD, Nelson JM et al Colon sentinel lymph node mapping: practical surgical applications. J Am Coll Surg. 2005 Aug;201(2):297-313.

Strand SE, Bergqvist L. Radiolabeled colloids and macromolecules in the lymphatic system. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1989;6(3):211-38.

Straver ME, Meijnen P, van Tienhoven G, van de Velde CJ, Mansel RE, Bogaerts J, et al. Sentinel node identification rate and nodal involvement in the EORTC 10981-22023 AMAROS trial. Ann Surg Oncol. 2010 Jul;17(7):1854-61.

Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, Bland KI. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. Ann Surg Oncol 2003;10(1):65-71.

Tanis PJ, Nieweg OE, Valdés Olmos RA, Th Rutgers EJ, Kroon BB. History of sentinel node and validation of the technique. Breast Cancer Res. 2001;3(2):109-12.

Tejpar S, Odze RD. Accomplishments in 2008 in Biologic Markers for Gastrointestinal Cancers-Focus on Colorectal Cancer. Gastrointest Cancer Res. 2009 Sep-Oct; 3(5 Suppl 2: S73-S78.

Thebo JS, Senagore AJ, Reinhold DS, Stapleton SR. Molecular staging of colorectal cancer: K-ras mutation analysis of lymph nodes upstages Dukes B patients. Dis Colon Rectum. 2000 Feb;43(2):155-9; discussion 9-62.

Trocha Sd, Nora DT, Saha S, Morton DL, Wiese D, Bilchick AJ. Combination probe and dye-directed lymphatic mapping detects micrometastases in early colorectal cancer. J Gastrointest Surg 2003;7:340-5.

Tschmelitsch J1, Klimstra DS, Cohen AM. Lymph node micrometastases do not predict relapse in stage II colon cancer. Ann Surg Oncol. 2000 Sep;7(8):601-8.

Tsopeles C1, Sutton R. Why certain dyes are useful for localizing the sentinel lymph node. J Nucl Med. 2002 Oct;43(10):1377-82.

Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, et al One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. Clin Cancer Res. 2007 Aug 15;13(16):4807-16.

Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. Ann Surg. 1967 Sep;166(3):420-7.

Turner R, Ollila D, Stem S, et al. Optimal histopathologic examination of the sentinel lymph node for breast carcinoma staging. Am J Surg Pathol 23:263-267, 1999.

Uenosono Y, Natsugoe S, Ehi K, Arigami T, Hokita S, Aikou T. Detection of sentinel nodes and micrometastases using radioisotope navigation and immunohistochemistry in patients with gastric cancer. Br J Surg. 2005 Jul;92(7):886-9.

Valdés Olmos RA, Tanis PJ, Hoefnagel CA, Nieweg OE, Muller SH, Rutgers EJ, et al. Improved sentinel node visualization in breast cancer by optimizing the colloid particle concentration and tracer dosage. Nucl Med Commun. 2001 May;22(5):579-86.

Van der Ploeg IM, Nieweg OE, van Rijk MC, Valdés Olmos RA, Kroon BB. Axillary recurrence after a tumour-negative sentinel node biopsy in breast cancer patients: A systematic review and meta-analysis of the literature. Eur J Surg Oncol. 2008 Dec;34(12):1277-84.

van der Zaag ES, Buskens CJ, Kooij N, Akol H, Peters HM, Bouma WH, et al. Improving staging accuracy in colon and rectal cancer by sentinel lymph node mapping: a comparative study. Eur J Surg Oncol. 2009;35:1065-70.

van der Zaag ES, Kooij N, van de Vijver MJ, Bemelman WA, Peters HM, Buskens CJ.

Diagnosing occult tumour cells and their predictive value in sentinel nodes of histologically negative patients with colorectal cancer. Eur J Surg Oncol. 2010 Apr;36(4):350-7.

van der Zaag ES, Welling L, Peters HM, van de Vijver MJ, Bemelman WA, Buskens CJ. Categorization of occult tumour cells in lymph nodes in patients with colon cancer not reliable enough. Ned Tidschr Geneeskde 2011 Jan;155:A2697.

van der Zaag ES, Bouma WH, Tanis PJ, Ubbink DT, Bemelman WA, Buskens CJ. Systematic review of sentinel lymph node mapping procedure in colorectal cancer. Ann Surg Oncol. 2012 Oct;19(11):3449-59.

van Wyk Q, Hosie KB, Balsitis M. Histopathological detection of lymph node metastases from colorectal carcinoma. J Clin Pathol. 2000 Sep;53(9):685-7.

Vendrell-Torné E, Setoain-Quinquer J, Doménech-Torné FM. Study of normal mammary lymphatic drainage using radioactive isotopes. J Nucl Med. 1972 Nov;13(11):801-5.

Veronesi U, Cascinelli N. Response: lymph node dissection for stage I melanoma: the unresolved dilemma. CA Cancer J Clin. 1982 Sep-Oct;32(5):316-7.

Veronesi U, The state of the preoperative diagnosis of breast cancer today. Q J Nucl Med. 1997 Sep;41(3):177-8.

Viehl CT, Hamel CT, Marti WR, Guller U, Eisner L, Stammberger U et al Identification of sentinel lymph nodes in colon cancer depends on the amount of dye injected relative to tumor size. *World J Surg* 2003;27(12):1285-90. World J Surg. 2003 Dec;27(12):1285-90.

Visser M, Jiwa M, Horstman A, Brink AA, Pol RP, van Diest P, et al. Intra-operative rapid diagnostic method based on CK19 mRNA expression for the detection of lymph node metastases in breast cancer. Int J Cancer. 2008 Jun 1;122(11):2562-7.

Wang J, Hassett JM, Dayton MT, Kulaylat MN. Lymph node ratio: role in the staging of node-positive colon cancer. Ann Surg Oncol. 2008 Jun;15(6):1600-8.

Wawroschek F, Vogt H, Wengenmair H, Weckermann D, Hamm M, Keil M, et al. Prostate lymphoscintigraphy and radio-guided surgery for sentinel lymph node identification in prostate cancer. Technique and results of the first 350 cases. Urol Int. 2003;70(4):303-10.

Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADRAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. BMC Med Res Methodol. 2003;3:25.

Wilhelm AJ, Mijnhout GS, Franssen EJ. Radiopharmaceuticals in sentinel lymph-node detection - an overview. Eur J Nucl Med. 1999 Apr;26(4 Suppl):S36-42.

Wolmark N, Rockette H, Fisher B, Wickerham DL, Redmond C, et al. J Clin Oncol 1993 Oct;11(10): 1879-87.

Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg. 2001;233:515-21.

Wood TF, Saha S, Morton DL, Tsioulis GJ, Rangel D, Hutchinson W Jr, et al. Validation of lymphatic mapping in colorectal cancer: in vivo, ex vivo, and laparoscopic techniques. Ann Surg Oncol. 2001 Mar;8(2):150-7.

Wrightson WR, Wong SL, Edwards MJ, Chao C, Reintgen DS, Ross MI, et al. Complications associated with sentinel lymph node biopsy for melanoma. Ann Surg Oncol. 2003 Jul;10(6):676-80.

Yagci G, Unlu A, Kurt B, Can M, Kaymakcioglu N, Centiner S, et al. Detection of micrometastases and skip metastases with ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. Int J Colorectal Dis. 2007 Feb;22(2):167-73.

Yamamoto N, Daito M, Hiyama K, Ding J, Nakabayashi K, Otomo Y, et al. An optimal mRNA marker for OSNA (One-step nucleic acid amplification) based lymph node metastasis detection in colorectal cancer patients. Jpn J Clin Oncol. 2013 Mar;43(3):264-70.

Yamauchi H, Togashi K, Kawamura YJ, Horie H, Sasaki J, Tsujinaka S, et al Pathological predictors for lymph node metastasis in T1 colorectal cancer. Surg Today. 2008;38(10):905-10.


Yun K, Merrie AE, Gunn J, Phillips LV, McCall JL. Keratin 20 is a specific marker of submicroscopic lymph node metastases in colorectal cancer: validation by K-RAS mutations. J Pathol. 2000 May;191(1):21-6.

Zheng Y, Tang Y, Zhou Z, Li L, Wang T, Deng Y , et al. Tumor micrometastases in mesorectal lymph nodes and their clinical significance in patients with rectal cancer. World J Gastroenterol. 2004 Nov;10(22):3369-73.

Zippelius A, Kufer P, Honold G, Kollermann MW, Oberneder R, Schlimok G, et al. Limitations of reverse-transcriptase polymerase chain reaction analyses for detection of micrometastatic epithelial cancer cells in bone marrow. J Clin Oncol. 1997 Jul;15(7):2701-8.

IX. ANEXOS

ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO

 Hospital Universitario de Fuenlabrada SaludMadrid Cº del Molino, 2 - Tel. 91 600 60 00 28942 Fuenlabrada - Madrid	CONSENTIMIENTO INFORMADO: DETECCIÓN Y ESTUDIO DE GANGLIO CENTINELA EN COLON
--	--

DATOS ADMINISTRATIVOS			
Nº de Historia Clínica:		Nº de Acto Clínico:	CIAS:
1er. APELLIDO:		CIP:	Nº SS:
2do APELLIDO:		Dirección:	
NOMBRE:		Población:	C.P.:
EDAD:	SEXO:	Teléfonos:	
DNI/Pas.:		Financiador:	Garante:

Proyecto: "IDENTIFICACIÓN IN VIVO DEL GANGLIO CENTINELA EN PACIENTES CON CÁNCER DE COLON MEDIANTE TÉCNICA INTRAOPERATORIA RADIOGUIADA. DETECCIÓN DE METÁSTASIS MEDIANTE EL MÉTODO OSNA Y COMPARACIÓN CON EL ESTUDIO HISTOLÓGICO CONVENCIONAL CON APOYO INMUNOHISTOQUÍMICO."

Usted ha sido invitado a participar en un estudio-proyecto de investigación clínica para saber si la identificación y el estudio de los ganglios centinelas, como parte de la evaluación diagnóstica de los tumores de colon, puede conseguir que el tratamiento del cáncer de colon se convierta en más preciso y más eficaz.

Este estudio clínico y sus procedimientos han sido aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica de referencia y se realizará siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki y de las normas de la buena práctica clínica.

Antes de que tome una decisión en relación a participar en este estudio, usted necesita conocer sus riesgos y beneficios.

Este documento de consentimiento le informa sobre el estudio. Lea detenidamente toda la información y coméntelo con cualquier persona que usted desee. Ello puede incluir un amigo o un familiar. Si tiene alguna pregunta, consulte al médico o al personal del estudio para que se la responda.

Una vez conozca los detalles del estudio y las pruebas que se le realizarán, se le pedirá que firme este formulario para participar en el mismo. La decisión de participar en este estudio es totalmente voluntaria. Esto significa que dispone de total libertad para participar o no en este estudio. También dispone de total libertad para abandonarlo en cualquier momento y sin motivo alguno. Si usted decide no participar en este estudio, puede comentar con el médico del estudio los detalles de su cuidado médico habitual.

La participación en este estudio es decisión suya. Si decide no participar, ello no dañará sus relaciones con su médico, ni se producirá perjuicio alguno en el tratamiento de su enfermedad.

El médico puede retirarle del estudio por cualquier motivo. Se le proporcionará cualquier nueva información del estudio para que usted pueda decidir si continúa en el estudio o lo deja.

Se le puede retirar del estudio si:

1. No sigue las instrucciones.
2. El estudio se cancela.

Si usted decide dejar el estudio, tendrá que comunicárselo al médico o al personal del estudio.

Finalidad y descripción del estudio


Cuando las células cancerosas se separan del tumor primario y circulan a través de la linfa o la sangre hasta otros lugares en el cuerpo, se puede formar otro tumor. Este proceso se llama metástasis. El ganglio centinela es el primer ganglio linfático que encuentran las células tumorales al intentar diseminarse a través de la linfa.


Si usted aceptase participar en este estudio, durante la intervención quirúrgica en la que se va a extirpar la parte del intestino grueso que está enfermo, se realizaría la técnica de identificación del ganglio centinela.

Para identificar los ganglios linfáticos centinelas, durante la intervención quirúrgica se realiza una técnica que se denomina linfografía. Consiste en la inyección de una sustancia radioactiva cerca del tumor. La sustancia viaja a través de los vasos linfáticos hasta los ganglios centinelas. A continuación, se usa un sistema de detección (gammagrafía) para encontrar los ganglios linfáticos centinela que retienen la sustancia. Posteriormente, el cirujano extrae aquellos ganglios marcados con la sustancia radioactiva o tinte y un patólogo determina si hay células cancerosas o no en ellos.

La sustancia inyectada se elimina fundamentalmente en la pieza extirpada, y la mínima cantidad restante por lo que no requiere la orina en un tiempo medio inferior a seis horas por lo que se recomienda la ingesta de líquidos frecuente.

Después de la intervención quirúrgica, además del análisis de la parte enferma del intestino grueso que se le habrá extirpado, se realizará el análisis de los ganglios centinelas en el servicio de Anatomía Patológica para conocer su estado de afectación por la enfermedad. Este análisis se llevará a cabo mediante dos técnicas diagnósticas, cada una aplicada a una mitad de cada ganglio: una convencional y otra novedosa con métodos moleculares. La comparación de los resultados servirá como objetivo del proyecto de investigación.

Fuenlabrada, a 28/10/2015 Firma del Paciente / Representante y/o Tutor	Fuenlabrada, a 28/10/2015. Identificación y firma del médico que informa
 CONSEJERÍA DE SANIDAD Comunidad de Madrid	Nota: Se deben firmar todas las páginas.

 <p>Hospital Universitario de Fuenlabrada SaludMadrid C^o del Molino, 2 - Tel. 91 600 60 00 28942 Fuenlabrada - Madrid</p>	CONSENTIMIENTO INFORMADO: DETECCIÓN Y ESTUDIO DE GANGLIO CENTINELA EN COLON
---	--

Objetivos del estudio

El objetivo principal es evaluar la efectividad de la identificación y estudio del ganglio centinela para predecir el estado ganglionar local y regional en los pacientes con cáncer de colon en el Hospital Universitario de Fuenlabrada.

Otros objetivos del estudio

1. Validar la técnica quirúrgica de detección in vivo del ganglio centinela en pacientes con cáncer de colon, mediante técnica intraoperatoria radioguiada empleando una gammacámara portátil.
2. Determinar cuál es el procedimiento más adecuado para el estudio anatomopatológico de las biopsias de ganglios centinela en el carcinoma de colon en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Fuenlabrada.
3. Probar el valor del estudio anatomopatológico diferenciado de los ganglios centinela en los carcinomas de colon para mejorar la precisión en su estadificación.
4. Elaborar un protocolo de detección y estudio de los ganglios centinela en cáncer de colon.

Alrededor de 72 pacientes participarán en este estudio.

Si el médico cree que usted puede ser adecuado para el estudio, se lo explicará. Se le dará la oportunidad de hacer preguntas y tener tiempo para pensar si quiere participar en el estudio y para comentar su posible participación con sus familiares y amigos. Se le entregará este formulario para leerlo y, si acepta participar en el estudio, se le pedirá que firme la página de firmas antes de realizar ningún procedimiento del estudio.

Riesgos e inconvenientes

Las exploraciones de Medicina Nuclear son pruebas que se denominan incruentas, ya que no tienen riesgo para el paciente. La realización de la técnica de la biopsia del ganglio centinela, no conlleva ningún riesgo grave ni frecuente, y forma parte de los procedimientos rutinarios del servicio de cirugía del Hospital de Fuenlabrada para el tratamiento de los tumores de colon.

Aunque se emplea un material radiactivo, la dosis es extraordinariamente baja y no tiene efectos negativos para la salud.

La exploración no se puede realizar a mujeres embarazadas. En caso de lactancia, ésta se suspenderá durante las 24 horas siguientes.

Autorización para obtener, utilizar y divulgar la información médica personal

En ningún caso con la firma de este formulario de consentimiento renuncia a sus derechos legales ni exime a los investigadores ni al Hospital Universitario de Fuenlabrada de sus responsabilidades legales y profesionales.

Si usted aceptase participar en este estudio, el procedimiento quirúrgico realizado, así como todos los resultados del estudio anatomopatológico de los ganglios centinelas se incorporarían directamente a su historia clínica.

El material sobrante de las muestras de los ganglios centinela se almacenarán en los archivos del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Fuenlabrada, en las condiciones marcadas por la normativa vigente (Orden 2095/2006, de 30 de noviembre, del Consejero de Sanidad y Consumo de la Comunidad de Madrid).

No existe compensación económica por participar en el estudio. Tampoco los investigadores del estudio reciben compensación económica.

Si en algún momento usted desea obtener una información más detallada sobre la investigación y si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio, por favor, no dude en ponerse en contacto con:

Dr. Angel Castaño Pascual (Servicio de Anatomía Patológica. Investigador Principal del Proyecto)
Teléfono: 916006727


Dr. Pedro Artuñedo Pe (Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo)
Teléfono: 916006266

Dra. María Esther Llorente Herrero (Área de Medicina Nuclear del Servicio de Diagnóstico por Imagen)
Teléfono: 916006459/6076

Con objeto de dar cumplimiento al RD 1841/1997, usted deberá firmar este modelo de consentimiento informado en el que manifiesta que ha recibido una explicación suficiente acerca de este procedimiento, que la ha entendido, que ha podido efectuar cuantas preguntas ha deseado y que, en definitiva, está voluntariamente de acuerdo en participar en el proyecto.

Usted recibirá una copia firmada de esta hoja de información para que la guarde o para que la comente con su médico, familia o con cualquier persona que desee comentarla.

D./Dña.: **VICENTE BORREGUERO BEJAR**, con DNI/Pasaporte nº **50144435L** en calidad de paciente o, en su defecto D./Dña con DNI/Pasaporte nº _____ como Representante y/o Tutor del paciente, mayor de edad, en pleno uso de mis facultades mentales manifiesto que:

<p>Fuenlabrada, a 28/10/2015 Firma del Paciente / Representante y/o Tutor</p>	<p>Fuenlabrada, a 28/10/2015. Identificación y firma del médico que informa</p>
 <p>CONSEJERÍA DE SANIDAD Comunidad de Madrid</p>	<p>Página 2 de 3</p>

Nota: Se deben firmar todas las páginas.

 <p>Hospital Universitario de Fuenlabrada SaludMadrid Comunidad de Madrid Cº del Molino, 2 - Tel. 91 600 60 00 28942 Fuenlabrada - Madrid</p>	<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO: DETECCIÓN Y ESTUDIO DE GANGLIO CENTINELA EN COLON</p>
---	---

1. He leído este documento de información sobre el proyecto "Identificación in vivo del ganglio centinela en pacientes con cáncer de colon mediante técnica intraoperatoria radioguiada. Detección de metástasis mediante el método osna y comparación con el estudio histológico convencional con apoyo inmunohistoquímico."
2. Se me han explicado las características y los objetivos del proyecto y sus posibles beneficios y riesgos.
3. Entiendo el propósito de este estudio y los procedimientos que se me realizarán en este estudio.
4. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
5. El consentimiento lo otorgo de manera voluntaria y sé que soy libre de retirarme del proyecto en cualquier momento del mismo, por cualquier razón y sin que tenga ningún efecto sobre mis cuidados médicos.
6. Entiendo que recibiré una copia de este documento como se firma a continuación.

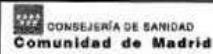
CONSIENTO EN

Participar en el proyecto de investigación "Identificación in vivo del ganglio centinela en pacientes con cáncer de colon mediante técnica intraoperatoria radioguiada. Detección de metástasis mediante el método osna y comparación con el estudio histológico convencional con apoyo inmunohistoquímico".

Sí No

Le Agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina y, de forma especial, en referencia a la investigación sobre la aparición, desarrollo y tratamiento del cáncer.

CONSIENTO	Fuenlabrada a ___ de _____ de _____
Nombre y Firma del Paciente / Representante y/o Tutor	Nombre y Firma de la persona que presenta el documento (el que presentó/explicó el documento)
Fecha: ___ de _____ de _____	Fecha: ___ de _____ de _____
Nombre y Firma del investigador (o co-investigador delegado que obtiene el Consentimiento)	Nombre y Firma de un testigo independiente
Fecha: ___ de _____ de _____	Fecha: ___ de _____ de _____

Fuenlabrada, a 28/10/2015 Firma del Paciente / Representante y/o Tutor	Fuenlabrada, a 28/10/2015. Identificación y firma del médico que informa
 <p>CONSEJERÍA DE SANIDAD Comunidad de Madrid</p>	<p style="text-align: right;">Página 3 de 3</p>

Nota: Se deben firmar todas las páginas.

