



Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Medicina

Departament de Cirurgia

**Utilidad del ganglio centinela en la estadificación
del cáncer de colon izquierdo**

Tesis Doctoral

Rubén Hernando Tavira

Directores:

Dr. D. Salvador Navarro Soto

Dr. D. Xavier Serra Aracil

Prof. D. Xavier Rius i Cornadó

Barcelona, 2007

A mis padres por su confianza y el esfuerzo que realizaron para que pudiera desarrollar mis estudios en la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

A mi esposa Gloria, y a nuestras dos hijas Ariadna y Berta, por su comprensión y constante apoyo ante las horas de trabajo invertidas en la realización de este proyecto.

A los doctores Salvador Navarro Soto, Director del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo de la Corporació Parc Taulí, Xavier Serra Aracil, Coordinador Clínico del servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo de la Corporació Parc Taulí, y Xavier Rius i Cornadó, Catedrático de Patología Clínica y Quirúrgica de la UAB, directores de esta Tesis Doctoral, por su constante estímulo y por su ayuda en la elaboración y realización de este trabajo.

Al doctor Jordi Bombardó Juncà, Coordinador de la Unidad de Coloproctología del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo de la Corporació Parc Taulí, que hizo que me interesara en la estadificación linfática del cáncer colorrectal, por su constante apoyo al proyecto.

Al doctor Alex Casalots Casado, del Servicio de Anatomía Patológica de la Corporació Parc Taulí, por su extraordinaria profesionalidad y dedicación, que ha permitido llevar a puerto una parte esencial de este proyecto.

A los doctores Juan Carlos Martín y Esther Mena González, del Servicio de Medicina Nuclear de la Corporació Parc Taulí por su constante apoyo y total disponibilidad, sin su concurso no hubiera sido posible el presente trabajo.

A los doctores Félix Junquera Flórez, Enric Brullet Bedit y Rafael Campo Fernández de los Ríos, del Servicio de Digestología de la Corporació Parc Taulí por su dedicación y apoyo prestados.

Al doctor Carles Pericay Pijaume, del Servicio de Oncología de la Corporació Parc Taulí, por su respaldo al proyecto.

A los doctores Isidro Ayguavives Garnica, Manuel Alcántara Moral y Laura Mora López, de la Unidad de Coloproctología del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo de la Corporació Parc Taulí, por su ayuda desinteresada en la realización de este estudio.

A los doctores María Mercè Rey Ruhi, Directora del Servicio de Anatomía Patológica de la Corporació Parc Taulí, Luís Berna Roqueta, Director del Servicio de Medicina Nuclear, Eugeni Saigí Grau, Director del Servicio de Oncología por su respaldo a la realización de este trabajo.

A la Fundació Parc Taulí y a su Director Lluís Blanch Torra por el apoyo económico prestado que ha permitido la realización de este estudio.

Al personal de enfermería de Cirugía General, Bloque Quirúrgico, Medicina Nuclear y Digestología por su comprensión y ayuda a lo largo del desarrollo práctico de este trabajo.

A todos los pacientes afectos de cáncer de colon que de forma desinteresada se han prestado a formar parte de este estudio que puede permitir ayudar a otras personas en situación semejante a la suya.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Causalidad del cáncer colorrectal.	8
1.1.1 Factores medio-ambientales.	11
1.1.2 Intervenciones médicas.	13
1.1.3 Etiopatogenia.	14
1.2. Anatomía quirúrgica del colon.	16
1.3. Drenaje linfático del colon.	17
1.4. Diseminación del cáncer colorrectal.	18
1.4.1 Diseminación directa en el plano de la pared intestinal.	18
1.4.2 Diseminación radial a través de la pared intestinal.	22
1.4.3 Diseminación transperitoneal.	24
1.4.4 Diseminación por el sistema linfático extramural.	24
1.4.5 Diseminación linfática desde el carcinoma de colon.	25
1.4.6 Frecuencia de la metástasis.	26
1.4.7 Repercusión de la cuantía de extensión directa del tumor primario sobre la probabilidad de metástasis presentes en los ganglios linfáticos regionales.	27
1.4.8 Diseminación desde el cáncer de recto.	28
1.4.8.1 Vías de diseminación ascendente.	28
1.4.8.2 Vías de diseminación lateral.	28
1.4.8.3 Vías de diseminación descendente.	29
1.4.8.4 Frecuencia de las metástasis linfáticas.	31
1.5. Estadificación del cáncer colorrectal.	32
1.5.1 Estadificación TNM.	34
1.6. Extensión de la resección quirúrgica según la localización tumoral.	36
1.7. Pronóstico de cáncer colorrectal.	38
1.8. Fundamentos del estudio del ganglio centinela.	39
1.8.1 Historia del ganglio centinela.	39
1.8.2 Técnica de detección del ganglio centinela.	40
1.8.3 Técnica del ganglio centinela “in vivo”.	41
1.8.4 Técnica del ganglio centinela “ex vivo”.	41
1.8.5. Técnica del Ganglio Centinela “mixta”.	42

1.8.6. Utilización de radioisótopos.	42
1.8.7. Técnica de GC en las intervenciones laparoscópicas.	43
1.8.8. Curva de aprendizaje.	44
1.8.9 Definición de micrometástasis	44
2. HIPÓTESIS.	47
3. OBJETIVOS.	47
4. MATERIAL Y METODOS.	49
5. RESULTADOS.	56
5.1 Supraestadificación con la técnica del GC.	56
5.2 Comparación de las técnicas del GC.	64
6. DISCUSIÓN.	69
7. CONCLUSIONES.	80
8. BIBLIOGRAFÍA.	82

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es la principal causa de mortalidad para todas las enfermedades gastrointestinales. La enfermedad es más prevalente en países altamente desarrollados a excepción de Japón donde la incidencia es moderada. Estas variaciones están menos vinculadas a los caracteres raciales que a las influencias del ambiente como lo demuestra el hecho de que si una población emigra desde un país de baja incidencia a otro de alta incidencia, pasado un periodo de aclimatación alcanza a la larga el mismo riesgo de sufrir cáncer de colon que la población en la que se ha integrado. El CCR es una enfermedad propia de personas añosas, siendo el 50% de los pacientes mayores de 60 años, aún cuando puede aparecer en casi todas las edades¹.

1.1. CAUSALIDAD DEL CANCER COLORRECTAL

Las diferencias observadas en la incidencia del CCR entre las áreas geográficas, la evidencia del distinto riesgo generacional y la modificación de la incidencia en los emigrantes, plantea una causalidad basada primordialmente en factores medio ambientales, sociales o culturales.

La profusión de estudios epidemiológicos han estado basados en hipótesis sobre múltiples factores de causalidad que, si bien muchos alcanzan asociación con significación estadística, por el momento ninguno de ellos sustenta con fuerza una causalidad incontestable, extendiéndose una sombra de duda, tanto por los resultados contradictorios de los estudios, como por tener carácter de asociación indirecta o no estar suficientemente controlados los sesgos a pesar de su evidencia estadística, no cumpliendo los necesarios criterios de coherencia, dosis-respuesta, plausibilidad ni consistencia^{2,3}.

Además, la multiplicidad de factores asociados al CCR y de las hipótesis que las sustentan, hace imposible precisar en cada enfermo una causa suficiente⁴, por lo que no se pueden proponer intervenciones individuales o colectivas de prevención primaria más allá de recomendar una alimentación equilibrada y un estilo de vida saludable.

Los factores asociados a la poliposis, adenoma y al CCR según revisiones sistemáticas recientes^{5,6} se resumen en cuatro grupos: factores biológicos (hereditarios, patología intestinal y otros); factores medio-ambientales o sociales (de riesgo o de protección); intervenciones médicas y factores etiopatogénicos que se sintetizan en la tabla 1.

La herencia^{5,7} tiene escaso impacto en la incidencia poblacional (alrededor de un 5% de los casos de CCR), si bien en el 1% de los casos de poliposis adenomatosa familiar (PAF), y entre el 2 y el 6% de los casos de cáncer colorrectal hereditario no poliposis (CCRHNP), por su presentación antes de los 50 años, y la indefectible conversión en CCR en el 100 ó 70% de los portadores genéticos respectivamente, ocasiona una importante pérdida de años potenciales de vida. El 50% de los descendientes de estos enfermos son portadores de las anomalías genéticas.

Por otro lado, el CCR hereditario, que afecta solamente a parientes en primer grado, sólo hijo o hermano (riesgo relativo (RR) = 1,7), acumula el 20% de los casos, lo que puede justificar el seguimiento sistemático preventivo en estas personas. Los demás parientes tienen la misma probabilidad individual de padecer pólipos adenomatosos, adenomas y cáncer que la población en general. Por otro lado, los enfermos que han sido intervenidos quirúrgicamente de CCR padecen un segundo cáncer colorrectal primario entre el 1,5 y 3,18% en los 5 primeros años tras la intervención. Del mismo modo los pólipos adenomatosos presentan un riesgo relativo (RR) entre 3,5 a 6,5 veces más de desarrollar CCR⁸.

Tabla 1. Causalidad del cáncer colorrectal.

A.- Factores biológicos.

1.- Hereditarios.

- Poliposis colónica familiar (PCF).
- CCR hereditario no polipósico (CCRHNP).
- CCR hereditario.

2.- Patología intestinal.

- Pólipos.
- Displasia.
- CCR previo.

3.- Otros

- Diabetes.
- Secreción de ácidos biliares.
- Colectomía.
- Radiación pélvica.
- Acromegalia.
- Anastomosis ureterocólica.
- Cáncer de ovario, endometrio y mama.

B.- Factores medioambientales.

1.- Factores de riesgo.

- Dieta.
 - Consumo de grasas animales/colesterol.
 - Consumo de carne.
 - Preparación de alimentos.
- Tabaco.
- Alcohol.

2.- Factores protectores.

- Dieta.
 - Consumo de fibra vegetal en alimentos.
 - Frutas, hortalizas y legumbres.
 - Vitaminas E, retinoides y calcio.
- Actividad física.

C.- intervenciones médicas (protectoras).

- Administración de AINE
- Suplementos de vitaminas, ácido fólico y calcio.
- Extirpación de pólipos intestinales.
- Detección precoz.
- Terapia anticolesterol

D.- Factores etiopatogénicos.

El resto de factores biológicos (tabla 1), tiene escasa repercusión epidemiológica, sin perjuicio del interés del seguimiento clínico individual como en el caso del mayor riesgo de las enfermas diabéticas puesto en evidencia en dos estudios prospectivos (RR = 1,43 y RR = 1,55), no existiendo riesgo incrementado en los hombres diabéticos. También en los colecistectomizados el riesgo está incrementado (RR = 1,16). Del mismo modo la historia personal incrementa el riesgo para el cáncer de mama (RR = 1,1), el cáncer de endometrio (RR = 3,4) y el de ovario (RR = 3,7).

1.1.1 Factores medio-ambientales

La intervención de la dieta^{5,6,7} constituye la hipótesis más sólida de la causalidad. El consumo elevado de grasa total, colesterol, proteínas, calorías, alcohol y carne (tanto roja como blanca), y la dieta baja en calcio y ácido fólico se asocian al incremento de la incidencia del cáncer colorrectal puesto en evidencia por algunos estudios prospectivos y de caso-control. Sin embargo, buena parte de los estudios sobre dieta entran en contradicción con estos resultados al no ser siempre comparables metodológicamente y por no estar ajustados todos los factores de confusión. No obstante, las evidencias más contrastadas sobre la dieta son: el consumo alto en grasas/colesterol incrementa el riesgo de recidiva de adenoma en polipectomizados; y la mayor proporción de secreción de ácidos biliares en intestino en coherencia directa con la ingesta de grasa puede dar origen a carcinógenos, que se asocian también al incremento de incidencia de CCR.

La evidencia de que la fibra vegetal de la dieta en especial la fibra de la celulosa y de salvado de cereales ejerce un efecto protector^{5,7,8}, ha sido constatada en varios estudios caso-control para todas las localizaciones tumorales del CCR, y en distintas áreas geográficas y tanto para mujeres como para hombres. El efecto dosis-respuesta también está demostrado por el consumo de legumbres⁹ según sea de 1 ó 2 veces por semana (RR = 0,53; IC 95% 0,33-0,86). Sin embargo, no fue encontrado este efecto en el estudio prospectivo Nurse's Health Study¹⁰ de alta valoración metodológica en su diseño (RR = 0,95; IC 95% 0,73-1,25).

Los datos del European Prospective Investigation of Cancer (EPIC)¹¹, ponen de nuevo en evidencia el efecto protector del alto consumo de fibra vegetal respecto al bajo consumo (RR ajustado 0,75, $p \leq 0,005$). La alta ingesta puede reducir en un 40% el riesgo de padecer cáncer colorrectal. España presenta el consumo más alto de fibra vegetal con 25,52 gramos por día entre los países participantes del EPIC.

La administración de fibra no ha tenido efecto protector en el adenoma recurrente, lo que sugiere que la fibra vegetal es un marcador de otros factores protectores que la acompañan. Contenidos en vegetales, frutas, legumbres y frutos secos, cuyo consumo, debido bien a la fibra, o a las vitaminas antioxidantes, al ácido fólico, al selenio, a otros micro nutrientes, flavonas, o a constituyentes de tales alimentos, se estiman como protectores para altos consumidores frente a los de bajo consumo (RR = 0,5). Este efecto protector de los alimentos citados no está comprobado sin embargo en los estudios prospectivos Nurse's Health Study (88.764 mujeres) y en el Health Professionals' Follow up study (47.325 hombres)¹².

También ha merecido atención la preparación de alimentos, el cocinado, asado o fritura, lo que forma parte de hábito alimentario y de gustos personales muy diferenciados, tanto individuales como colectivos, pudiendo tenerse en cuenta la incorporación de cancerígenos en la pirólisis de las carnes asadas o fritas. Del mismo modo, la acción bacteriana sobre los compuestos nitrados de los alimentos se hipotetiza pueda derivar en cancerígenos de actuación en el tracto digestivo.

En cuanto a los estilos de vida, el consumo de alcohol y el hábito tabáquico se asocian al incremento del CCR en varios estudios epidemiológicos, en tanto que la actividad física se manifiesta como protectora^{5,8}. El consumo de tabaco, basándose en períodos de inducción muy largos de 20 a 35 años o más, y en las personas "grandes fumadores", es factor de riesgo para el cáncer colorrectal tanto en estudios en EE.UU. evaluado en un incremento del 50% (un paquete de cigarrillos respecto a no fumadores)^{13,14}, o del 57 a 71% en grandes fumadores en Finlandia, o de tres veces más para el cáncer rectal entre gemelos, según hábito tabáquico, lo que sugiere la intervención de los cancerígenos del tabaco en la secuencia adenoma/carcinoma¹⁵.

Sin embargo, no se encuentra efecto del hábito tabáquico en las recidivas de los adenomas a los cuatro años de la primera colonoscopia con extirpación de pólipos.

En relación con el consumo de alcohol existe también evidencia respecto al cáncer colorrectal, aunque con asociación de carácter débil, y del mismo modo se asocia con la incidencia de grandes adenomas.

La actividad física, tanto laboral como de ocio, se manifiesta como factor protector del cáncer colorrectal; sin embargo, esta asociación se encuentra sometida a factores de confusión como es la dieta y el bajo consumo de tabaco y alcohol.

1.1.2 Intervenciones médicas

La administración de ácido acetil salicílico y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como el sulindac o piroxican en enfermos con patología inflamatoria intestinal se han manifestado en algunos estudios, no en todos, como protectores del desarrollo de CCR, reduciéndose la mortalidad por CCR en un 40 % en personas con consumo habitual de la AAS¹⁶. Se ha encontrado un mayor efecto con dosis menores de 80 mg de AAS que con las habituales de 325 mg, recomendadas para la prevención de enfermedades cardiovasculares¹⁷.

El efecto beneficioso de los AINE se observa en relación a la recidiva de adenomas en los polipectomizados y en la reducción del tamaño y número de adenomas en la poliposis familiar. Ello sitúa a los AINE en la posibilidad de actuar en una prevención primaria no comprobada en personas de alto riesgo. Sin embargo, como prescripción preventiva individual deben ser valorados los efectos adversos: úlceras gastrointestinales o hemorragia digestiva según la susceptibilidad individual.

La terapia hormonal sustitutiva se manifiesta en las mujeres con tratamiento continuo asociada a un descenso entre el 20 y 34% en el riesgo de CCR y desaparece el efecto a los cinco años de abandonar la terapia.

En un estudio prospectivo de cohorte de más de 35.000 mujeres se observó como efecto protector frente al CCR el suministro de vitamina E (RR = 0,3; IC

95% 0,19-0,59) y el ácido fólico (RR = 0,69; IC 95% 0,52-0,93) en dosis superiores a 400 mg/día¹⁸. En el mismo sentido se ha observado relación inversa entre administración de vitamina D y el CCR¹⁹.

Se ha puesto en evidencia el efecto protector en el CCR de los inhibidores de la reductasa HMG-CoA que reducen los niveles de colesterol, lo que corrobora a este lípido como factor de riesgo para el CCR e inductor de adenomas. La droga indicada reduce la apoptosis e inhibe la proliferación de las células de cáncer de colon en estudios experimentales.

La administración de suplemento de calcio se ha manifestado en los casos de neoplasias distales como protector a dosis diarias superiores a 1.200 mg/día versus 500 mg/día (RR = 0,65; IC 95% 0,43-0,98)²⁰.

Dosis superiores de 3.000 mg/día de calcio aparece de forma discreta como quimioprevención de recidivas de adenomas (RR = 0,81; IC 95% 0,67-0,99).

La extirpación de pólipos consigue una reducción superior al 75% de la incidencia de CCR en las personas sometidas a la colonoscopia²¹ y la previa intervención con el test de sangre oculta en heces (TSOH) que somete al 85% de los positivos a colonoscopia a doble enema de bario, reduce la incidencia de CCR a los 18 años de seguimiento en un 20% cuando se lleva a cabo el screening anual y en un 17% si el screening es bianual. Respecto la mortalidad, el TSOH consigue reducciones del 33%²².

1.1.3 Etiopatogenia

Los hallazgos en los estudios epidemiológicos aportan posibles hipótesis etiopatogénicas del CCR sobre factores genéticos o bioquímicos a escala celular. La interacción entre los lípidos de la dieta y el incremento de secreción de sales biliares con su transformación en diacilglicerol, que estimula a la proteín-quinasa C dentro de las células intestinales, aumenta el riesgo de desarrollar CCR²³.

El cocinado de carnes y pescados puede dar origen a carcinógenos^{7,8}, así como a la formación de aminas heterocíclicas, contribuyendo al riesgo de CCR, hipótesis no confirmada en otros estudios^{24,25}.

Por el contrario, existen distintos estudios que abogan por un efecto protector frente al CCR. El mecanismo de actuación de la fibra vegetal se considera sirve de sustrato a la acción bacteriana para generar cadenas cortas de ácidos grasos como butirato con capacidad anticarcinógena, originando una reducción de la actividad mutagénica de los componentes de la masa fecal. Otro mecanismo de actuación de la fibra sería combinarse con los ácidos biliares, aumentar la masa fecal por imbibición de agua y, con ello, disminuir el tiempo de tránsito en colon, aumentando la rápida excreción de ácidos biliares y reduciendo el tiempo de inducción de los cancerígenos en sigma y recto²⁶.

Las frutas, vegetales, legumbres, disponen de nutrientes antioxidantes o anticancerígenos (compuestos fenólicos, sulfurados y flavonas) que se implican en la hipótesis de actuación protectora²⁷. Para el ácido fólico el efecto protector se implica por la actuación sobre un enzima reductor implicado en su metabolismo²⁸.

El efecto protector del calcio puede depender de un genotipo para los receptores de la vitamina D, y por otro lado por efecto quelante de los ácidos biliares, neutralizando su efecto cancerígeno²⁹.

La acción de los AINE se pretende explicar por reducir el contenido de prostaglandina en la mucosa del colon y recto^{30,31}.

De nuevo, como efecto desencadenante, debemos citar la acción de alcohol, que se justifica basándose en la hipótesis de que puede actuar estimulando la proliferación celular, activando procancerígenos intestinales e impedir la absorción de potenciales carcinógenos³². El incremento del riesgo de CCR en relación al consumo de tabaco se justifica por la ingestión por vía digestiva de cancerígenos existentes en el humo.

Se concluye de la revisión de los factores de la causalidad que, si bien se ha evidenciado en los estudios epidemiológicos factores de riesgo y factores protectores, tanto dietéticos, como de estilos de vida y genéticos, ninguno de ellos justifica una posible intervención preventiva individual o colectiva mas allá de la recomendación de una vida saludable: dieta equilibrada baja en grasas y ejercicio físico sin consumo de alcohol y sin hábito tabáquico, por cuanto que

no existe una causalidad de suficiente fuerza, coherencia, consistencia, dosis efecto, ni plausibilidad que permita una intervención eficaz.

Puede recomendarse la administración diaria de AAS (de preferencia 80 mg) y de calcio para la población en general (prevención primaria) o intervenidas por pólipos-adenomas (prevención secundaria), y sobre todo en personas con alto riesgo de padecer CCR, valorando en todo caso los efectos individuales adversos potenciales de hemorragias en el tracto digestivo.

La evidente reducción de la incidencia en EE.UU. plantea que sería posible en España la intervención para un cambio de la tendencia, previsiblemente a través de la prevención secundaria, lo que ha sido objeto de una reciente revisión³³.

1.2. ANATOMÍA QUIRÚRGICA DEL COLON.

Se pueden distinguir anatómicamente ocho partes sucesivas: ciego, colon ascendente, ángulo hepático, colon transverso, ángulo esplénico, colon descendente, colon ílaco y colon sigmoide o pélvico.

El colon derecho incluye el ciego, segmento inicial del colon situado debajo de la desembocadura del íleon, el colon ascendente, relativamente superficial que remonta el flanco derecho para incurvarse a nivel del ángulo hepático.

El colon transverso cruza el abdomen y lo divide en dos compartimentos. La parte derecha del colon transverso recorre casi horizontalmente la curvatura mayor gástrica. El colon transverso izquierdo se profundiza dirigiéndose hacia arriba en el hipocondrio izquierdo. El ángulo esplénico está situado en profundidad. El colon se curva entonces hacia abajo para descender por el flanco izquierdo (colon descendente). Frente a la cresta ílica, toma una dirección oblicua hacia adentro para alcanzar el borde interno del músculo Psoas (colon ílaco). Cruza así la fosa ílica izquierda. La parte terminal, pélvica, del colon izquierdo (sigmoidea) describe un arco de concavidad inferior que va desde los vasos ílicos izquierdos a la cara anterior de la tercera vértebra sacra.

Para el cirujano, es sobre todo útil distinguir el colon derecho cuya vascularización depende de la arteria mesentérica superior, y el colon izquierdo que depende de la mesentérica inferior. este punto corresponde en la práctica a la unión del tercio medio con el tercio izquierdo del transversal, es decir, en situación operatoria, al punto de cruzamiento con el borde condral izquierdo. El colon derecho y el izquierdo son entidades anatómicamente distintas, con vascularizaciones arteriales y venosas propias, drenaje linfático independiente e inervación separada.

1.3. DRENAJE LINFÁTICO DEL COLON

Los linfáticos cólicos siguen los pedículos arteriovenosos.

Los linfáticos del colon derecho se dividen en cinco grupos:

- Epiploico, en contacto con la pared intestinal.
- Parabólico, en contacto con la arcada circundante.
- Intermedio, a lo largo de los pedículos.
- Principal, en el origen de las ramas cólicas de la arteria mesentérica.
- Central, Periaortico-Cavo, en cavidad posterior de la cabeza del páncreas (confluente retroportal).

El vaciamiento linfático, cuando es necesario, implica siempre el sacrificio de los pedículos vasculares correspondientes. El grupo central no es accesible a exéresis.

Los linfáticos izquierdos tienen la misma topografía que en la derecha. El grupo mesentérico central inferior se sitúa en el origen de la arteria mesentérica inferior después de la liberación e inclinación de la cuarta porción del duodeno.

El drenaje linfático del colon transversal plantea un problema al cirujano pues se realiza hacia los colectores derechos o los izquierdos o, cuando existe, a lo largo del pedículo cólico medio (cólica media), es decir directamente hacia los colectores periaórticos retropancreáticos que son inaccesibles a la exéresis.

1.4. DISEMINACIÓN DEL CANCER COLORRECTAL

En sus fases iniciales, el cáncer de colon toma probablemente la forma de una zona de engrosamiento localizado de la mucosa normal o de un nódulo duro en un adenoma preexistente, pero tiende a configurarse en uno de los cinco tipos macroscópicos bastante distintivos: polipode, ulcerativo, anular, infiltrante difuso o las formas de carcinomas coloides.

Los carcinomas de colon y recto pueden diseminarse de cinco maneras:

- 1.- Por contigüidad directa en el tejido de la pared intestinal y a través de ella.
- 2.- A través de la cavidad peritoneal.
- 3.- Por la vía de los ganglios linfáticos extramurales.
- 4.- Por medio del torrente sanguíneo.
- 5.- Por implantación sobre superficies cruentas o líneas de sutura del intestino.

1.4.1 Diseminación directa en el plano de la pared intestinal.

Es un parte integral del proceso de expansión del tumor. Este crecimiento expansivo ocurre en todas las direcciones, pero en general parece ser más rápido en el eje transversal que en el longitudinal del colon y, es el mecanismo por el cual un pequeño tumor aislado asume eventualmente una perfecta forma anular. No obstante pueden ser necesarios muchos meses para alcanzar este último estado. Miles (1926) suponía que en la ampolla rectal el carcinoma medio requeriría unos seis meses para atravesar cada cuadrante de la circunferencia intestinal, de manera que al encontrar una lesión completamente anular se podía admitir que por lo regular existía desde, por lo menos, dos años antes³⁴.

Más allá del margen macroscópico del tumor primario existe una zona de diseminación microscópica en los plexos linfáticos que están situados en los planos submucoso, intermuscular, subseroso o subfascial de la pared del colon. Handley (1913) sostenía que la permeabilidad linfática, particularmente en la submucosa, podía ser en ocasiones muy extensa, hasta el punto de encontrarse células malignas a muchos centímetros de distancia del borde

palpable del tumor. Pero Cole (1913), Monsarrat y Williams (1913) y Leitch (1926) no consiguieron confirmar este hallazgo y llegaban a la conclusión de que la diseminación microscópica constituía generalmente un proceso muy limitado, que rara vez alcanzaba más de algunos milímetros más allá del tumor. Con la restauración de las resecciones preservadoras del esfínter anal para el carcinoma de recto, esta cuestión adquiere importancia, ya que es esencial para el cirujano conocer el margen de seguridad mínimo de la pared rectal, aparentemente normal, que tiene que ser extirpada a distancia del tumor en tales operaciones. Según Westhues (1934), la diseminación microscópica nunca se extendía más de 15 a 20 mm distal al borde inferior del tumor, y Black y Waugh (1948) consideraban que por lo general era todavía menos extensa. Quer y cols. (1953) estaban de acuerdo en que la mayoría de los casos de cáncer rectal la propagación microscópica distal, en la pared del recto era muy restringida, y que podía ser abarcada con seguridad mediante la resección de un margen de 25 mm. de pared aparentemente normal en la periferia del tumor, si bien destacaban que en tumores muy anaplásicos la diseminación podía de a veces mucho más extensa, hasta varios centímetros.

Grinnell (1954) encontró también que en algunos casos muy avanzados, esencialmente incurables, sometidos resecciones paliativas, la propagación microscópica directa podía ser muy extensa. Incluso en el promedio de los casos más favorables logró observar células cancerosas a veces hasta a 40 mm por fuera del borde macroscópico de la lesión, advirtiendo que margen de 50 mm de intestino aparentemente normal, distal a la lesión, debería ser mantenido en una operación de resección. Contrariamente a la mayoría de los autores, consideraba que la propagación intramural tenía lugar por paso a través de las vías linfáticas, pero no de la submucosa, sino de la grasa subserosa o perirrectal, rara vez por penetración en una vena o extensión directa en la capa muscular.

Penfold (1974) comunicó que de las 546 piezas carcinomatosas examinadas sistemáticamente en el Departamento de Anatomía patológica del St Mark's Hospital durante los años de 1958 a 1970 se demostró en 48 (8.8%) una propagación hacia abajo en la pared rectal o hacia los ganglios linfáticos perirrectales por debajo del borde inferior del tumor primario. En 31 de estos

pacientes con tumor de alto grado de malignidad, fallecidos todos ellos por recidiva local a pesar de las exéresis abdominales, la extensión en sentido distal casi en la totalidad de los pacientes se hizo dentro de los 2 ó 3 primeros centímetros, pero en algunos casos llegó a los 6 cm. Williams y cols. (1983) señalan que la diseminación intramural distal en las piezas de cáncer rectal de su propia casuística nunca se extendió más allá de 1 cm.

Como se deducirá de la exposición precedente, ha habido diferencias de opinión con respecto a que margen de pared rectal en apariencia normal, situada por debajo del tumor, se debe extirpar en un caso de resección rectal. Los estudios "in Vitro" sobre la extensión precisa de la tumoración en la pared rectal dejan alguna duda sobre el grado de exactitud. Para los cirujanos sería más convincente el examen "in Vivo" del tejido donde se practicaron las resecciones con el segmento distal de seguridad de variable longitud registrando el resultado obtenido mediante un cuidadoso seguimiento periódico y prestando particular atención a la frecuencia de las recidivas locales en la anastomosis.

En relación con este tema, revisten gran interés los estudios de seguimientos realizados por Manson y cols (1976), Hermanek y Grall (1981) y Killingback (1982). Los tres grupos de autores relacionaron la frecuencia de la recidiva local con el tamaño de los márgenes de seguridad en las piezas reseçadas de largas series de cánceres rectales tratados por resección anterior. Manson y cols. (1976) y Killingback (1982) no lograron establecer una relación consistente entre la frecuencia de las recidivas y la longitud del margen de seguridad, variable entre 1 a 5 cm Si bien es cierto que Manson y cols. registraron una frecuencia más baja con un margen mayor o igual a 7 cm ; el número de casos con este margen fue muy reducido.

Por el contrario, un estudio muy completo Hermanek y Gall (1981) reveló que el mejor pronóstico en términos de infrecuencia de recidiva local y alto porcentaje de supervivencia a los 5 años se obtuvo cuando el margen de seguridad tenía más de 3 cm de longitud en la pieza fresca, no fijada. Subrayan estos autores que esta regla es aplicable a pacientes con carcinomas y para todos los grados de malignidad y en las tres categorías de diseminación establecidas por Dukes. Este trabajo hubiera sido todavía más convincente si las recidivas locales

hubieran sido “anastomóticas” más bien que recidivas “locales” o “pelvianas”. También vale la pena comentar su afirmación de que un margen de 3 cm. en la pieza operatoria fresca equivale a 5 cm. de la medición por el cirujano sobre el foco operatorio después de la movilización del recto. Ekelund y cols. (1983), en un seguimiento entre 6 y 45 meses sobre 40 pacientes después de la resección anterior con el stapler circular registraron recidivas en 12 casos (30%). La distancia varió proporcionalmente al margen de seguridad. Así registraron un recidiva en 11 casos, con un margen distal más largo de 4 cm.; 9 recidivas en 24 casos con un margen entre 2 y 4 cm, y 2 recidivas en 6 casos con margen de longitud inferior a 2 cm

Al igual que en el estudio de Hermanek y Gall (1981), no se especifica con claridad cuantas recidivas hubo de tipo anastomótico. Estos resultados subrayan asimismo que la frecuencia de la recidiva también estuvo influida por las variaciones de grado de malignidad de Dukes. En este sentido, tiene interés recordar que, además de la expansión del tumor en la pared rectal, también puede producirse alguna propagación retrógrada en los vasos linfáticos perirectales y ganglios regionales siendo a veces necesario reseca los tejidos de alrededor del recto hasta la línea distal del intestino.

En vista de la información un tanto contradictoria extraída de estas diversas investigaciones, no es de extrañar que hasta la actualidad los cirujanos hayan sustentado opiniones diferentes en lo relativo al margen de seguridad a dejar en la resección anterior. Muchos cirujanos han seguido el consejo prudente de Grinnell (1954) y adoptaron un margen de 4 a 5 cm, a otros como Stearns y Schottenfeld (1971) y Localio y Eng (1975) les parecieron suficientes 2 ó 3 cm Después de las experiencias satisfactorias de Anson y cols (1976), Localio y Eng (1975) y Killingback (1981) ha habido cirujanos que han adoptado márgenes más reducidos, por ejemplo 1,5 ó 2 cm si las biopsias operatorias múltiples demostraban que el tumor que se reseca era bien diferenciado.

Es importante advertir que, una vez que el cirujano ha dejado confiadamente un margen de seguridad entre 4 y 5 cm, estimado durante la resección, puede ocurrir que esa distancia se convierta en otra mucho menor al examinar la pieza quirúrgica desde la cara mucosa después de la resección, debido a un error de juicio en la apreciación o a tomar la medida con el intestino atirantado

por la tracción excesiva. Por consiguiente si en la operación el cirujano acepta como adecuado un margen de seguridad algo más corto, puede encontrarse después que la línea de resección distal casi coincide con el borde inferior del tumor. Es conveniente llevar a cabo un atento examen de la pieza quirúrgica tan pronto como haya sido extirpada y antes de iniciar la anastomosis para asegurarse de haber dejado un razonable margen de seguridad. Esta precaución reviste máxima importancia cuando, de modo deliberado, se adopta una línea de resección más próxima al tumor.

1.4.2 Diseminación radial a través de la pared intestinal.

Coincidente con la expansión circunferencial del tumor, tiene lugar un proceso de penetración de la pared intestinal, siendo por lo general más avanzada en un punto correspondiente al centro o a la parte más antigua de tumor. Según se mencionaba anteriormente, la cuantía de la infiltración varía a menudo en proporción inversa al volumen superficial de la lesión.

Las capas submucosa y muscular van siendo gradualmente invadidas y, a menos que la progresión del proceso sea detenida por el tratamiento quirúrgico, el tumor alcanza en último término la grasa perirrectal, pericolónica o el peritoneo. Según Dukes (1940), esta fase ha sido alcanzada por el 85% de los cánceres rectales cuando son sometidos a intervención quirúrgica. La proporción de carcinomas de colon que han penetrado completamente en la pared intestinal, en el momento de la operación, es probablemente menor. El ulterior avance del proceso de propagación directa depende de la situación precisa del tumor. Si se haya en el recto y sobre todo en el plano posterior, se extiende a través de la grasa perirrectal, de la fascia propia y alcanza por último la fascia de Waldeyer. Como destaca Westhues (1934), esta representa, ciertamente, un considerable obstáculo a la ulterior diseminación, pero en los casos avanzados también puede ser penetrada, y entonces puede tener lugar la invasión del plexo sacro, del sacro o del cóccix. Si el tumor está situado en la parte extraperitoneal del recto sobre la cara anterior, encuentra relativamente poca grasa perirrectal, y la delgada fascia de Denonvilliers, es, al parecer, directamente penetrada, con el consiguiente desarrollo de adherencias con las

vísceras correspondientes: próstata, vesículas seminales, o vejiga en el hombre, y la pared vaginal posterior o el cuello del útero en la mujer. Con el tumor rectal por encima del repliegue peritoneal, la propagación directa hacia delante o los lados determina la invasión de la capa peritoneal que reviste la lesión. Esto puede dar lugar a diseminación transperitoneal, pero lo que quizás es más frecuente es que otros órganos como el útero, los anexos, asas de intestino delgado, el colon sigmoide o la vejiga, queden adheridos a la superficie peritoneal y sean eventualmente invadidos por el tumor³⁵.

En los carcinomas de colon, la extensión radial del tumor cuando está situado en la cara retroperitoneal determina eventualmente la infiltración de las estructuras abdominales posteriores: uréter, fascia o grasa perirrenal, y el músculo Psoas. No obstante, si su localización es anterior o posiblemente bilateral, entonces conduce a la invasión de la cubierta peritoneal, a menudo con adherencia secundaria a otros órganos abdominales, como intestino delgado o colon, estómago, órganos pélvicos o pared abdominal.

De hecho, las adherencias a otras vísceras o la pared abdominal o pélvica no son, en modo alguno, raras en el cáncer de colon y recto, y puede ofrecer al cirujano una voluminosa masa fija que implica a otras vísceras. Entonces, la erradicación del tumor necesitará la resección parcial o total de otros órganos adherentes o la extirpación de una porción de la pared abdominal. Sin embargo, es importante destacar que el examen anatomopatológico de las piezas obtenidas con semejante resección extensa muestra a menudo que la diseminación era mucho menos extensa de lo que se había temido en la intervención; es muy frecuente que las metástasis linfáticas sean escasas o inexistentes, y no es raro comprobar que las adherencias con las estructuras adyacentes sean puramente inflamatorias y que no contengan elementos malignos (Goligher, 1941; Dukes, 1951; Goligher y cols., 1951).

Aproximadamente en un tercio de estos casos la naturaleza de las adherencias es neoplásica. Así el pronóstico es a menudo mejor de lo que se había supuesto en el momento de la operación, y esto constituye, ciertamente, un incentivo para una cirugía esperanzadora.

1.4.3 Diseminación transperitoneal

La diseminación dentro de la cavidad peritoneal es una de las formas más graves de diseminación carcinomatosa desde el colon, puesto que coloca rápidamente la lesión fuera de toda esperanza de resección quirúrgica. En la fase más precoz de invasión peritoneal, la diseminación transcelómica puede estar limitada a la vecindad del tumor primario, con el posible desarrollo de carcinomatosis aisladas en el peritoneo adyacente. Es posible, desde luego, que algunos de estos nódulos no tengan su origen en una diseminación transperitoneal, sino en una diseminación en los linfáticos subperitoneales, como afirma Miles (1926). En una fase posterior, las metástasis peritoneales se extienden hasta que, finalmente, se produce una carcinomatosis peritoneal difusa, en la que el peritoneo parietal, el epiplón mayor y las vísceras adyacentes quedan sembrados de nódulos tumorales y se origina abundante ascitis.

1.4.4 Diseminación por el sistema linfático extramural

La importancia de la diseminación del cáncer de colon por medio de las vías linfáticas extramurales, con la producción de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, no necesita ser destacada, ya que la dirección y posible extensión de semejante diseminación desempeña un papel decisivo en el establecimiento del objetivo de la operación para la extirpación radical. A este respecto, debería señalarse que los ganglios linfáticos que drenan la linfa del punto donde radica un carcinoma de colon, pueden hipertrofiarse bien sea por los depósitos carcinomatosos o bien por la absorción séptica desde la superficie ulcerada del tumor.

Por lo general, los ganglios infectados son más blandos que los carcinomatosos, pero en la laparotomía es totalmente imposible distinguirlos con precisión (Mc Vay, 1922; Gabriel y cols, 1935). Y al contrario, cualquier metástasis ganglionar puede no estar asociada a hipertrofia o induración en los ganglios linfáticos.

En relación con este problema, resulta interesante el hallazgo de Jinnai y cols.

(Jinnai 1982) en las piezas quirúrgicas: alrededor del 50 % de los ganglios linfáticos con metástasis tenían entre 2 y 6 mm de diámetro. El medio más seguro al intentar la extirpación radical es siempre la resección de todo el territorio linfático relacionado con el tumor primario.

1.4.5 Diseminación linfática desde el carcinoma del colon.

El drenaje usual de la linfa desde los diversos segmentos del colon fue precozmente estudiado por Prioner y cols. (1903) y Jameson y Dobson (1907). Clogg (1908) fue uno de los primeros en investigar sistemáticamente la distribución efectiva de las metástasis linfáticas, desde los carcinomas situados en los diversos segmentos del colon, y sus observaciones fueron confirmadas y ampliadas por Hayes (1921), Rankin (1935), Rankin y Olson (1933), Raiford (1935), Coller y cols. (1940), Dukes (1945, 1951) y Gilchrist y David (1947). Todos emplearon una técnica simple de disección.

Más recientemente, Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) emplearon un método de diafanización, modificado del descrito por Westhues (1930), Monroe (1949), Picaren (1956) y Durkin y Haagensen (1980) para volver la pieza transparente, mediante sucesiva sumersión en solución del formol, alcohol y acetona. Con esta técnica fue posible demostrar un gran número de pequeños ganglios linfáticos que hubieran pasado desapercibidos en las disecciones ordinarias.

Estos estudios demuestran que las primeras metástasis suelen producirse en los ganglios parabólicos más próximos al tumor primario, estando con frecuencia únicamente afectados uno o dos ganglios. En numerosas ocasiones, los ganglios parabólicos son los únicos invadidos, pero en otras la propagación ganglionar es más extensa y comprende un número variable de ganglios situados hacia arriba, en la red arteriovenosa dependiente del segmento de intestino afecto. A medida que la neoplasia progresa, son invadidos los ganglios de los principales vasos cólicos inferiores que drenan el área neoplásica intestinal, y el proceso se extiende de modo gradual hacia arriba a través de la cadena de ganglios acompañante de los vasos hasta alcanzar, por último, los ganglios de las arterias hemorroidal superior o mesentérica inferior. Como vemos, la diseminación linfática sigue muy de cerca el curso de los

vasos sanguíneos que irrigan el área del carcinoma, por lo que los apropiados territorios de resección pueden ser configurados con rapidez por referencia al aporte arterial.

En los últimos estadios de la enfermedad o en los tumores anaplásicos, conocemos, por la experiencia recogida en las laparotomías y las necropsias, que puede haber una extensa invasión de los ganglios paralelos a la aorta abdominal, así como de los situados en otros lugares del abdomen y diversas cavidades orgánicas. Ello indica una situación incurable (Grinell, 1966).

Desde el punto de vista terapéutico, tiene mucha importancia saber que la progresión de la diseminación linfática en algún caso se aparta del curso que acabamos de describir, y salta algunos ganglios distales sin afectarlos para invadir otros localizados más arriba en la cadena. La mayoría de autores citan este hecho como rareza pero Jinnai y cols. (Jinnai 1982) lo encontraron en aproximadamente el 30 % de sus piezas operatorias de carcinoma colónico, y a veces, estas “metástasis saltarinas” como ellos las denominaron, se descubren muy alejadas en dirección proximal en los ganglios mesentéricos superiores o inferiores.

1.4.6 Frecuencia de las metástasis.

En una serie de 500 piezas procedentes de carcinomas de colon obtenidas por resección, Dukes (1951) encontró metástasis linfáticas en sólo el 38 % y estas estaban limitadas a uno o dos ganglios subyacentes a la lesión primaria. Esto era frecuentemente así, aun cuando una diseminación directa extensa hubiese tenido lugar en la pared abdominal o vísceras adyacentes. Con una técnica de diafanización meticulosa, Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) encontraron metástasis ganglionares en aproximadamente en el 60 % de piezas quirúrgicas examinadas de cánceres colónicos; cierto número de metástasis se hallaban en ganglios de 4 a 6 mm de diámetro, pero la mayoría se produjeron en las adenopatías de mayor tamaño.

Se han producido diferencias de opinión respecto a la relativa frecuencia de metástasis ganglionares en tumores de las mitades derechas e izquierdas del colon. Así Gilchrist y David (1947) encontraron doble número de metástasis en

las neoplasias de colon derecho, pero Rankin y Olson (1933), Coller y cols. (1940) y Lloyd-Davies y cols (1953) comunicaron no haber visto diferencias significativas de frecuencia entre las dos mitades del colon. Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) no consiguieron diferencias de frecuencia en las metástasis ganglionares existentes entre los diversos segmentos colónicos, pero observaron que, la propagación metastático en los ganglios de la cadena parabólica paralela al eje mayor del intestino es más grande en los tumores del colon derecho que en los del colon sigmoide.

En los cánceres de sigma, por regla general las metástasis asentadas en los ganglios parabólicos estaban confinados en una zona extendida desde 5 cm. en dirección proximal a 5 cm en sentido distal de la lesión primaria.

Con carcinomas de colon derecho, la zona de las metástasis abarca desde 5 cm. por encima del tumor hasta 7,5 cm por debajo de él.

1.4.7 Repercusión de la cuantía de extensión directa del tumor primario sobre la probabilidad de metástasis presentes en los ganglios regionales.

Un dato de gran importancia práctica es si, como se cree generalmente, los carcinomas limitados a las capas submucosa o muscular de la pared del colon muy rara vez, o nunca, metastatizan en los ganglios linfáticos, a no ser que posean un alto grado de malignidad.

En un meticulosos estudio sobre la diseminación linfática de los carcinomas colorrectales, Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) observaron que cuando el tumor está confinado en la submucosa y en la capa muscular, y todavía no han alcanzado la serosa o los tejidos pericolónicos, nunca existen metástasis ganglionares. Esta comprobación contrasta con sus hallazgos en los carcinomas rectales.

Con relación a las observaciones comunicadas por diversos colonoscopistas, también interesa considerar la frecuencia de metástasis ganglionares halladas después de colectomías en pacientes con pólipos afectos de focos o nidos de carcinoma infiltrante previamente extirpados endoscópicamente. En la mayoría de estos casos, los ganglios linfáticos de la pieza de resección quirúrgica

carecían de metástasis, pero en algún caso se descubrieron adenopatías metastásicas.

1.4.8 Diseminación linfática desde el cáncer de recto.

Miles (1910, 1926)³⁶ fue el primero en estudiar este proceso de una manera verdaderamente exhaustiva. En sus estudios, ahora clásicos, investigó el modo de diseminación del cáncer rectal por el sistema linfático desde varios puntos de vista:

- 1.- Observando la posición de las metástasis durante la práctica de las operaciones para esta enfermedad.
- 2.- Anotando las zonas de recidiva tras el tratamiento quirúrgico.
- 3.- Estudiando los hallazgos de autopsia de los enfermos fallecidos por carcinoma avanzado e inoperable del recto.
- 4.- por examen anatomopatológico de las piezas quirúrgicas de cáncer rectal.

Todas estas fuentes de información le llevaron a la conclusión de que la diseminación linfática podía tomar tres direcciones, hacia arriba, hacia los lados y hacia abajo, de manera que reconoció tres zonas de propagación linfática

1.4.8.1 Vías de diseminación ascendente.

Comprende los ganglios linfáticos situados a lo largo de los vasos hemorroidal superior y mesentérica inferior, cuando discurren por el mesorrecto y mesosigma y, finalmente establecen conexión con los ganglios situados sobre la aorta abdominal y ambos lados de ésta. Miles (1926) destacaba que esta zona comprendía también todo el mesocolon sigmoide, ya que los ganglios parabólicos, situados en él cerca del colon sigmoide, eran, según su experiencia muy propensos a ser invadidos.

1.4.8.2 Vías de diseminación lateral.

Se componía esencialmente de los linfáticos que corrían por los ligamentos laterales entre el peritoneo pélvico y los músculos elevadores del ano para

terminar en los ganglios ilíacos internos en la pared lateral de la pelvis. Miles (1926) dibujaba también ganglios linfáticos intercalados entre el recto y los ganglios ilíacos, describiendo que tanto éstos como los músculos elevadores eran en alguna ocasión asiento de metástasis.

1.4.8.3 Vías de diseminación descendente.

Comprendía los linfáticos que atravesaban los músculos esfinterianos, la piel perianal y la grasa isquiorrectal y que, finalmente, drenaban en los ganglios inguinales.

Miles (1910, 1926) destacaba la importancia de la zona de diseminación ascendente pero consideraba que las otras zonas participaban también con frecuencia en el proceso. Creía que, independientemente de la situación del tumor primario, la diseminación podía tener lugar en las tres direcciones. Sobre la firme base de estas observaciones, preconizaba la resección extensa de todo el recto y estructuras relacionadas por medio de una operación abdominoperineal, como el tratamiento racional para todos los casos de cáncer rectal.

Las observaciones y enseñanzas de Miles fueron aceptadas sin seria oposición hasta que Dukes (1930), Westhues (1930, 1934), Word y Wilkie (1933), Gabriel y cols. (1935) publicaron los resultados de su investigación sobre los modos de diseminación del cáncer rectal. No obstante, importa recordar que los estudios de estos autores se basaron exclusivamente en la disección meticulosa de un gran número de piezas operatorias extirpadas por las vías sacra, perineal o abdominoperineal. Estos resultados no lograron confirmar los hallazgos de Miles en varios aspectos. En primer lugar, en sus preparaciones no se podían demostrar por lo general indicios de diseminación lateral o descendente. En cuanto a la diseminación ascendente, estaban de acuerdo con Miles en que este era un modo de frecuente, pero encontraban que en general se hallaba muy estrictamente limitado a la cadena de ganglios situados a lo largo de las arterias hemorroidal superior o mesentérica inferior. Según sus observaciones, los primeros ganglios afectados eran los pararectales sobre el dorso del recto inmediatamente adyacentes al tumor. A

partir de estos, la propagación se extendía constantemente hacia arriba en secuencia a lo largo de la cadena de los ganglios hemorroidales superiores o mesentéricos inferiores, y eventualmente hasta los ganglios aórticos. Rara vez tenía lugar una diseminación discontinua, según lo señalaban Word y Wilkie (1933), encontrándose que algunos ganglios situados muy superiores sobre los vasos hemorroidales superiores y mesentéricos inferiores, contenían metástasis, en tanto que otros más cerca del tumor estaban indemnes. Esta disposición ha sido juzgada como bastante rara, pero Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) encontraron “metástasis saltarinas” de este tipo en algo más del 30 % de las piezas quirúrgicas de cáncer rectal. Sólo en muy raras ocasiones, cuando todos los ganglios situados a lo largo del pedículo vascular superior estaban repletos de metástasis, como en los casos muy avanzados, probablemente incurables, estaban invadidos los ganglios parabólicos sigmoides, y sólo en estos casos existían probabilidades de encontrar pruebas de diseminación descendente y retrógrada. La rareza de diseminación descendente quedaba, además, demostrada por la investigación continua en el laboratorio de Dukes relativa a no menos de 1.500 piezas operatorias cuidadosamente disecadas obtenidas por resección abdominoperineal (Goligher y cols., 1951). En 98 (6.5%) de estos casos existían metástasis en los ganglios situados por debajo del tumor primario. Pero en 68 de éstos los ganglios afectados se encontraban a 6 mm del borde inferior del tumor y sólo 30 de los 98 (2%) de todas las piezas mostraban una diseminación retrógrada significativa hasta 20 mm o más por debajo de la lesión primaria; prácticamente todos estos casos tenían también una diseminación linfática muy extensa en dirección ascendente. Glover y Waugh (1945) registran una incidencia aún menor de diseminación linfática retrógrada.

Con respecto a la diseminación lateral, es importante apreciar que el promedio de la pieza de resección abdominoperineal contiene una cantidad verdaderamente pequeña de músculos elevadores del ano y otros tejidos de la zona lateral de propagación linfática.

Pero indudablemente la prueba más convincente de que existe la diseminación lateral la han proporcionado los intentos realizados de ampliar los objetos de la resección abdominoperineal combinada ordinaria para incluir como norma la

extirpación de los ganglios ilíacos internos. Saber y Bacon (1952) practicaron 21 de estas intervenciones quirúrgicas por tumores localizados por debajo del pliegue peritoneal y encontraron en el examen anatomopatológico que existían 6 casos de metástasis en los ganglios ilíacos internos. Por el contrario, en el examen de cada una de las 11 piezas de resecciones ampliadas para carcinomas rectales situados por encima del repliegue peritoneal, no se encontraron metástasis en los ganglios extirpados de la pared lateral de la pelvis. Todavía se ha obtenido una información mas completa del trabajo de Takahashi y Kajitani (1982) del Hospital del Instituto del Cáncer en Tokio, donde desde 1946 diseccionaron sistemáticamente los ganglios de la cadena ilíaca interna, y cuando fue posible, los extirparon , en un total de 743 intervenciones quirúrgicas radicales sobre cáncer rectal. En 507 casos de tumores situados por debajo de la reflexión peritoneal, se encontraron metástasis en los ganglios ilíacos internos de 83 pacientes (16.4%); por otra parte, en 236 casos de tumores suprapéritoneales sólo en 8 casos (3.4%) se demostraron metástasis ganglionares en la cadena ilíaca interna.

Hojo y cols. (1982), autores que ostensiblemente empleaban el mismo tipo de disección ampliada en los carcinomas rectales, señalan que hallaron metástasis en los ganglios ilíacos internos en 23% de sus casos con tumores bajos. Jinnai y cols. (Jinnai, 1982) observaron hallazgos similares.

Cabría pensar, por tanto, que la diseminación linfática lateral puede menospreciarse en los tumores de recto intraperitoneal, cuyo drenaje linfático es, al parecer, exclusivamente ascendente, como lo afirman sobre bases anatómicas Villemin y cols. (1925), aunque probablemente sucede con mayor frecuencia en las lesiones de recto extraperitoneal de lo que daría a entender el examen de las piezas operatorias.

1.4.8.4 Frecuencia de las metástasis linfáticas.

Entre los autores que han investigado este aspecto, hay acuerdo general en que en un 50% de los casos de cáncer rectal y en un 38 % de cáncer de colon sometidos a una operación con intención radical se han producido ya metástasis linfáticas. Así Dukes (1940) encontró 505 casos de metástasis en

los ganglios linfáticos respecto de 1.000 piezas operatorias consecutivas de carcinoma rectal. Existía una diferencia significativa en la evidencia de metástasis en los dos sexos; se produjeron en el 57,7% de los casos femeninos, pero en sólo en el 46,6 % de los masculinos. En ambos sexos, el promedio de casos con metástasis ganglionares era mucho más alto en los pacientes jóvenes que en los viejos, teniendo metástasis el 71,8 % de los pacientes de ambos sexos entre los 20 y 39 años de edad, comparando con sólo el 46 % de los casos entre los 60 y 79 años. No existía correlación alguna entre el tamaño o la posición de los tumores primarios y la presencia de metástasis linfáticas, pero existe una correlación estrecha entre la incidencia de metástasis ganglionares y el grado histológico del tumor, siendo las metástasis mucho más frecuentes con los tumores de más alto grado de malignidad. Los casos con metástasis linfáticas tenían casi siempre tumores de grado III o IV o carcinomas mucoides.

En contraste con los datos citados sobre la frecuencia de metástasis ganglionares en carcinomas rectales, Jinnai y cols.(Jinnai, 1982), mediante disección de piezas diafanizadas extrajeron como promedio 62,7 ganglios con metástasis o sin ellas por cada pieza quirúrgica, a la vez que observaron metástasis ganglionares en 60 % de los casos estudiados.

1.5. ESTADIFICACION EN CANCER COLORRECTAL

La Estadificación del cáncer colorrectal es necesaria para planificar el tratamiento, establecer el pronóstico y evaluar los resultados del tratamiento. Constituye una parte esencial y punto de referencia los denominados factores pronósticos. Estos se obtienen a partir de la recogida de prospectiva de distintos datos clínico-patológicos validados por estudios multivariantes. Así se demuestra por ejemplo que la presencia de obstrucción o perforación son factores de mal pronóstico.

La estadificación en el preoperatorio incluye la evaluación clínica y los estudios de localización y extensión del tumor. Su importancia es evidente al modificar o establecer criterios de táctica o técnica quirúrgica variables como pueden ser:

la escisión local, la cirugía radical con preservación esfinteriana o la indicación de quimioterapia preoperatoria.

Entre los factores pronósticos, especial importancia tiene el “factor cirujano” considerado como una variable independiente. Por tanto con finalidad de evitar sesgos importantes en el pronóstico, la estadificación intraoperatoria exige al cirujano del uso correcto de los términos de cirugía “curativa” o “radical”. De modo semejante, la estadificación patológica postoperatoria viene condicionada por la calidad de la pieza quirúrgica y por la calidad del estudio anatomopatológico. La importancia de esta interrelación ha sido puesta en evidencia al objetivar un grado de discordancia del 14 % al comparar la consideración de exéresis “completa” por el cirujano y el patólogo de forma prospectiva. Todo ello traduce una posible migración del estadio, así como, en amplias variaciones porcentuales de recidivas locales y supervivencia a los cinco años.

La estadificación patológica es de máxima importancia. Los sistemas utilizados han de ser estándar, simples y reproducibles para comparar resultados, aunque no existe un sistema con fiabilidad del 100%. La clasificación de Dukes y el sistema TNM son los sistemas de estadificación aceptados siendo la clasificación TNM la más utilizada en la actualidad.

1.5.1 ESTADIFICACIÓN TNM (UICC 2002)³⁷:

T (Estadificación tumoral).

- Tis cáncer in situ.
- T1 invade submucosa.
- T2 invade muscular propia.
- T3 invade subserosa o grasa perirrectal.
- T4 invade serosa o estructuras vecinas.

N (Afectación de los ganglios linfáticos regionales).

- Nx: Los ganglios regionales no se pueden determinar.
- N0: Sin adenopatías afectas.
- N1: 1 a 3 adenopatías afectas.
- N2: 4 ó más adenopatías afectas.
- N3: Adenopatías afectas en el curso de ganglios principales.

M (Presencia de metástasis a distancia).

- M0: Ausencia de metástasis.
- M1: Metástasis a distancia.

ESTADIOS:

Estadio 0 :	Tis	N0	M0
Estadio I :	T1, T2	N0	M0
Estadio II A :	T3	N0	M0
Estadio II B :	T4	N0	M0
Estadio IIIA :	T1, T2	N1	M0
Estadio IIIB :	T3, T4	N1	M0
Estadio IIIC:	T cualquiera	N2	M0
Estadio IV:	T cualquiera	N cualquiera	M1

Existen otros factores derivados del examen patológico, con validez pronóstica demostrada, que no recogen estas clasificaciones, como son el grado histológico de diferenciación, el componente mucinoso mayor al 50 %, así como, la presencia de infiltración venosa linfática o perineural.

El tratamiento curativo del cáncer colorrectal consiste en la resección quirúrgica del tumor primario, asegurando suficiente margen longitudinal y radial, con el drenaje linfático mesentérico correspondiente. A pesar de estas guías anatómicas bien aceptadas, anteriormente descritas, puede haber variaciones en el número de ganglios obtenidos de un paciente a otro en función del tipo de resección realizada, así como de la extensión de la misma y la diligencia del examen anatomopatológico efectuado. Debido a que la presencia o ausencia de metástasis linfáticas es de importancia pronóstica crítica, resulta de interés determinar el número de ganglios linfáticos que necesitan ser examinados para reflejar con precisión el estado regional tras una resección de CCR. La clasificación TNM exige que sean examinados al menos 12 ganglios linfáticos.

Por las razones señaladas previamente, la detección de un número suficiente de ganglios en la pieza quirúrgica constituye una exigencia para la estadificación adecuada del cáncer colorrectal. El empleo de soluciones reveladoras disolventes de la grasa ha demostrado su utilidad en el incremento de ganglios detectados. Su utilización supone trabajo extra para el laboratorio de anatomía patológica. Por ello, parece razonable su empleo cuando de forma convencional se aíslan escasos ganglios, para intentar evitar la infraestadificación. La infravaloración del estadio es especialmente frecuente en el recto donde precisamente es de máxima importancia dado el elevado índice de recidivas.

1.6. EXTENSIÓN DE LA RESECCION QUIRURGICA SEGÚN LA LOCALIZACION.

La resección del colon, con el pedículo vascular correspondiente y el drenaje linfático son las medidas consideradas como imprescindibles para conseguir el control local de la enfermedad y la estadificación adecuada de la pieza quirúrgica. Desde este punto de vista se podía considerar que existen cuatro tipos de intervenciones según esté el tumor localizado en el colon derecho, transverso, colon izquierdo o sigma. Sin embargo actualmente la mayoría de cirujanos consideran sólo dos alternativas, la colectomía derecha y la colectomía izquierda, dependiendo de la extensión de la resección y de la localización del tumor en dichos segmentos. Las razones para ello son que el elevado número de fracasos de la sutura cuando se practican colectomías transversas es lo suficientemente elevado para que esta intervención se haya abandonado. Por otra parte la distinción entre colectomía izquierda y sigmoidectomía se considera irrelevante si se ha realizado la sección de los pedículos vasculares al nivel adecuado.

Con estas ideas se considera que la colectomía derecha implica la sección de los siguientes pedículos vasculares: vasos ileocólicos, cólicos derechos y rama derecha de los vasos cólicos medios. Recordemos que los ganglios linfáticos siguen el trayecto de los vasos.

Si el tumor se encuentra en el lado izquierdo a esta sección se le añade la de los vasos cólicos medios. En los tumores localizados en el colon izquierdo se realiza la sección de la arteria mesentérica inferior y si se localiza en sigma la ligadura alta, respetándose los vasos cólicos izquierdos.

Respecto a los tumores localizados en el ángulo esplénico del colon existe una controversia en la literatura médica sobre cual es el tratamiento quirúrgico a realizar.

Aunque para algunos autores la tendencia es hacer una colectomía izquierda, actualmente la actitud más aceptada es la de realizar una colectomía derecha ampliada practicando una anastomosis íleo sigmoidea. Las razones para ello son de una parte las posibles anomalías vasculares del colon, cuya vascularización puede depender más del lado derecho, y la consideración de

que la anastomosis del colon transverso al recto no siempre puede conseguirse sin tensión, aunque de esto último no existen pruebas concluyentes.

Los tumores de colon pueden invadir estructuras próximas: uréter, duodeno, estómago, bazo, intestino delgado, vejiga, útero. La invasión de estas estructuras no implica que el paciente no tenga posibilidad de curación. Por ello el cirujano que intervenga a este paciente debe tener la capacidad para hacer resecciones en bloque.

En relación al cáncer rectal la técnica quirúrgica es de gran importancia y de ella dependerá en gran medida las redivivas locales y la supervivencia (Heald et al 1982). Así mientras en el cáncer de colon la mayoría de las recidivas locales se presentan junto con la enfermedad diseminada (Abulafi y Willians 1994), en el cáncer rectal se presentan casi siempre solas lo que supone que la técnica quirúrgica es decisiva y hasta cierto punto con resultados cirujano-dependientes. Sin embargo, existe una gran variabilidad también es este tema ya que los porcentajes de resección curativa varían entre el 2.6% (Karanjia et al 1990) y 32% (Hurs et al 1982) y los índices de recidiva oscilan entre el 0 al 21% (Philips et al 1984, Hackford 1990, McArdle y Hole 1990)³⁸.

Se recomienda la escisión del mesorrecto hasta unos 5 cm. por debajo del margen distal del cáncer rectal en los tumores de tercio superior, mientras que en los del tercio medio e inferior, la escisión completa debería ser la norma.

Por otro lado debe prestarse especial atención a los márgenes laterales, ya que diferentes estudios (Quirke et al., 1986; Chan et al., 1985) han demostrado que la presencia de tumor en dichos márgenes, se asocia hasta con un 85% de recidivas.

La tendencia a evitar la amputación abdomino-perineal en beneficio de la resección anterior hizo pensar que podría gravar las tasas de recidiva local, pero numerosas series no han encontrado diferencias entre estas intervenciones (Dixon et al 1991, Willians et al 1984, Holl et al 1995).

En resumen se recomienda la escisión total del mesorrecto en los tumores de tercio medio e inferior del recto, tanto si se realiza una resección anterior o una amputación abdominoperineal (operación de Miles).

1.7. PRONÓSTICO DEL CANCER COLORRECTAL.

La afectación neoplásica linfática es el factor pronóstico aislado más importante en el CCR y es criterio de recomendación de tratamiento adyuvante sistémico. Los pacientes con CCR en estadios I y II (N0 M0) tienen una supervivencia que supera el 75%. Por el contrario, los pacientes con enfermedad en estadio III (N1M0) tienen una supervivencia a los 5 años del 45-60%^{39,40}.

En función de la estadificación TNM de la AJCC en el momento del diagnóstico del CCR los pacientes presentan diferente tasa de supervivencia a los 5 años según el estadio⁴¹(Tabla 2).

Tabla 2. Supervivencia del CCR a los 5 años.

Estadio I	93%
Estadio IIA	85%
Estadio IIB	72%
Estadio IIIA	83%
Estadio IIIB	64%
Estadio IIIC	44%
Estadio IV	8%

El tratamiento curativo del CCR consiste en la resección quirúrgica del tumor primario, asegurando suficiente margen longitudinal y radial, con el drenaje linfático mesentérico correspondiente. En los pacientes con afectación linfática la quimioterapia adyuvante es obligada pues reduce en un 40% la recurrencia y en un 30% la mortalidad según estudios randomizados^{42,43}. Sin embargo un 20-30% de los pacientes sin afectación linfática (N0) por estudio histopatológico convencional desarrollan progresión de la enfermedad en los primeros 5 años tras la cirugía^{43,44,45}. Este hecho refleja un problema de infraestadificación en el estudio patológico realizado y repercute en un empeoramiento en los resultados oncológicos, dado que los pacientes sin afectación linfática no reciben tratamiento adyuvante.

El estudio histopatológico de los ganglio linfáticos en el cáncer de colon constituye por tanto, un problema diagnóstico, el cual se puede deber a una insuficiente resección linfática, a las dificultades en la identificación de los ganglios, en especial los de pequeño tamaño (más de un 78% de las N1 ocurren en ganglios linfáticos inferior a 5 mm^{46,47}), así como a las limitaciones del estudio linfático convencional con hematoxilina-eosina (H-E). Ello ha promovido el desarrollo de diferentes técnicas con el objetivo de mejorar la precisión del estadificación linfática del CCR. Estas comprenden: la utilización de sustancias reveladoras disolventes de la grasa como la solución de Carnoy, el incremento del número de secciones estudiadas por microscopía, y la ultraestadificación mediante técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) y técnicas moleculares como la reacción de polimerasa en cadena (RT-PCR)^{48,49,50}.

Sin embargo, la aplicación de estas técnicas conlleva un incremento de tiempo, de recursos humanos y un mayor coste económico para el servicio de patología. Por este motivo, el estudio focalizado en un número reducido de ganglios linfáticos, que presentan el mayor riesgo de albergar neoplasia puede racionalizar la utilización de estas técnicas de ultraestadificación.

1.8. FUNDAMENTOS DEL ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA.

1.8.1. Historia del Ganglio Centinela.

Los ganglios linfáticos centinela (GC) son los ganglios que tienen el drenaje más directo desde la neoplasia primaria, y el potencial más alto de albergar metástasis. Una de las primeras descripciones del ganglio centinela fue realizada por Gould en 1960 el cáncer de parótida⁵¹. Posteriormente la técnica del ganglio centinela es descrita por Cabañas en 1977 en el tratamiento del cáncer de pene⁵², mediante la utilización de linfangiografía y ya sugiere en su estudio que predice la afectación del resto de ganglios iliofemorales, recomendando la linfadenectomía selectiva y sentando las bases patológicas de la técnica de estudio del GC. Morton y colaboradores revitalizan el concepto aplicando la técnica al tratamiento del melanoma maligno⁵³. Posteriormente Giuliano describe la técnica en el cáncer de mama⁵⁴. Desde que en 1997

Saha⁵⁵ comunicara su experiencia en el cáncer de colon, existe controversia en la literatura sobre la utilidad del GC en el CCR.

La base fundamental de la técnica del GC es que la diseminación linfática desde el tumor sigue un patrón ordenado, secuencial y predecible a través de los conductos linfáticos, y que, por lo tanto, el primer nódulo linfático tiene más posibilidades de atrapar las células neoplásicas.

La principal aplicación clínica de esta técnica es que el estudio del GC permite una mejor estadificación ganglionar y por otra parte su identificación permite ahorrar linfadenectomías en algunos territorios disminuyendo la morbilidad asociada a dicha técnica. Numerosos trabajos publicados confirman la eficacia del estudio del ganglio centinela en el manejo del melanoma maligno y del cáncer de mama^{56,57,58,59} y su uso forma parte de la práctica clínica habitual. Sin embargo, la utilización de la técnica del GC en las neoplasias gastrointestinales no esta todavía validada, debido al elevado número de falsos negativos (FN) que han sido atribuidos a las diferencias en las vías de drenaje linfáticos en estos tumores⁶⁰. El CCR, a diferencia de otras neoplasias digestivas, posee características específicas, como la presencia de canales de drenaje linfáticos regulares, que hacen más susceptible la utilización del GC en la estadificación tumoral, aunque no se realiza para modificar la intervención quirúrgica. Sin embargo, los GC en el CCR no tienen una localización uniforme y en un 8-30% el drenaje linfático posee trayectos aberrantes⁶¹.

1.8.2. Técnica de detección del Ganglio Centinela.

Para la detección del GC se pueden realizar técnicas de tinción con colorante vital y/o de marcaje con radioisótopos. Los colorantes más utilizados en los estudios publicados son el azul de isosulfán (Isosulphan blue, Lymphazurin®) y azul patente (Patent BlueV®, Sulphan blue®). Como radiotrazador se ha utilizado Sulfuro coloidal marcado con Tc-99m, aunque en la actualidad existen compuestos de albúmina marcada con Tc-99m (Nanocoll ®). El radiotrazador permite realizar linfografía preoperatoria para identificar drenajes linfáticos anómalos.

En los centros españoles el colorante vital utilizado suele ser el Azul de Metileno y como radiotrazador se suele utilizar Nanocoll®.

1.8.3. Técnica del Ganglio Centinela “in vivo”.

Una vez identificada la neoplasia en el momento de la intervención quirúrgica se procede a la inyección subserosa en los 4 cuadrantes peritumorales del colorante vital (Fig. 1). El volumen inyectado varía desde 0,25-5mL según las series. El colorante se distribuye por las cadenas linfáticas siendo atrapado por los ganglios linfáticos que quedan coloreados (Fig. 2). Existen autores que definen el GC como el primero nódulo linfático teñido, sin embargo otros consideran GC a todos los ganglios que se han teñido. Por dicho motivo existe gran diferencia entre el número de GC aislados y examinados en los diferentes estudios publicados (0-21). La identificación de los GC se realiza en el campo quirúrgico, marcando con un punto de sutura el primer GC. La visualización de los drenajes linfáticos se puede conseguir si se realiza transiluminación del tejido. En el caso de que el primer nódulo linfático esté invadido por la neoplasia este puede no captar el contraste. En este caso la visualización de los trayectos permiten identificar los ganglios teñidos y señalar el que no está teñido, pero ambos deben ser considerados como GC⁶². Una vez extirpada la pieza es remitida al servicio de Patología donde se aíslan todos los ganglios linfáticos que son estudiados con H-E. Los GC son procesados con secciones seriadas a intervalos cada 20-40 µm y son analizados con H-E, técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) como la citoqueratina y/o con técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). La IHQ es efectiva, relativamente sencilla de utilizar y menos costosa que la RT-PCR. Además la RT-PCR puede no ser suficientemente específica en procesos malignos .

1.8.4. Técnica del Ganglio Centinela “ex vivo”.

La inyección del colorante vital se realiza tras la resección de la pieza quirúrgica mediante inyección subserosa peritumoral tras haber realizado una incisión en el borde antimesentérico de la pieza quirúrgica. Posteriormente la pieza es masajeadada durante 5 minutos y se debe explorar el mesenterio dentro

de los 30 primeros minutos para identificar los GC^{63,64,65}. La ventaja de esta técnica es que no incrementa el tiempo quirúrgico, se puede realizar de una forma estandarizada en todos los segmentos intestinales y evita los efectos adversos de los colorantes, que por otro lado no son habituales (urticaria, reacción anafiláctica, interferencia de la monitorización pulsioximétrica)⁶⁶. Existen estudios que muestran que la utilización de esta técnica puede ser muy útil cuando la técnica in vivo no se puede realizar de forma satisfactoria^{65,67}.

1.8.5. 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.

1.8.6. Utilización de radioisótopos.

La linfogramagrafía es una exploración isotópica que consiste en la obtención de imágenes planares seriadas de un territorio determinado y permite una evaluación no invasiva del flujo linfático. Los coloides o complejos macromoleculares radiomarcados de tamaño apropiado introducidos en el espacio intersticial son transportados por el sistema linfático y se localizan en los ganglios regionales de drenaje, permitiendo de esta forma obtener información de la morfología y función del sistema linfático, sea en condiciones normales o patológicas. La identificación de los ganglios linfáticos centinelas mediante el empleo de nanocoloides marcados con TC 99m y localización intraoperatoria con sonda de captación es una técnica moderna introducida en Medicina Nuclear en el año 1993⁶⁸. La linfografía isotópica es una técnica sencilla, que no precisa la disección y canulación de trayectos linfáticos; son factores importantes del procedimiento el volumen de inyección, la selección del locus de administración y el diámetro de las partículas coloidales, fundamental para lograr una migración adecuada.⁶⁹ La inyección de un radiotrazador en conjunción con la exploración con sonda-gamma es el

procedimiento habitualmente utilizado para la detección del GC en el melanoma maligno y cáncer de mama^{70,71}. El TC-Sulfuro Coloidal (TCS) ha sido el radiotrazador más utilizado en Estados Unidos. En el melanoma, cáncer de mama y CCR puede ser utilizado en conjunción con los colorantes vitales o bien de forma aislada.

Kitagawa y colaboradores fueron los primeros en describir esta técnica en el CCR inyectando endoscópicamente en la submucosa peritumoral TSC⁷². Existen autores que realizan la inyección intraoperatoriamente como se realiza con los colorantes vitales⁷³, y en este caso se debe tener en cuenta que las partículas de TSC son de mayor tamaño que las de los colorantes y precisan más tiempo para ser captadas por los ganglios linfáticos. Por dicho motivo, si se inyecta conjuntamente TSC y un colorante vital son localizados menos GC con el TSC. Sin embargo el TCS localiza más fielmente el primer ganglio de la cadena que por otro lado es el que tiene mayor probabilidad de estar afectado por la neoplasia. La utilización conjunta de TSC y colorante vital es defendida por diversos autores argumentando que aumenta el número de GC afectados por la neoplasia^{73,74}. Esta propuesta no ha sido contrastada por estudios multicéntricos y el azul de isosulfán ha conseguido una mayor aprobación clínica debido a su mejor coste-efectividad.

1.8.7. Técnica de Ganglio Centinela en las intervenciones laparoscópicas.

El colorante o radiotrazador puede ser inyectado en la submucosa por endoscopia preoperatoria o bien en la subserosa bajo visualización laparoscópica en el momento de la intervención quirúrgica. Posteriormente el GC es identificado por medio del colorante o utilizando la sonda-gamma. Existen publicaciones que han demostrado la aplicabilidad de esta técnica en cirugía laparoscópica^{72,73,74,75}.

1.8.8. Curva de aprendizaje.

A diferencia del melanoma maligno o el cáncer de mama, la curva de aprendizaje de la técnica del GC en el CCR es relativamente corta. El éxito de la identificación de GC es superior al 98% a partir de los primeros 5 casos⁷⁶. Muchas series han demostrado que la experiencia del equipo quirúrgico está relacionada con el índice de éxitos de la identificación de los GC y que los fallos en su detección ocurren principalmente en los primeros 50 pacientes. Los estudios multicéntricos en los que participan un gran número de cirujanos, que por otro lado realizan la técnica del GC en un reducido número de pacientes, presentan índices de éxito menores⁷⁷. En centros con relativa experiencia la precisión y sensibilidad en la determinación del GC es aproximadamente del 95%⁷⁸.

1.8.9. Definición de micrometástasis.

Se considera afectación linfática micrometastásica a la evidencia de tumor en los ganglios linfáticos no evidenciable por estudio histopatológico convencional con hematoxilina-eosina. Hermanek y colaboradores⁷⁹ en 1999 presentaron una propuesta de clasificación para intentar unificar los criterios (Tabla 3).

Tabla 3: Clasificación de las micrometástasis.

pN0:	Sin metástasis linfática con H-E. Sin examinación con IHQ.
pN0(i-):	Sin metástasis linfática con H-E. No hallazgos con IHQ.
pN0(i+):	Sin metástasis linfática con H-E. Células aisladas o Grupos Celulares < 0,2 mm. con IHQ.
pN1(mi):	Sin metástasis linfática con H-E. Micrometástasis (Grupos celulares 0,2-2 mm.) con IHQ.
pN0(mol-):	Sin metástasis linfática con H-E. No hallazgos con técnicas de análisis molecular.
pN0 (mol+):	Sin metástasis linfática con H-E. Positividad con técnicas de análisis molecular.

En este sentido, la mayor parte de autores consideran actualmente micrometástasis a los grupos de células tumorales entre 0,2 - 2 mm (Fig. 1), Sin embargo, hay que tener precaución en la interpretación de los resultados de las células aisladas citoqueratina positivas (CK+) debido a su falta de especificidad (Fig. 2). En la actualidad está discutido si estas células son realmente células neoplásicas o bien son células apoptóticas o células mesenquimales degenerativas. Además estas células aisladas CK+ pueden aparecer hasta en un 20% en procesos benignos⁸⁰.

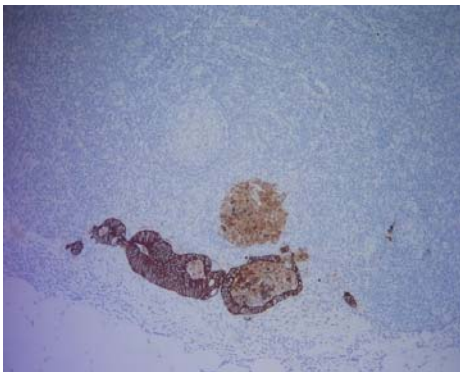


Fig.1: Micrometástasis (CK CAM 5.2).

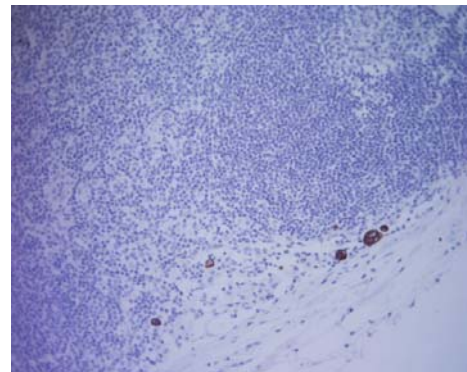


Fig.2: Células Aisladas CK+ (CK CAM 5.2).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS:

El estudio de los ganglios linfáticos centinela en el cáncer de colon izquierdo en estadios 0, I y II (sin afectación neoplásica linfática ni metástasis a distancia), según estudio preoperatorio, es útil para mejorar la estadificación de la enfermedad.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Estudiar la eficacia de los ganglios centinela en la estadificación en cáncer de colon izquierdo en estadios 0, I y II.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Calcular la supraestadificación que se obtiene con el estudio de los GC.
2. Evaluar la efectividad de la Técnica del GC.
3. Comparar ambas técnicas (Azul de Metileno vs. Nanocoll®)

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño:

Estudio multidisciplinario prospectivo, controlado con grupos apareados, de pacientes en los que se estudiará la eficacia del ganglio centinela en la estadificación del cáncer de colon izquierdo en estadio preoperatorio 0, I y II.

4.2 Pacientes y muestra:

Pacientes con neoplasia de colon izquierdo en estadio preoperatorio 0, I y II, intervenidos con intención curativa.

4.3 Criterios de inclusión:

- Pacientes diagnosticados de neoplasia de colon izquierdo de 20 a 50 cm del margen anal.
- Estadio preoperatorio 0, I y II.
- Pacientes intervenidos con criterios de radicalidad.
- Cirugía electiva.

4.4 Criterios de exclusión:

- Diagnóstico preoperatorio de otros estadios tumorales.
- Cirugía paliativa.
- Intervención quirúrgica de emergencia o urgencia diferida.

4.5 Muestra de pacientes:

- Se estima que la diferencia de estadificación correcta dentro de los estadios 0, I, y II puede alcanzar hasta el 30 %^{43,44,45}.

- Cálculo de la muestra determinado con un error α de 0,05 y una potencia $(1-\beta)$ de 80%, ($P_1= 0,5$, $P_2= 0,80$).
- **Resultado: 60 pacientes.**
- Se establecen dos grupos con 30 pacientes cada uno, para el marcaje de ganglio centinela:

GRUPO 1 (Azul de Metileno): Identificación de los GC mediante utilización de 1-2 mL de azul de metileno y posterior estudio de campo en la sala de quirófano ($n =30$).

GRUPO 2 (Nanocoll[®]): Identificación de los GC mediante la utilización de Nanocoll[®], linfogamagrafía isotópica y estudio de campo de la pieza de resección en la sala de quirófano con sonda nuclear para identificar el ganglio linfático centinela ($n=30$).

4.6 Ámbito:

Corporació Sanitària Parc Taulí.

Servicios Médicos implicados:

- Cirugía General y del Aparato Digestivo.
- Aparato Digestivo.
- Medicina Nuclear.
- Patología.
- Oncología.

4.7 Método:

En los pacientes que cumplen los criterios de inclusión se realiza estudio de ganglio centinela con Colorante Vital o Nanocoll[®], técnicas de detección de GC mixtas, que seguidamente describimos.

- **Técnica de detección del GC con Colorante Vital:** En el acto quirúrgico, se procede a realizar cuatro inyecciones subserosas, de 0,5 mL de Azul de Metileno cada una, en la superficie peritumoral. Tras la resección de la pieza quirúrgica se realiza estudio de campo “ex-vivo” en la sala de quirófano con disección cuidadosa del mesocolon peritumoral para identificar los ganglios linfáticos que han sido teñidos por el colorante que son identificados como Ganglios Centinelas.
- **Técnica de detección del GC con Nanocol®:** Mediante la realización de una sigmoidoscopia flexible la tarde previa a la intervención quirúrgica, se realizan cuatro inyecciones submucosas de 1 mL de suero fisiológico cada una, en los cuatro cuadrantes peritumorales, y en el cada habón que se forma se inyecta 1 mL de Nanocoll®. Las imágenes de linfografía se obtienen en modo estático, con el paciente en decúbito, a las 3 horas post-inyección en proyección anterior y posterior de 300 segundos por imagen, mediante **Gammacámara Siemens E.CAM** equipada con un colimador de orificios paralelos, para energías bajas y alta resolución con una ventana de isótopo del 20% centrada a 140 KeV(^{99m}Tc), Matriz:256x256 y Zoom:1. En el acto quirúrgico, mediante el sistema de detección gamma con sonda de 14 mm modelo **Neoprobe 2000**, se examina el mesenterio para identificar si existen ganglios linfáticos externos a los márgenes de resección previamente marcados según la técnica quirúrgica oncológica habitual. Posteriormente se realiza estudio de campo “ex-vivo” de la pieza de resección en la sala de quirófano con la sonda gamma para identificar los ganglios linfáticos que emiten señal, que son considerados como Ganglios Centinela.

Definición de Ganglio Centinela: Consideraremos ganglio centinela a los primeros ganglios linfáticos que estén teñidos con el azul de metileno o bien emitan señal objetivada con el sistema de detección gamma. Si un ganglio linfático es sospechoso de ser el centinela, porque se identifica cercano a la tumoración o porque existan trayectos linfáticos marcados con colorante en su vecindad, pero no cumple los requisitos previamente descritos (no capta contraste o no emite señal) no será considerado como GC.

La identificación de los ganglios centinela es realizada siempre por el mismo observador y los GC son remitidos al Servicio de Patología en solución de formaldehído.

Evaluación diferida de los Ganglios Centinela:

- Inclusión en bloque de parafina de cada sección del ganglio centinela.
- CODIGO DE MUESTRA (SIPAT): SENTIN (Incluye macroscopia preformada, datos de inclusión y tinciones por defecto.
- Fijación en formaldehído durante al menos 24 horas.
- Preparaciones: 3 secciones consecutivas de 4 micras de grosor 2 con tinción de H-E y una para inmunohistoquímica (H-E, H-E, CAM 5.2), a 3 niveles diferentes de cada bloque, con intervalos de 50 micras.

Interpretación de los resultados del estudio de los ganglios centinela.

Definiciones:

- **Células Tumorales Aisladas** (grupos de 10-20 células) o **Colonias Tumorales** (grupos de más de 20-30 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 pN0(i+).
- **Micrometástasis:** Acumulo de grupos tumorales (o celulares) entre 0,2 y 2 mm. modifica la estadificación. pN1(mi).
- **Metástasis:** Afectación metastásica de más de 2 mm pN1.

Estadificación:

En ambos grupos las piezas de resección son analizadas por el Servicio de Patología según los criterios del UICC 2002.

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.

VARIABLES:

- Número de ganglios centinela.
- Afectación neoplásica del ganglio centinela.
- Número de ganglios aislados.
- Número de ganglios afectados.
- Estadificación linfática.
- Variación de la estadificación linfática utilizando el estudio del ganglio centinela.
- Variabilidad de la intervención quirúrgica en función de la presencia de trayectos linfáticos aberrantes.

ANÁLISIS:

La descripción de las variables y el análisis estadístico se ha realizado utilizando el programa informático SPSS versión 11.5. La descripción de las variables cuantitativas se ha realizado dando valores de media y desviación estándar (DE), cuando la distribución ha sido considerada como normal en función de las pruebas de Shapiro-Wilks y Lilliefors. En caso contrario, se han dado los valores de mediana, intervalo intercuartil y rango. La representación gráfica de este tipo de distribuciones ha sido mediante el diagrama de cajas (boxplot chart). Las variables categóricas se han descrito en números absolutos y porcentajes.

En el análisis estadístico para variables categóricas en grupos apareados se ha utilizado el Test de McNemar que compara proporciones observadas.

Los resultados de las pruebas estadísticas se han dado, cuando ha sido permitido, con el intervalo de confianza (IC) del 95% y la p de significación,

estableciendo un valor inferior a 0,05 como estadísticamente significativo. No se han hecho correcciones por comparaciones múltiples

Aspectos Éticos:

A todos los pacientes se les realiza la misma técnica quirúrgica. No existen pruebas adicionales en los pacientes en los que se estudia el GC mediante Azul de Metileno.

Los pacientes estudiados con Nanocoll® fueron informados de la necesidad de realizar una sigmoidoscopia flexible el día previo a la intervención con inyección de nanocoloide marcado con Tc 99m.

Para la realización de pruebas diagnósticas con isótopos radioactivos no es necesario rellenar específicamente una hoja de consentimiento informado según normas de BOE. De todas formas los pacientes que debían ser sometidos a dicha exploración fueron informados previamente y rellenaron la hoja de consentimiento informado genérica de la intervención quirúrgica en la que se detalla dicha exploración, pudiendo 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 GC.

El equipo investigador siguió todas las normas citadas por el Comité de Ética e Investigación Clínica que autorizó este estudio. En todo momento se han seguido las recomendaciones de la Declaración de Helsinki para estudios en humanos.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Supraestadificación con la técnica del GC.

Desde julio de 2004 hasta diciembre de 2006, 64 pacientes fueron incluidos en el estudio. Posteriormente 4 de estos pacientes, pertenecientes todos ellos al grupo 2 (Nanocoll[®]), fueron excluidos del estudio por diferentes motivos que seguidamente describimos:

- En un paciente se objetivó en el acto quirúrgico que la neoplasia estaba localizada en el recto a unos 15 cm del margen anal.
- En un paciente se apreció en el momento de la intervención que la neoplasia estaba localizada en el ángulo esplénico a más de 50 cm del margen anal.
- En un paciente la anatomía patológica de la neoplasia resecada diagnosticó que la afectación sigmoidea era una metástasis de un tumor primario de origen pulmonar.
- Un paciente presentaba en el momento de la intervención una neoplasia localmente avanzada, no siendo posible asegurar los criterios de radicalidad.

En el 26,7% (16/60) de los pacientes se realizó la intervención quirúrgica vía laparoscópica.

En la tabla 4 se muestra la relación descriptiva de las variables de la serie estudiada. La identificación de los GC pudo realizarse en el 100% de los casos con una media 2,8 GC (DE:1.2 ganglios).

El estudio patológico de las piezas de resección mostró una estadificación tumoral avanzada (pT3 y pT4) en 45 de las 60 piezas (75%).

Mediante el estudio patológico convencional de todos los ganglios linfáticos con H-E, sin tener en cuenta el resultado del estudio de los GC, 41 pacientes fueron estadificados como N0 (68.3%) y 19 pacientes como N+ (31,7%).Tabla 4.

TABLA 4. Relación descriptiva de las variables del estudio.

	TOTAL
Piezas de resección (n)	60
Edad (años)	68,9 (DE:9,6)
Sexo	H: 38 (63,3%) M: 22 (36,7%)
Ganglios aislados (GL)	18,7 (DE:9,1)
Ganglios afectados (GLN)	1,2 (DE:2,4)
Identificación ganglio centinela(GC)	100%
Número de GC	2,8 (DE:1.2)
Estadificación tumoral (pT)	
- pTis	2 (3,3%)
- pT1	3 (5%)
- pT2	10 (16,7%)
- pT3	35 (58,3%)
- pT4	10 (16,7%)
Estadificación linfática sin estudio GC (pN)	
- N0	41 (68,3%)
- N+	19 (31,7%)

En la Tabla 5 se muestra la distribución de los resultados del análisis de los GC. En 12 de los 19 pacientes que presentaban afectación linfática (N+) en el estudio con convencional con H-E se apreció afectación en los GC, pero especificando que en 5 de ellos sólo se apreciaron células aisladas o grupos celulares de <0,2 mm.

En 7 de los 19 pacientes N+ (36,84%) no se identificó afectación metastásica en los GC (falsos negativos).

Sin embargo en 11 de los 41 pacientes libres de enfermedad ganglionar por estudio con H-E (N0) se apreció que estaban afectados por la neoplasia, 4 de ellos en forma de micrometástasis y 7 contenían células aisladas o grupos celulares <0,2 mm.

TABLA 5. Distribución de los resultados del estudio de los GC.

	N +	N0	Total
GC +	12 ^a	11 ^b	23
GC -	7	30	37
Total	19	41	60

N+: Metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

N0: Ausencia de metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

GC+: Afectación neoplásica de los GC.

GC - : Ausencia de afectación neoplásica de los GC.

^a 5 pacientes con células aisladas o grupos celulares < 0.2 mm.

^b 4 pacientes con micrometástasis.

^b 7 pacientes con células aisladas o grupos celulares < 0.2 mm.

El estudio de los GC de los 19 pacientes con afectación metastásica linfática (N+) según estudio convencional (H-E) mostró que 7 pacientes no presentaban afectación neoplásica del GC, 5 pacientes presentaban metástasis, en 2 pacientes se objetivaron micrometástasis y en 5 pacientes fueron identificadas células aisladas o grupos celulares < 0,2 mm. Tabla 6

Definimos falso negativo (TFN) a la ausencia de afectación linfática en los GC con al menos otro ganglio linfático con afectación metastásica. Apreciamos que la TFN de toda la serie es del 63,1%. Tabla 6.

Si consideramos las células aisladas o los grupos celulares < 0,2 mm como afectación linfática la TFN de toda la serie es del 36,8% (7/19 pacientes).

TABLA 6. Resultados del estudio de los GC en pacientes N+

Análisis de los GC en los pacientes N+	
- Sin Afectación	7
- Metástasis	5
- Micrometástasis	2
- Células aisladas o grupos <0,2 mm	5
TOTAL	19
Tasa de Falsos Negativos (TFN)	12/19(63,1%)

El estudio de los GC de los 41 pacientes sin afectación metastásica linfática (N0) según estudio convencional mostró que 30 pacientes no presentaban afectación neoplásica del GC, 2 pacientes presentaron metástasis, en 2 pacientes se objetivó micrometástasis y en 7 pacientes fueron identificadas células aisladas o grupos celulares < 0,2 mm. Tabla 7.

Observamos que, en un 9,7% (4/41) de los pacientes considerados N0 por estudio convencional se identificó afectación neoplásica en los GC (en 2 pacientes se objetivó metástasis y en 2 pacientes micrometástasis). Tabla 7.

TABLA 7. Resultados del estudio de los GC en pacientes N0.

Análisis de los GC en los pacientes N0	
- Sin Afectación	30
- Metástasis	2
- Micrometástasis	2
- Células aisladas o grupos <0,2 mm	7
TOTAL	41

Analizando la estadificación tumoral (pT) de los pacientes con afectación neoplásica linfática (N+) en los que el análisis de los GC no aprecia afectación neoplásica (falsos negativos), observamos que este hecho se presenta en pacientes con una estadificación tumoral elevada (pT3, pT4). Tabla 8.

TABLA 8. Estadificación tumoral y afectación de los GC en los pacientes N+

	Sin afectación	Metástasis	Micrometástasis	C. Aisladas o grupos <0,2mm	TOTAL
Estadificación tumoral					
- pTis	0	0	0	0	0
- pT1	0	0	0	0	0
- pT2	0	0	0	1	1
- pT3	6	3	2	3	14
- pT4	1	2	0	1	4
Total	7	5	2	5	19

Analizando la estadificación tumoral (pT) de los pacientes sin afectación neoplásica linfática (N0) apreciamos que los hallazgos patológicos en los GC de los pacientes estadificados como N0 se objetivaron en estadificaciones tumorales pT3 y PT4 a excepción de un único paciente pT2 en el que apreciaron grupos celulares de 150 micras. Tabla 9.

En un 17% (7/41) de los pacientes N0, fueron identificadas en el análisis de los GC células aisladas o grupos celulares <0,2 mm, que al no cumplir los criterios para poderse considerar micrometástasis fueron considerados como pacientes con alto riesgo de progresión neoplásica. Tabla 9.

Podemos hipotéticamente considerar que la presencia en los GC de células aisladas o los grupos celulares <0,2 mm identifican pacientes con alto riesgo de progresión neoplásica, y que pueden comportarse clínicamente como N+. Bajo esta premisa podemos realizar una supraestadificación linfática considerando como afectación metastásica a la identificación en los GC de metástasis, micrometástasis, grupos celulares <0,2 mm o células aisladas. En este caso la afectación neoplásica de los GC de los pacientes N0 de toda la serie sería del 26,8% (11/41pacientes).

TABLA 9. Estadificación tumoral y afectación de los GC en los pacientes N0.

Afectación de los GC de los pacientes N0					
	Sin afectación	Metástasis	Micrometástasis	C.Aisladas o Grupos <0,2 mm	TOTAL
Estadificación tumoral					
- pTis	2	0	0	0	2
- pT1	3	0	0	0	3
- pT2	8	0	0	1	9
- pT3	13	1	2	5	21
- pT4	4	1	0	1	6
Total	30	2	2	7	41

La estadificación linfática mediante el análisis convencional de todos los ganglios linfáticos con H-E sumado al estudio de los GC con H-E y Citoqueratina siguiendo los criterios de la AJCC³⁷ (considerando afectación metastásica de los GC a las metástasis y micrometástasis), muestra un 61,7% de pacientes estadificados como N0 (37/60) y un 38,3% de pacientes estadificados como N+ (23/60), que conlleva un incremento de la estadificación de un 6,6%, pero no se objetiva diferencias significativas al analizar estos resultados (p: 0,1). Tabla 10.

TABLA10. Estadificación linfática combinada (Convencional + GC)

	N +	N0	Total
(H-E + GC) +	19	4^a	23(38,3%)*
(H-E + GC) -	0	37	37
Total	19(31,7%)*	41	60

N+: Metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

N0: Ausencia de metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

(H-E + GC) +: Metástasis linfática tras estudio convencional y de los GC;

(H-E + GC) -: Ausencia de metástasis linfática tras estudio convencional y de los GC.

^a **Metástasis y micrometástasis.**

*Supraestadificación: **6,6%** (38,3% - 31,7%); (p = 0,1).

Si realizamos la estadificación linfática combinada considerando como afectación neoplásica linfática a presencia de metástasis, micrometástasis, grupos celulares < 0,2 mm y células aisladas, observamos que el número de pacientes con afectación linfática (N+) es del 50% (30/60 pacientes), suponiendo un incremento de la estadificación de un 18,3% (p=0,001).

Tabla 11.

TABLA 11. Estadificación linfática combinada considerando los grupos celulares < 0,2 mm y las células aisladas como micrometástasis

	N +	N0	Total
(H-E + GC) +	19	11	30(50%)*
(H-E + GC) -	0	30	37
Total	19(31,7%)*	41	60

N+: Metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

N0: Ausencia de metástasis linfática en estudio convencional con H-E.

(H-E + GC) +: Metástasis linfática tras estudio convencional y de los GC;

(H-E + GC) - : Ausencia de metástasis linfática tras estudio convencional y de los GC.

*Supraestadificación: **18,3%** (50% - 31,7%); (**p = 0,001**).

5.2. Comparación de las técnicas del GC (Azul de Metileno vs. Nanocoll®).

En la tabla 12 se muestra la relación descriptiva de las variables de los dos grupos de estudio. La distribución los resultados en cuanto a la edad, sexo, ganglios linfáticos aislados, ganglios linfáticos afectados, estadificación tumoral (pT), estadificación linfática fue prácticamente similar en ambos grupos.

La identificación de los GC pudo realizarse en el 100% de los casos en ambos grupos, con una media de 2,4 GC (DE: 1,2 ganglios) en el grupo 1 (Azul de Metileno) y de 3,2 GC (DE: 1,2 ganglios) en el grupo 2 (Nanocoll®).

La identificación de un mayor número de GC mediante el estudio con Nanocoll® fue significativa (p: 0,006).

TABLA 12. Relación descriptiva de las variables de los dos grupos del estudio. GRUPO 1: Azul de Metileno. GRUPO 2: Nanocoll®

	GRUPO 1	GRUPO 2	p	TOTAL
Piezas de resección (n)	30	30		60
Edad (años)	67,3 (DE:8,8)	70,6 (DE:10,2)	ns	68,9 (DE:9,6)
Sexo	H: 18 M: 12	H:20 M:10	ns ns	H: 38 (63,3%) M: 22 (36,7%)
Ganglios aislados (GL)	18,8 (DE:9,7)	18,6 (DE:8,7)	ns	18,7 (DE:9,1)
Ganglios afectados (GLN)	1,4 (DE: 2,6)	1,1 (DE: 2,2)	ns	1,2 (DE:2,4)
Identificación ganglio centinela(GC)	100%	100%	-	100%
Número de GC	2,4 (DE:1,2)	3,2 (DE:1,2)	0,006	2,8 (DE:1.2)
Estadificación tumoral (pT)			ns	
- pTis	0	2	ns	2(3,3%)
- pT1	3	0	ns	3(5%)
- pT2	7	3	ns	10(16,7%)
- pT3	16	19	ns	35(58,3%)
- pT4	4	6	ns	10(16,7%)
Estadificación linfática sin estudio GC (pN)			ns	
- N0	20	21	ns	41(68,3%)
- N+	10	9	ns	19(31,7%)

En la tabla 13 se muestra la distribución de los resultados del estudio de los pacientes con afectación metastásica linfática según estudio convencional (H-E). A pesar de no existir diferencias significativas entre los resultados de ambos grupos (10 pacientes en el grupo 1 y 9 pacientes en grupo 2), destaca un mayor número de GC no afectados por la neoplasia en el grupo 2 (5 pacientes vs. 2 pacientes).

Siguiendo los criterios de la AJCC³⁷ (considerando afectación metastásica de los GC a las metástasis y micrometástasis), apreciamos que la TFN de toda la serie es del 63,1% (12/19 pacientes) siendo del 50% (5/10 pacientes) en el grupo 1 y del 77,7% (7/9 pacientes) en el grupo 2, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p=0,3).

Si consideramos las células aisladas o los grupos celulares < 0,2 mm como afectación linfática la TFN de toda la serie es del 36,8% (7/19 pacientes), siendo en el grupo 1 del 20% (2/10 pacientes) y del 55,5% en el grupo 2 (5/9 pacientes).

TABLA 13. Resultados del estudio de los GC en pacientes N+

GRUPO 1: Azul de Metileno. GRUPO 2: Nanocoll®

	GRUPO 1	GRUPO 2	p	TOTAL
Análisis de los GC en los pacientes N+				
- Sin Afectación	2	5	ns	7
- Metástasis	4	1	ns	5
- Micrometástasis	1	1	ns	2
- Células aisladas o grupos <0,2 mm	3	2	ns	5
TOTAL	10	9	ns	19
Tasa de Falsos Negativos (TFN)	5/10 (50%)	7/9 (77,7%)		12/19(63,1%)

Analizando la estadificación tumoral (pT) de los pacientes con afectación neoplásica linfática (N+) en los que el análisis de los GC no aprecia afectación neoplásica (falsos negativos), observamos que este hecho ocurre con una estadificación tumoral elevada (pT3, pT4) y en mayor proporción en el grupo 2 (5 pacientes vs. 2 pacientes). Tabla 14.

TABLA 14. Estadificación tumoral y afectación de los GC en los pacientes N+
GRUPO 1: Azul de Metileno. GRUPO 2: Nanocoll®

Afectación de los GC de los pacientes N+ en el GRUPO 1					
Estadificación tumoral	Sin afectación	Metástasis	Micrometástasis	C.Aisladas o grupos <0,2 mm	TOTAL
- pTis	0	0	0	0	0
- pT1	0	0	0	0	0
- pT2	0	0	0	1	1
- pT3	2	3	1	1	7
- pT4	0	1	0	1	2
Total	2	4	1	3	10

Afectación de los GC de los pacientes N+ en el GRUPO 2					
Estadificación tumoral	Sin afectación	Metástasis	Micrometástasis	C.Aisladas o Grupos <0,2mm	TOTAL
- pTis	0	0	0	0	0
- pT1	0	0	0	0	0
- pT2	0	0	0	0	0
- pT3	4	0	1	2	7
- pT4	1	1	0	0	2
Total	5	1	1	2	9

En la tabla 15 se muestra la distribución de los resultados del estudio de los GC de los pacientes sin afectación metastásica linfática (N0) según estudio convencional.

No se objetivaron diferencias significativas entre los resultados de ambos grupos (20 pacientes en el grupo 1 y 21 pacientes en grupo 2). Apreciamos que fueron identificadas metástasis o micrometástasis en el 15% de los pacientes del grupo 1 (3/20 pacientes) y en el 4,7% en el grupo 2 (1/21 pacientes), aunque no obtuvimos diferencias significativas al analizar estos resultados.

La identificación de células aisladas o grupos celulares <0,2 mm en los GC fue de ambos grupos fue similar (3 pacientes en grupo 1 y 4 pacientes en el grupo 2).

Podemos hipotéticamente considerar que la presencia en los GC de células aisladas o los grupos celulares <0,2 mm identifican pacientes con alto riesgo de progresión neoplásica, y que pueden comportarse clínicamente como N+. Bajo esta premisa podemos realizar una supraestadificación linfática considerando como afectación metastásica a la identificación en los GC de metástasis, micrometástasis, grupos celulares <0,2 mm o células aisladas. En este caso la afectación neoplásica de los GC de los pacientes N0 de toda la serie sería del 26,8% (11/41pacientes), un 30%(6/20 pacientes) en el grupo 1 y un 23,8% (5/21 pacientes) en el grupo 2, diferencias no significativas.

TABLA 15. Resultados del estudio de los GC en pacientes N0

GRUPO 1: Azul de Metileno. GRUPO 2: Nanocoll®

	GRUPO 1	GRUPO 2	p	TOTAL
Análisis de los GC en los pacientes N0				
- Sin Afectación	14	16	ns	30
- Metástasis	2	0	ns	2
- Micrometástasis	1	1	ns	2
- Células aisladas o grupos <0,2 mm	3	4	ns	7
TOTAL	20	21	ns	41

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

El número de ganglios linfáticos que deben ser examinados para considerar que una pieza quirúrgica de CCR está libre de afectación ganglionar (N0), no ha sido bien establecido, siendo en la actualidad motivo de controversia entre los distintos autores⁸¹, variando entre 6 y 17 ganglios. Fielding et al⁸² comunicaron en el Working Party Report of World Congress of Gastroenterology en 1990 que deben ser examinados al menos 12 ganglios linfáticos para considerar una pieza libre de metástasis. Así mismo la clasificación TNM del CCR exige el estudio de al menos 12 ganglios linfáticos.

Por otra parte la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC) exige aislar un número mínimo de 12 ganglios linfáticos para la correcta estadificación de cáncer de recto⁸³.

Tepper et al⁸⁴, sugieren que es necesario examinar 14 ganglios linfáticos para definir con precisión el estadio regional del cáncer rectal, demostrando la importancia del número de ganglios linfáticos obtenidos en la supervivencia de los pacientes afectos de cáncer de recto.

Por las razones señaladas previamente, la detección de un número suficiente de ganglios en la pieza quirúrgica constituye una exigencia para la estadificación adecuada del CCR. El empleo de soluciones reveladoras disolventes de la grasa (chemical fat clearance), como la solución de alcohol de xileno (xylene-alcohol solution) ha demostrado su utilidad para facilitar la identificación de los ganglios linfáticos⁸⁵. Su utilización supone trabajo "extra" para el laboratorio de anatomía patológica. Por ello, parece razonable que su empleo haya sido recomendado cuando de forma convencional se aislen menos de 12 ganglios linfáticos⁸⁶. La infravaloración del estadio es especialmente frecuente en el recto donde precisamente es de máxima importancia dado el elevado índice de recidivas.

En nuestro estudio, no se han utilizado soluciones reveladoras y la media de ganglios linfáticos aislados ha sido de 18,7 ganglios (DE: 9,1 ganglios), valores por encima de los recomendados en la literatura.

El porcentaje de identificación de los GC en los diferentes estudios publicados oscila entre el 58-100%, datos coincidentes a los obtenidos en nuestro grupo, alcanzándose un mayor porcentaje en las series con un mayor número de pacientes ($n > 100$ pacientes, 97,8-100%). Así mismo, la supraestadificación obtenida con el estudio de los GC es muy variable oscilando entre el 4-70%.
Tabla 16.

Tabla 16. Técnica de identificación del ganglio centinela en el CCR (1999-2007).

Año	Autores	n	Técnica	Región	IHQ	Ident %	FN %	GC solo +	Upstg
1999	Joosten et al ⁸⁷	50	PB	CR	Si	70	55	-	4
1999	Cserni et al ⁸⁸	25	PB	CR	No	96	38	8 (2/25)	-
2000	Saha et al ⁸⁹	86	L	CR	Si	99	9	17 (15/86)	8
2001	Merrie et al ⁹⁰	26	PB/L	C	No	88	45	-	8
2001	Wong et al	26	L	CR	Si	92	6	19 (5/26)	15
2001	Esser et al ⁹¹	31	L	CR	No	58	33	11 (2/18)	-
2001	Feig et al ⁹²	48	L	C	Si	98	38	0 (0/48)	-
2001	Saha et al	203	L	CR	Si	98	10	18 (36/203)	14
2002	Fitzgerald et al ⁹³	26	L	CR	Si	88	29	8 (2/26)	8
2002	Paramo et al	55	L	C	Si	82	7	16 (9/55)	11
2002	Bilchik et al	100	L	CR	Si	97	4	22 (22/100)	24
2002	Bendavid et al ⁹⁴	20	L	C	Si	90	0	25 (5/20)	25
2002	Kitagawa et al ⁹⁵	56	Tc-99	SR	No	91	18	-	-
2002	Broderick et al ⁹⁶	51	L	CR	Si	90	50	2 (1/51)	2
2003	Trocha et al	48	L/Tc-99	CR	Si	98	16	38	21
2003	Bembenek et al ⁹⁷	48	Tc-99	R	Si	96	56	39	23
2004	Bertoglio et al	26	PB	CR	No	92.3	22	-	29
2004	Saha et al	209	L	C	Si	100	9.4	38.8(33/85)	13
2004	Bertagnoli et al	72	L	C	No	94	54	3 (2/72)	-
2005	Cogdinolla et al ⁹⁸	56	PB	CR	Si	100	11	37,5(21/56)	37,5
2006	Saha et al ⁹⁹	500	PB	CR	Si	97.8	10.1	41,1(85/207)	26,1
2006	Redston et al	72	PB	C	Si	92	12-54	70 (26/37)	38 - 70
2007	Hernando et al	60	AM/N	Sigma	SI	100	20-77	9,7-26,8 (4 -11/41)	6,6-18

PB, Patent Blue; L, Lymphazurin; Tc-99, Tecnecio 99-m; AM, Azul de metileno; N, Nanocoll; Región, Región anatómica; C, Colon; CR, Colorrectal; SR, Sigma y Recto; R, Recto Ident, Tasa de identificación del GC; GC solo +, % GC positivos resto GL negativos; Upstg%, Incremento de la estadificación.

A pesar de que numerosos trabajos publicados demuestran que la técnica del ganglio centinela en el CCR es factible, su utilidad continúa siendo controvertida. Saha et al en un estudio multicéntrico realizado sobre 203 pacientes con cáncer de colon y analizando alrededor de 3000 ganglios linfáticos, hallaron significativamente una frecuencia más alta de afectación metastásica en los GC que en el resto (25% vs. 7,4%). Además el GC resultó ser el único afectado por la neoplasia en el 10% y sólo había metástasis en el 0,4% del resto de ganglios linfáticos. Por el contrario, un reciente trabajo publicado por Redston et al⁸⁰ concluyen que, usando H-E el GC fracasa en la correcta estadificación en un 54% de los casos y que utilizando inmunohistoquímica, en función de los criterios histopatológicos asignados para definir la positividad de los GC, presenta una baja sensibilidad para la detección de micrometástasis (40%) o bien un alto índice de falsos positivos (20%).

La variabilidad de los resultados presentados en los diferentes trabajos publicados se debe probablemente a la falta de uniformidad de los criterios existentes en la definición de micrometástasis, a las técnicas utilizadas en el análisis de los GC (Inmunohistoquímica o PCR), y a la variabilidad en la localización de las neoplasias estudiadas. Con la aplicación del estudio inmunohistoquímico a los GC muchos de los trabajos publicados presentan un incremento de la estadificación, que son, en los centros con mayor experiencia, de alrededor del 20% siendo los datos muy variables (4-70%) e influenciados por la diferente definición que es utilizada para considerar micrometástasis. Basándonos en estos resultados establecimos para el cálculo del tamaño de la muestra de nuestro estudio un incremento de la estadificación del 30%, siendo necesarios 60 pacientes en grupos apareados.

El estudio de los GC de nuestra serie con Citoqueratina CAM 5.2, siguiendo los criterios de la AJCC³⁷ (considerando afectación metastásica de los GC a las metástasis y micrometátasis), permitió identificar afectación neoplásica linfática en un 9,7% de los pacientes libres de afectación linfática por estudio convencional. La supraestadificación obtenida con el estudio de los GC fue del 6,6%. Por otro lado, si consideráramos los grupos celulares < 0, 2 mm y las células aisladas como afectación neoplásica la supraestadificación alcanzaría

el 18,3%. Los valores de supraestadificación obtenidos en nuestra serie se ajustan a los publicados en la literatura y permiten identificar un grupo de pacientes subsidiarios de recibir tratamiento quimioterápico adyuvante.

Hermanek et al, en 1999, presentaron una propuesta de clasificación para intentar unificar criterios y en este sentido, la mayor parte de autores, siguiendo los consejos de la AJCC, consideran actualmente micrometástasis a los grupos de células tumorales entre 0,2 – 2 mm, pero existen autores que estadifican como positivos los GC que contienen grupos celulares < 0,2 mm y otros que consideran como positivas las células aisladas citoqueratina positivas. Incluso hay autores que han analizado sus resultado considerando diferentes opciones de estadificación, una asignando como positivos los GC que contienen una o más células aisladas y otra asignando como GC positivo a la presencia de más de 5 células aisladas y como negativos los que tienen menos de 5 células.

Sin embargo, hay que tener precaución en la interpretación de los resultados de las células aisladas citoqueratina positivas (CK+) debido a su falta de especificidad. En la actualidad está discutido si estas células son realmente células neoplásicas o bien son células apoptóticas o células mesenquimales degenerativas. Además estas células aisladas CK+ pueden aparecer hasta en un 20% en procesos benignos. Durante el periodo de realización de este estudio, fueron intervenidos en nuestro centro 4 pacientes afectos de adenomas vellosos con displasia de alto grado. A estos pacientes se les realizó el estudio de los GC con nuestra metodología y en ninguno de ellos fueron objetivadas células aisladas con positividad a la citoqueratina.

En nuestro estudio definimos la presencia de células aisladas a la identificación de grupos de 10-20 células con positividad a citoqueratina CAM 5.2. En la mayor parte de estudios publicados la identificación de una única célula aislada ya define su presencia. Aún así, la presencia de estas células y los grupos celulares < 0,2 mm no modificaba la estadificación de nuestros pacientes, que, por otro lado, eran considerados como de alto riesgo de progresión neoplásica.

Nuestro estudio se ha realizado de forma prospectiva, por un mismo equipo multidisciplinar, en un único centro, con criterios de inclusión bien definidos y analizando una única localización anatómica. Los estudios publicados hasta la actualidad adolecen de falta de uniformidad de criterios, siendo la mayor parte de ellos retrospectivos, algunos multicéntricos con diferentes equipos multidisciplinarios y analizan conjuntamente todas las regiones anatómicas colorrectales. No hemos encontrado en la literatura otros estudios que analicen exclusivamente el cáncer de colon izquierdo, por lo que no podemos conocer si los hallazgos que hemos obtenido pueden ser debidos a la localización de la neoplasia. Por otro lado, la sensibilidad para evidenciar metástasis por técnicas rutinarias, incluyendo la inmunohistoquímica, no es lo suficientemente alta para detectar la totalidad de las mismas, por lo que se planteó la utilización de técnicas más sensibles como la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)¹⁰⁰.

Mori et al¹⁰¹, estudiaron carcinomas gastrointestinales y de pulmón evaluando por RT-PCR la presencia de metástasis en ganglios linfáticos mediante la expresión del ARNm que codifica el antígeno carcinoembrionario (CEA), detectando un aumento de sensibilidad del 26 al 66% usando RT-PCR en ganglios linfáticos histológicamente negativos. Además Lockett et al¹⁰² en un estudio realizado sobre 35 pacientes con cáncer de pulmón sin afectación linfática afirmaron que la RT-PCR es más sensible y económica que el análisis patológico con inmunohistoquímica.

Uno de los aspectos más debatidos actualmente se centra en determinar el significado biológico de las células aisladas citoqueratina positivas y la importancia clínica de las micrometástasis en los ganglios linfáticos del CCR. Redston et al⁸⁰ afirman que las células aisladas con positividad a citoqueratina no son un indicador de relevancia válida para considerarlas como micrometástasis, pero únicamente justifican esta premisa analizando el porcentaje de supraestadificación de su serie, sin realizar un estudio de supervivencia de estos pacientes.

Existen estudios que demuestran una peor supervivencia en los pacientes con micrometástasis^{103,104} mientras que otros no objetivan diferencias^{105,106}. Broll et al¹⁰⁷, examinaron los ganglios linfáticos de 32 pacientes con estadio I y

II de CCR y con una mediana de seguimiento de 84 meses, el 33% de los pacientes con positividad en el análisis inmunohistoquímico desarrolló recurrencia en oposición al 12% de los pacientes sin positividad al estudio inmunohistoquímico. Sin embargo, esta diferencia no se vió reflejada en la supervivencia. Greenson et al, usaron citoqueratina y glicoproteína asociada al tumor (TAG-72) para examinar los ganglios linfáticos de 50 pacientes con cáncer de colon Dukes B sin afectación linfática. La tasa relativa de muertes asociada al cáncer fue del 43% en los pacientes con positividad a citoqueratina y de sólo un 3% en los pacientes sin positividad a citoqueratina

Saha et al, en un estudio multicéntrico retrospectivo sobre un total de 868 pacientes con CCR y un seguimiento mínimo de 2 años han publicado recientemente que los pacientes estratificados con técnica de GC presentan significativamente una menor tasa de recurrencia neoplásica (7% vs. 25%). Los autores atribuyen estos resultados a que los pacientes en los que eran detectadas micrometástasis recibían quimioterapia adyuvante, dado que la técnica quirúrgica y el seguimiento fue similar en ambos grupos.

La segunda fase de nuestro estudio consistirá en analizar la supervivencia a los 3-5 años, de los pacientes que han presentado células aisladas o grupos celulares < 0,2 mm, para evaluar la relevancia clínica de estos hallazgos en nuestra serie.

Al analizar los resultados de las dos técnicas de estudio de los ganglios centinelas en nuestra serie, apreciamos que la identificación de los GC pudo realizarse en el 100% de los casos en ambos grupos, con una media de 2,4 GC (DE: 1,2 ganglios) en el grupo 1 (Azul de Metileno) y de 3,2 GC (DE: 1,2 ganglios) en el grupo 2 (Nanocoll®).

La identificación de un mayor número de GC mediante el estudio con Nanocoll® fue significativa (p: 0,006).

La utilización de radioisótopos conjuntamente con colorantes vitales ha sido utilizada en el cáncer de mama y en el melanoma maligno para incrementar la sensibilidad y precisión de la técnica de identificación de los GC. Se ha prestado relativa poca atención a la utilización de radioisótopos guiados por

sonda-gamma para la identificación de los GC en el CCR, aunque existen algunos trabajos que utilizan esta técnica asociada o no a la inyección colorante vital^{74,108,109}.

La linfografía isotópica es costosa, consume tiempo y precisa coordinación multidisciplinaria, no habiéndose demostrado hasta el momento unos mejores resultados en cuanto al porcentaje de identificación de los GC. En un estudio llevado a cabo por Merri et al, sólo la mitad de los ganglios linfáticos teñidos con colorante mostraban actividad del radiocoloide y la concordancia entre la identificación de los GC entre ambas técnicas fue del 76%. Saha et al, utilizando azul de isosulfán y Tc99m sulfuro coloidal, en un estudio realizado sobre 57 paciente afectos de CCR, no encuentran diferencias significativas en la identificación de los GC (93% vs. 92%). La utilización conjunta de ambas técnicas incrementó la identificación de los GC hasta el 95%. Afirmaron que la afectación metastásica fue significativamente más alta en los GC identificados con las dos técnicas en comparación con los identificados únicamente con azul de isosulfán. Así mismo, identificaron un mayor número de GC con el colorante 152 ganglios vs. 100 ganglios del total de los 156 GC identificados.

Contrariamente a estos resultados, en nuestro estudio, fueron identificados un mayor número de GC en el grupo 2, que utilizaba como radiotrazador un nanocoloide de albúmina (Nanocoll[®]) para su detección (3,2 GC vs. 2,4 GC). Probablemente estos resultados se deban en parte a las diferencias existentes entre los radiotrazadores utilizados, pues mientras que el sulfuro coloidal de tecnecio no filtrado, que se utiliza en Estados Unidos, presenta un tamaño de partícula por encima de 100 nanómetros (hasta 1000 nm), el Nanocoll[®], más utilizado en Europa, presenta un tamaño de partícula de entre 5 y 80 nanómetros, lo que permite una mayor migración.

Sin embargo, con las partículas de mayor tamaño existe una tendencia a observar menos ganglios de drenaje y aumenta el riesgo de que no se produzca migración. Este hecho puede justificar la mayor proporción de ganglios centinelas positivos que se objetivó en el estudio de Saha et al, donde el propio autor afirma que el sulfuro coloidal identifica secuencialmente los primeros ganglios en el drenaje linfático tumoral, que son por otro lado, los que presentan el mayor riesgo de albergar enfermedad neoplásica. El elevado

porcentaje de GC metastáticos con el estudio de las dos técnicas sustentan las bases de la argumentación de estos autores, que recomiendan la utilización de ambos métodos. Sin embargo, esta propuesta de estudio combinado no ha sido valorada por otros estudios multicéntricos y la técnica de detección de los GC basada en colorantes ha sido la comúnmente utilizada, en base a su eficacia, seguridad, fácil manejo y mejor coste-efectividad.

En nuestro estudio apreciamos que aún habiendo identificado significativamente un mayor número de GC en el grupo 2 (Nanocoll[®]), la tasa de falsos negativos (TFN), definida como el estudio del GC negativo a células malignas con al menos otro ganglio linfático afectado por la neoplasia, fue extremadamente alta (77,7% en el grupo 2 vs. 50% en el grupo 1). La TFN en los diferentes estudios publicados es variable, oscilando entre un 5-56%, dependiendo en gran medida de la definición que se utilice para considerar micrometástasis, es decir, en función de que se estatifiquen como ganglios afectados por la neoplasia (N+) a los GC que contienen células aisladas citoqueratina positivas. Así, si en nuestro estudio consideramos las células aisladas o grupos celulares < 0,2 mm como afectación linfática, la TFN del grupo 1 es del 20% y del 50% en el grupo 2, valores que se ajustan a los obtenidos en otras series. Existen autores que han utilizado para definir esta tasa la proporción de falsos negativos divididos por la suma de los falsos negativos más los verdaderos positivos (ó 1-sensibilidad)^{92,110}.

En cualquier caso, la TFN en nuestros grupos nos parece excesiva aunque tenemos argumentos para su explicación, que seguidamente relatamos.

En el grupo 1, con la utilización de azul de metileno, los valores son similares a otras series publicadas, a pesar de que nuestra definición para considerar un ganglio centinela es más estricta que en otras series, pues únicamente se consideraron GC a los nódulos linfáticos claramente coloreados. En otros trabajos publicados se consideran GC a los ganglios linfáticos inmediatamente localizados al lado de trayectos linfáticos claramente teñidos, a pesar de que estos ganglios no captan el colorante. Otro motivo fue el volumen de colorante utilizado, que en nuestro estudio osciló entre 1-2 mL y no se varió en función del tamaño tumoral, para intentar uniformizar la realización de la técnica, aún sabiendo que existe algún autor que recomienda incrementar el volumen de

colorante inyectado en función del diámetro tumoral (0,5 mL por cada cm tumoral)¹¹¹. Aunque existen estudios que demuestran la validez de la utilización del azul de metileno sólo, o en combinación con radiotrazadores, para la identificación de los GC en el cáncer de mama^{112,113}, existe muy poca experiencia sobre la utilización del azul de metileno para la identificación de los GC en el CCR. Hemos encontrado un único trabajo realizado por Chen DJ et al¹¹⁴ realizado en 32 pacientes afectados de CCR según técnica de detección de GC ex-vivo mediante la inyección de 1 mL de azul de metileno, logrando identificar los GC en un 93,3% (30/32 pacientes) con una TFN del 11,8%.

En el grupo 2 (Nanocoll[®]), la elevada TFN puede deberse en parte al tamaño de las partículas del radioisótopo utilizado, siendo las del Nanocoll[®] entre 5-80 nanómetros, lo que por un lado facilita su rápida migración, pero por el contrario puede hacer que esta sustancia no sea selectiva en la identificación del primer ganglio linfático de la cadena, que en ocasiones puede ser saltado en función del tiempo que transcurra entre la inyección del radiotrazador y el momento de la intervención quirúrgica, que en ningún caso debe ser superior a 24h. La técnica de inyección del Nanocoll[®] en estos paciente también pensamos que es fundamental en la explicación de los resultados. En el colon izquierdo, la mayor parte de tumores son de característica escirra, con un mayor o menor grado de oclusión de la luz intestinal. Este hecho hace que la realización de una sigmoidoscopia flexible para la inyección en los cuatro cuadrantes peritumorales haya sido dificultosa en algunos pacientes con cierto componente oclusivo, motivo por el cual el punto de inyección en alguno de ellos, tal vez, haya podido no ser del todo preciso.

Así mismo, los ganglios infiltrados por la neoplasia pueden estar bloqueados y no poder captar la sustancias que permitan identificarlos, siendo un motivo de argumentación válido para ambas técnicas.

Sin embargo, la TFN es un parámetro que en el CCR presenta menor relevancia clínica si lo comparamos con otras neoplasias, como en el cáncer de mama o el melanoma maligno, dado que en el CCR la intervención quirúrgica no se ve modificada, éstos pacientes pueden ser estadificados correctamente y no sufren variación en el tratamiento adyuvante.

Estudios publicados indican que la localización no convencional de los GC en el CCR sucede entre el 6-8% de los casos. Algunos autores han sugerido que este drenaje linfático aberrante sucede cuando existe una gran afectación metastásica en los trayectos linfáticos convencionales, forzando a que el drenaje linfático adopte otras vías. En nuestro estudio no se identificaron trayectos linfáticos aberrantes en ningún caso, coincidiendo con los resultados de Bertagnolli et al, que en un estudio multicéntrico llevado a cabo en 13 instituciones por 25 cirujanos sobre 91 pacientes afectados de cáncer de colon, no se identificaron trayectos linfáticos aberrantes en ningún paciente, y la TFN fue del 54%.

La utilidad práctica de la estadificación combinada del CCR (convencional + GC) consiste en conseguir una más precisa estadificación de los pacientes afectados de esta neoplasia, siempre en busca de ofrecerles las mejores opciones terapéuticas, con la intención de lograr el mayor índice de curación. Así mismo, los pacientes libres de enfermedad linfática por estudio combinado no precisarían tratamiento quimioterápico adyuvante.

Como ya hemos mencionado, la segunda fase de nuestro estudio consistirá en analizar la supervivencia a los 3-5 años, de los pacientes que han presentado células aisladas o grupos celulares < 0,2 mm, para evaluar la relevancia clínica de estos hallazgos. Deberán realizarse más estudios con criterios homogéneos y con seguimiento mínimo de 3-5 años para dar respuesta a estas cuestiones.

En base a los resultados obtenidos, creemos que es fundamental identificar los GC de todos los pacientes afectados de CCR en estadios preoperatorios 0, I y II. Tras realizar la estadificación linfática convencional, a los pacientes N0 se les deberá analizar los GC que previamente habrán sido identificados.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. El estudio de los GC con Citoqueratina CAM 5.2. permite identificar afectación neoplásica linfática en un 9,7% de los pacientes libres de afectación linfática por estudio convencional.
2. La supraestadificación obtenida con el estudio de los GC es del 6,6%. Si consideráramos los grupos celulares < 0,2 mm y las células aisladas como afectación neoplásica la supraestadificación alcanzaría el 18,3%.
3. La técnica de detección de los GC en el cáncer de colon izquierdo es efectiva.
4. El menor número de falsos negativos así como su menor coste económico hace recomendable la utilización de Azul de Metileno como método de identificación de los GC en el cáncer de colon izquierdo.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Goligher J. Incidencia y anatomía patológica del carcinoma de colon y recto. En: Goligher J, director. Cirugía del ano recto y colon. 2ª Edición. Barcelona: Salvat Editores. 1987 p. 412-16.
2. Hill AB. The environmental and disease: Association or causation? Proc Roy Soc Med. 1965; 58: 295-300.
3. Evans AS. Causation and disease: a chronological journey. The Thomas Parran Lecture. Am J Epidemiol. 1978 Oct;108(4):249-58.
4. Rotman KJ. Epidemiología moderna. En: Rotman KJ, director. Madrid: Ediciones Díaz Santos S.A., 1987.
5. Berlau J, Gleit M, Pool-Zobel BL. Colon cancer risk factors from nutrition. Anal Bioanal Chem. 2004 Feb;378(3):737-43.
6. Pignone MP, Rich M, Teatsch B, Cohen AM, Minsky BA, Schilscky RL. Cáncer de Colon. En: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology. 4th Ed. Philadelphia: JB Lippincot Company. 1993; Vol 1 p. 929-79.
7. Casimiro C. Etiopathogenic factors in colorectal cancer. Nutritional and life-style aspects. Nutr Hosp. 2002 May-Jun;17(3):128-38.
8. Hiatt RA, Klabunde C, Breen N, Swan J, Ballard-Barbash R. Cancer screening practices from National Health Interview Surveys: past, present, and future. J Natl Cancer Inst. 2002 Dec 18;94(24):1837-46. Review.
9. Singh PN, Fraser GE. Dietary risk factors for colon cancer in a low-risk population. Am J Epidemiol. 1998 Oct 15;148(8):761-74.
10. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. N Engl J Med. 1999 Jan 21;340(3):169-76.
11. Gonzalez CA, Navarro C, Martinez C, Quiros JR, Dorronsoro M, Barricarte A, et al. Rev Esp Salud Publica. 2004;78(2):167-76.
12. Micheles KB, Giovannucci EL, Joshipura KJ, Rosner BA, Stampfer MJ, Fusch CS, et al. Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. J Natl Cancer Inst. 2000; 92: 1740-52.
13. Knekt P, Hakama M, Jarvinen R, Pukkala E, Heliövaara M. Smoking and risk of colorectal cancer. Br J Cancer. 1998 Jul;78(1):136-9.
14. Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Mandel JS, Mott LA, Greenberg ER. Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of colorectal adenomas. J Natl Cancer Inst. 1998 Jan 7;90(1):57-62.
15. Boutron MC, Faivre J. Alcohol, tabaco and the adenoma carcinoma sequence: a case control study in Burgundy France. Gastroenterology. 1993; 104 (4 Suppl): A-390.
16. Sturmer T, Glynn RJ, Lee IM, Manson JE, Buring JE, Hennekens CH. Aspirin use and colorectal cancer: post-trial follow-up data from the Physicians' Health Study. Ann Intern Med. 1998 May 1;128(9):713-20.

17. Eastwood GL. Pharmacologic prevention of colonic neoplasms. Effects of calcium, vitamins, omega fatty acids, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Dig Dis.* 1996;14(2):119-28.
18. Bostick RM, Potters ID, Mckenzie DR, Sellers TA, Kushi LH, Steinmetz KA, Folsom AR. Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: The Iowa Womens Health Study. *Cancer Res.* 1993;53:4230-37.
19. Pritchard RS, Baron JA, Gerhardsson de Verdier M. Dietary calcium, vitamin D, and the risk of colorectal cancer in Stockholm, Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996 Nov;5(11):897-900.
20. Baron JA, Beach M, Mandel JS, van Stolk RU, Haile RW, Sandler RS, et al. Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. Calcium Polyp Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):101-7.
21. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med.* 1993 Dec 30;329(27):1977-81.
22. Mandel JS, Church TR, Bond JH, Ederer F, Geisser MS, Mongin SJ, et al. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2000 Nov 30;343(22):1603-7.
23. Morotomi M, Guillem JG, LoGerfo P, Weinstein IB. Production of diacylglycerol, an activator of protein kinase C, by human intestinal microflora. *Cancer Res.* 1990 Jun 15;50(12):3595-9.
24. Augustsson K, Skog K, Jagerstad M, Dickman PW, Steineck G. Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet.* 1999 Feb 27;353(9154):703-7.
25. Forman D. Meat and cancer: a relation in search of a mechanism. *Lancet.* 1999 Feb 27;353(9154):686-7.
26. Lacoles LR. Fiber and colon cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 1988; 7: 747-60.
27. Howe GR, Benito E, Castelleto R, Cornee J, Esteve J, Gallagher RP, Iscovich JM, Deng-ao J, Kaaks R, Kune GA, et al. Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J Natl Cancer Inst.* 1992 Dec 16;84(24):1887-96.
28. Giovannucci E, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Fuchs C, Rosner BA, et al. Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the Nurses' Health Study. *Ann Intern Med.* 1998 Oct 1;129(7):517-24.
29. Wargovich MJ, Eng VW, Newmark HL, Bruce WR. Calcium ameliorates the toxic effect of deoxycholic acid on colonic epithelium. *Carcinogenesis.* 1983 Sep;4(9):1205-7.
30. Earnest DL, Hixson LJ, Fennerty MB. Inhibition of prostaglandin synthesis: potential for chemoprevention of human colon cancer. *Cancer Bull.* 1991; 43: 561-8.
31. Earnest DL, Hixson LJ, Alberts DS. Piroxicam and other cyclooxygenase inhibitors: potential for cancer chemoprevention. *J Cell Biochem.* 1992; 161: 156-66.
32. Kune GA, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: a review of the scientific evidence from 1957 to 1991. *Nutr Cancer.* 1992;18(2):97-111.

33. Viñes JJ, Ardanaz E, Aráosla A, Gaminde I. Epidemiología clínica del cáncer colorrectal: la detección precoz. *Cir Esp.* 2003; 73: 2-8.
34. Goligher J. Incidencia y anatomía patológica del carcinoma de colon y recto. En: Goligher J, director. *Cirugía del ano recto y colon. 2ª Edición.* Barcelona: Salvat Editores. 1987 p. 425-6.
35. Goligher J. Incidencia y anatomía patológica del carcinoma de colon y recto. En: Goligher J, director. *Cirugía del ano recto y colon. 2ª Edición.* Barcelona: Salvat Editores. 1987 p. 427-30.
36. Goligher J. Incidencia y anatomía patológica del carcinoma de colon y recto. En: Goligher J, director. *Cirugía del ano recto y colon. 2ª Edición.* Barcelona: Salvat Editores. 1987 p. 431-34.
37. AJCC Cancer Staging Manual, Sixth Edition, American Joint Committee on Cancer; Springer-Verlag New York, New York; 2002.
38. Goligher J. Incidencia y anatomía patológica del carcinoma de colon y recto. En: Goligher J, director. *Cirugía del ano recto y colon. 2ª Edición.* Barcelona: Salvat Editores. 1987 p. 471-762.
39. Adell-Carceller R, Segarra-Soria MA, Pellicer-Castell V, Marcote-Valdivieso E, Gamón-Giner R, Bayón-Lara A., et al. *Impacto en el número de ganglios negativos examinados en la evolución de los pacientes con cáncer colo-rectal.* *Cir Esp.* 2004; 76:16-9.
40. National Institutes of Health Consensus Statement. Adjuvant therapy for patients with colon and rectum cancer. Bethesda: National Institutes of Health, 1990.
41. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer Sixth Edition staging. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:1420-5.
42. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, et al. Fluoracil plus levamisole as effective adjuvant therapy after resection of stage III colon carcinoma: a final report. *Ann Intern Med.* 1995;122:321-6.
43. Bertoglio S, Sandrucci S, Percivale P, Goss M, Gipponi M, Moresco L, et al. Prognostic value of sentinel lymph node biopsy in the pathologic staging of colorectal cancer patients. *J Surg Oncol.* 2004;85:166-70.
44. Cohen AM, Tremitterra S, Candela F, Thaler HT Sigurdson ER. Prognosis of node positive cancer. *Cancer.* 1991;67:1859-61.
45. Cohen AM, Kelsen D, Saltz L, Minsky BD, Nelson H, Farouk R, et al. Adjuvant therapy for colorectal cancer. *Curr Probl Surg.* 1997;34:601-76.
46. Herrera-Ornelas L, Justiniano J, Castillo N, Petrelli NJ, Stulc JP, Mittelman A. Metastases in small lymph nodes from colon cancer. *Arch Surg.* 1987;122:1253-6.
47. Rodriguez-Bigas MA, Maamoun S, Weber TK, Penetrante RB, Blumenson LE, Petrelli NJ. Clinical significance of colorectal cancer: metastases in lymph nodes < 5mm in size. *Ann Surg Oncol.* 1996;3:124-30.
48. Crucitti F, Doglietto GB, Bellantone R, Sofo L, Bossola M, Ratto C, et al. Accurate specimen preparation and examination is mandatory to detect lymph nodes and avoid understaging in colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 1992;51:153-7.

49. Haboubi NY, Clarck P, Kaftan SM, Schfield PF. The importance of combining xylene clearance and immunohistochemistry in the accurate staging of colorectal carcinoma. *J R Soc Med* 1992;85:386-8.
50. Scott KW, Grace RH, Gibbons P. Five-year follow-up study of the fat clearance technique in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum*. 1994;37:126-8.
51. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH. Observations on a "sentinel node" in cancer of the parotid. *Cancer*. 1960;13:77-8.
52. Cabanas R. An approach to the treatment of penile carcinoma. *Cancer*. 1977; 39:456-66.
53. Morton DL, 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; 127:392-9.
54. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg*. 1994; 220:391-401.
55. Saha S, Ganatra BK, Gauthier J, et al. Localization of sentinel lymph node(SLN) in colon cancer(CrCa). A feasibility study. *Society of Surgical Oncology cancer Symposium Abstract Book*. 1997: p54(abstr 80).
56. Turner RR, Ollila DW, Krasne DL, et al.: Histologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg*. 1997;226:271-8.
57. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedoni M, et al. Sentinel node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph nodes. *Lancet*. 1997;349:1864-7.
58. Thompson JF, McCarthy WH, Bosch CM, O'Brien CJ, Quinn MJ, Paramaesvaran S, et al. Sentinel lymph node status as an indicator of the presence of metastatic melanoma in regional lymph nodes. *Melanoma Res*. 1995;5:255-60.
59. Langer I, Marti WR, Guller U, Moch H, Harder F, Oertli D, Zuber M. Axillary recurrence rate in breast cancer patients with negative sentinel lymph node (SLN) or SLN micrometastases: prospective analysis of 150 patients after SLN biopsy. *Ann Surg*. 2005 Jan;241(1):152-8.
60. Maruyama K, Sasako M, Kinoshita T, Sano T, Katai H. Can sentinel node biopsy indicate rational extent of lymphadenectomy in gastric cancer surgery? Fundamental and new information on lymph node dissection. *Langenbecks Arch Surg*. 1999;384:149-57.
61. Stojadinovic A, Allen PJ, Protic M, Potter JF, Shriver CD, Nelson JM, Peoples GE. Colon sentinel lymph node mapping: practical surgical applications. *J Am Coll Surg*. 2005;201:297-313.
62. Saha S; Dan AG, Beutler T, Wiese D, Schochet E, Badin J et al. Sentinel node lymph mapping technique in colon cancer. *Semin Oncol*. 2004;31:374-81.
63. Bilchik AJ, Nora D, Tollenaar RA, van de Velde CJ, Wood T, Turner R, et al. Ultrastaging of early colon cancer using lymphatic mapping and molecular analysis. *Eur J Cancer*. 2002;38:977-85.
64. 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.

65. 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;8:150-7.
66. Johnson DS, Wong JH. The impact on nodal staging of lymphatic mapping in carcinoma of the colon and rectum. *Sem Oncol*. 2004;31:403-8.
67. Tsioulis GJ, Wood TF, Spirt M, Morton DL, Bilchik AJ. A novel lymphatic mapping technique to improve localization and staging of early colon cancer during laparoscopic colectomy. *Ann Surg*. 2002;68:561-6.
68. Alex JC, Krag DN. Gamma-probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol*. 1993;2:137-43.
69. Alazraki NP, Eshima D, Eshima LA, Herda SC, Murray DR, Vansant JP, Taylor AT. Lymphoscintigraphy, the sentinel node concept, and the intraoperative gamma probe in melanoma, breast cancer and other potential cancers. *Semin Nucl Med*. 1997;27:55-7.
70. Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F, et al. The orderly progression of melanoma nodal metastases. *Ann Surg*. 1994;220:759-67.
71. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol*. 1993;2:335-40.
72. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Watanabe M, et al. The roles of the sentinel node in gastrointestinal cancer. *Surg Clin North Am*. 2000;80:1789-809.
73. Trocha SD, Nora DT, Saha SS, Morton DL, Wiese D, Bilchik AJ. Combination probe and dye-directed lymphatic mapping detects micrometastases in early colorectal cancer. *J Gastrointestinal Surg*. 2003;7:340-6.
74. Saha S, Dan AG, Berman B, Wiese D, Schochet E, Barber K, et al. Lymphazurin 1% versus 99mTc sulfur colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. *Ann Surg Oncol*. 2004;11:21-6.
75. Wood TF, Spirt M, Rangel D, Shen P, Tsioulis GJ, Morton DL, Bilchik AJ. Lymphatic mapping improves staging during laparoscopic colectomy for cancer. *Surg Endosc*. 2001;15:715-9.
76. Paramo JC, Summerall J, Poppiti R, Tsioulis GJ, Rangel D, Hutchinson W Jr, et al. Validation of the sentinel node mapping in patients with colon cancer. *Ann Surg Oncol*. 2002;9:550-4.
77. Bertagnolli M, 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;240:624-30.
78. Saha S, Bilchick 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;8:94S-98S.
79. Hermanek P, Hutter RV, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer*. 1999;86:2668-73.
80. 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 Leukemia Group B Trial 80001. *J Clin Oncol*. 2006 Feb 20;24(6):841-2.

81. Hernanz F, Revuelta S, Redondo C. Colorectal adenocarcinoma: quality of the assessment of lymph node metastases. *Dis Colon and rectum*. 1994;37:373-7.
82. Fielding LP, Aresnault PA, Chapuis PH. Working Party report of Gastroenterology, Sidney 1990. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991;6:325-44.
83. Ruiz López P, Alcande Escríano, Rodríguez Cuellar, Landa García E, Jaurrieta Mata E. Proyecto nacional para la gestión clínica de procesos asistenciales. Tratamiento quirúrgico del cáncer colorrectal. Aspectos generales. *Cir Esp*. 2002; 71:173-80.
84. Tepper JE, O'Connell MJ, Niedzwiecki D, Hollis D, Compton C, Benson AB 3rd, et al. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J. Clin. Oncol*. 2001;19:157-63.
85. Cawthorn SJ, Gibbs NM, Marks CG. Clearance technique for the detection of lymph nodes in colorectal cancer. *Br J Surg*. 1986;73:58-60.
86. Schofield JB, Mounter NA, Mallett R, Haboubi NY. The importance of accurate pathological assessment of lymph node involvement in colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2006 Jul;8(6):460-70.
87. Joosten JJ, Strobbe LJ, Wauters CA, Pruszczynski M, Wobbes T, Ruers TJ. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. *Br J Surg*. 1999;86:482-6.
88. Cserni G, Vajda K, Tarjan M, Bori R, Svebis M, Baltas B. Nodal staging of colorectal carcinomas from quantitative and qualitative aspects. Can lymphatic mapping help staging? *Pathol Oncol Res*. 1999;5:291-6.
89. Saha S, Wiese D, Badin J, Beutler T, Nora D, Ganatra BK, et al. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. *Ann Surg Oncol*. 2000;7:120-4.
90. Merrie AE, van Rij AM, Phillips LV, Rossaak JI, Yun K, McCall JL. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2001;44:410-7.
91. Esser S, Reilly WT, Riley LB, Eyvazzadeh C, Arcona S. The role of the sentinel lymph node mapping in staging of colon and rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2001;44:850-4.
92. Feig BW, Curley S, Lucci A, Hunt KK, Vauthey JN, Mansfield PF, et al. A caution regarding lymphatic mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg*. 2001;182:707-12.
93. Fitzgerald TL; Khalifa MA, Al Zahrani M, Law CH, Smith AJ. Ex vivo sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: a feasibility study. *J Surg Oncol*. 2002;80:27-32.
94. 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;79:81-4.
95. 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; 45:1476-80.
96. 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; 8:445-50.

97. 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;135:498-505.
98. Codignola C, Zorzi F, Zaniboni A, Mutti S, Rizzi A, Padolecchia E, Morandi GB. Is there any role for sentinel node mapping in colorectal cancer staging?. Personal experience and review of the literature. *Jpn J Clin Oncol*. 2005;35:645-50.
99. Saha S, Seghal R, Patel M, Doan K, Dan A, Bilchik A, et al. A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence. *Am J Surg*. 2006;191:305-10.
100. Rosenberg R, Hoos A, Mueller J, Nekarda H. Impact of cytokeratin-20 and carcinoembryonic antigen mRNA detection in regional lymph nodes of patients with colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2000;83:1323-9.
101. Mori M, Mimori K, Inoue H, Barnard GF, Tsuji K, Nanbara S, et al. Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer Res*. 1995;55:3417-20.
102. Lockett MA, Metcalf JS, Baron PL, O'Brien PH, Elliott BM, Robison JG, Cole DJ. Efficacy of reverse transcriptase-polymerase chain reaction screening for micrometastasis disease in axillary lymph nodes of breast cancer patients. *Am Surg*. 1998;64:539-43.
103. Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, Mojzsisik 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 cytoqueratin and CC49: correlation with long-term survival. *Cancer*. 1994;73:563-9.
104. Liefers GJ, Cleton-Jansen AM, van de Velde CJ, Hermans J, van Krieken JH, Cornelisse CJ, Tollenaar RA. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. *N Engl J Med*. 1998;339:223-8.
105. Jeffers MD, O'Dowd GM, Mulcahy H, Stagg M, O'Donoghue DP, Toner M. The prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. *J Pathol*. 1994;172:183-7.
106. Nakanishi Y, Ochiai A, Yamauchi Y, Moriya Y, Yoshimura K, Hirohashi S. Clinical implications of lymph node micrometastases in patients in colorectal cancers: a case control study. *Oncology*. 1999;57:276-80.
107. Broll R, Schauer V, Schimmelpenning H, Strik M, Woltmann A, Best R, et al. Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinomas. An immunohistochemical study. *Dis Colon Rectum*. 1997;40:1465-71.
108. Patten LC, Berger DH, Rodriguez-Bigas M, Mansfield P, Delpassand E, Cleary KR, et al. A prospective evaluation of radiocolloid and immunohistochemical staining in colon carcinoma lymphatic mapping. *Cancer* 2004;100:2104-2109
109. Merrie AE, van Rij AM, Phillips LV, Rossaak JI, Yun K, McCall JL. Diagnosis use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2001;44:410-7.
110. Wiese DA, Saha S, Badin J, Ng PS, Gauthier J, Ahsan A, Yu L. Pathologic evaluation of sentinel lymph nodes in colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124:1759-63.
111. 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 tumor size. *World J Surg*. 2003;27:1285-90.

112. Golshan M, Nakhli F. Can methylene blue only be used in sentinel lymph node biopsy for breast cancer? *Breast J.* 2006 Sep-Oct;12 (5):428-30.

113. Varghese P, Mostafa A, Abdel-Rahman AT, Akberali S, Gattuso J, Canizales A, et al. Methylene blue dye versus combined dye-radioactive tracer technique for sentinel lymph node localisation in early breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2006.

114. Chen DJ, Zhou FQ, Gan Y. Ex Vitro sentinel lymph node mapping in colorectal carcinoma. *Zhonghua Wei Cang Wai Ke Za Zhi.* 2006;9(2):124-6