



Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Medicina

Departament de Cirurgia

**ESTUDI DE FACTORS CLÍNIC-PATOLÒGICS I VALOR
PRONÒSTIC DE L'EXPRESSIÓ SUBCEL·LULAR D'E-CADERINA
EN METÀSTASIS HEPÀTIQUES DE CÀNCER COLORECTAL**

Tesi presentada per la doctoranda **Laia Estalella Mercadé**

per optar al grau de Doctor en Medicina i Cirurgia

Barcelona, 2015

Directors:

Dr. Vicenç Artigas Raventós

Dra. Maria Virtudes Céspedes Navarro

Dr. Manel Trias Folch

AGRAÏMENTS

La finalització d'aquesta tesi suposa el tancament d'una etapa i el començament d'una altra i he d'agrair-ho a diverses persones que s'han creuat en aquest camí.

Al Dr. Manel Trias, que amb la seva insistència m'ha fet apreciar la importància de la recerca bàsica i interessar-me en ella. Sense ell no hagués començat aquest treball.

Al Dr. Vicenç Artigas, em falten paraules per agrair-li la confiança que sempre ha dipositat en mi, per tenir paciència quan jo no n'he tingut i indicar-me sempre el camí correcte. Mai li podré agrair del tot!

Al Dr. Manuel Rodríguez, que juntament amb el Dr. Artigas, són els meus referents més preuats. M'han ensenyat a estimar la cirurgia i a dedicar-m'hi amb devoció. Manolo, gràcies per aguantar les meves neures!!!

A la Dra. Virtudes Céspedes, investigadora del Grup d'Oncogènesis i Antitumorals de l'Institut d'Investigacions Biomèdiques de Sant Pau, a qui li he d'agrair que sempre trobés temps per a mi i que sense el seu rigor científic la realització d'aquest treball no hagués estat possible.

Al Dr. Ramon Mangues, que com a director del Grup d'Oncogènesis i Antitumorals, ha cregut en la meva feina i m'ha donat l'oportunitat d'endinsar-me en aquest món.

Al Dr. Alberto Gallardo, patòleg investigador, gràcies per la teva infinita paciència d'ajudar-me a mirar les mostres al microscopi els divendres per la tarda!

Al Dr. Ignasi Gich, per haver-me ajudat en l'anàlisi estadístic i que tot i la seva apretada agenda sempre ha tingut un moment per als meus dubtes.

A tots els adjunts, companys i amics de residència de Sant Pau, per tots els bons moments que hem passat junts, i inclús perquè els dolents han valgut la pena.

Als meus amics de sempre, per entendre les meves absències i haver-me fet costat durant tot aquest temps.

Als meus pares i germà, per la infinita paciència que han tingut amb mi i aguantar-me els meus mals humors!!! Gràcies per haver-me recolzat sempre en els meus somnis.

I al meu company de viatge, que sempre m'has fet veure el final del camí. Quina sort de compartir la vida amb tu.

SUMARI

Sumari de taules.....	Pàgina 7
Sumari de figures.....	Pàgina 8
Abreviatures.....	Pàgina 10
<u>CAPÍTOL 1. INTRODUCCIÓ.....</u>	<u>Pàgina 12</u>
1.1. CARCINOMA COLORECTAL.....	Pàgina 13
1.1.1. Epidemiologia del carcinoma colorectal.....	Pàgina 13
1.1.2. Etiologia i patogènia del carcinoma colorectal.....	Pàgina 14
1.1.2.1. Factors de risc del carcinoma colorectal.....	Pàgina 15
1.1.3. Biologia molecular en el carcinoma colorectal.....	Pàgina 17
1.1.4. Vies de disseminació metastàsica del carcinoma colorectal.....	Pàgina 19
1.1.5. Estroma tumoral i disseminació metastàsica.....	Pàgina 21
1.2. METÀSTASIS HEPÀTIQUES D'ORIGEN COLORECTAL.....	Pàgina 22
1.2.1. Tractament de les metàstasis hepàtiques de carcinoma colorectal.....	Pàgina 22
1.2.1.1. Cirurgia de resecció hepàtica per metàstasis de carcinoma colorectal.....	Pàgina 23
1.2.1.2. Lesions <i>borderline</i> per a la resecció hepàtica.....	Pàgina 24
1.2.2. Mortalitat i supervivència després de cirurgia per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.....	Pàgina 26
1.2.3. Factors de risc de recurrència després de cirurgia per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.....	Pàgina 28
1.3. ANTECEDENTS I ESTAT ACTUAL DE L'E-CADERINA EN CÀNCER COLORECTAL.....	Pàgina 30
1.3.1. Estructura i funció de l'E-caderina.....	Pàgina 30
1.3.2. Expressió de l'E-caderina i càncer.....	Pàgina 32
1.3.2.1. Pèrdua d'expressió de l'E-caderina.....	Pàgina 32
1.3.2.2. Proteòlisis de l'E-caderina.....	Pàgina 33
1.3.3. Estudis previs sobre E-caderina i carcinoma colorectal.....	Pàgina 35
1.3.4. Resultats previs en un model de ratolí de desenvolupament de metàstasis d'origen colorectal.....	Pàgina 37

<u>CAPÍTOL 2. HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS.....</u>	<u>Pàgina 44</u>
--------------------------------------------------------	------------------

<u>CAPÍTOL 3. MATERIAL I MÈTODES.....</u>	<u>Pàgina 47</u>
3.1. Disseny i població d'estudi.....	Pàgina 48
3.2. Criteris d'inclusió.....	Pàgina 48
3.3. Criteris d'exclusió.....	Pàgina 48
3.4. Protocol d'actuació.....	Pàgina 49
3.4.1. Pacients.....	Pàgina 49
3.4.2. Recollida de dades clínic-patològiques.....	Pàgina 49
3.4.3. Selecció de mostres histopatològiques de metàstasis hepàtiques de tumor primari colorectal.....	Pàgina 50
3.4.4. Anàlisis immunohistoquímic.....	Pàgina 51
3.5. Mida de la mostra.....	Pàgina 52
3.6. Anàlisis estadístic.....	Pàgina 53

<u>CAPÍTOL 4. RESULTATS.....</u>	<u>Pàgina 55</u>
4.1. Característiques clínic-patològiques dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.....	Pàgina 56
4.2. Anàlisis de la supervivència global.....	Pàgina 59
4.3. Anàlisis de la supervivència lliure de malaltia.....	Pàgina 60
4.4. Evolució i supervivència segons el patró de recurrència.....	Pàgina 60
4.5. Anàlisis estadístic bivariant i multivariant de factors pronòstics relacionats amb la supervivència.....	Pàgina 66
4.6. Anàlisis estadístic bivariant i multivariant de factors pronòstics predictius de recurrència després d'una primera cirurgia per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.....	Pàgina 69
4.7. Anàlisis estadístic de la presència d'E-caderina proteolitzada de localització nuclear en metàstasis hepàtiques de càncer colorectal.....	Pàgina 72

<u>CAPÍTOL 5. DISCUSSIÓ.....</u>	<u>Pàgina 77</u>
5.1. Supervivència, evolució i recurrència dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.	Pàgina 79
5.2. Factors clínic-patològics predictius de supervivència i recurrència dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.	Pàgina 81
5.3. Presència d'E-caderina proteolitzada nuclear com a factor pronòstic.....	Pàgina 83

<u>CAPÍTOL 6. CONCLUSIONS.....</u>	<u>Pàgina 87</u>
------------------------------------	------------------

CAPÍTOL 7. BIBLIOGRAFIA..... Pàgina 88

CAPÍTOL 8. ANNEXES..... Pàgina 99

8.1. Classificació TNM de les neoplàsies colorectals..... Pàgina 100

8.2. Estadiatge de les neoplàsies colorectals..... Pàgina 101

SUMARI DE TAULES

- Taula 1.** Histopatologia i nivells d'expressió de CK20, Snail1, E-caderina i β -catenina en tumor primari, en focus de metàstasis ganglionars i en focus de carcinomatosis peritoneal en els 3 grups clònics de carcinoma colorectal (Mock, Snail 1^{OE}, E-cadherin^{OE})..... Pàgina 40
- Taula 2.** Taxa i volum tumoral del tumor primari i dels focus metastàsics originats a partir de la implantació en ratolins *swiss nude* dels tres grups clònics de carcinoma colorectal derivats de la línia cel·lular SW480-ADH)..... Pàgina 41
- Taula 3.** Mostra final. Motius d'exclusió..... Pàgina 53
- Taula 4.** Característiques clínic-patològiques dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques de càncer colorectal..... Pàgina 57
- Taula 5.** Localització, freqüència i rescat quirúrgic de la primera recurrència després de la cirurgia de resecció de MHCCR)..... Pàgina 61
- Taula 6.** Supervivència i interval lliure de malaltia segons el patró de recurrència ($p < 0.001$), expressada en mesos [mediana (rang)].)..... Pàgina 62
- Taula 7.** Associació entre els factors clínic-patològics i l'E-caderina i la supervivència global dels 242 pacients intervinguts de MHCCR (mesurat des de la cirurgia per MHCCR fins l'estat en el darrer seguiment)..... Pàgina 67
- Taula 8.** Associació entre E-caderina nuclear i factors clínic-patològics amb l'aparició de recurrència després de cirurgia per MHCCR..... Pàgina 70

SUMARI DE FIGURES

- Figura 1.** Nombre de casos nous per any de càncer colorectal i taxes d'incidència específiques per rangs d'edat, Regne Unit, 2009-2011..... Pàgina 14
- Figura 2.** Seqüència adenoma-carcinoma en el càncer esporàdic i hereditari de colon i recte. Pàgina 18
- Figura 3.** Via molecular del carcinoma colorectal. Pàgina 19
- Figura 4.** Estratègia terapèutica quirúrgica en metàstasis hepàtiques múltiples uni i bilobars..... Pàgina 26
- Figura 5.** Diferències entre les supervivències globals dels pacients sotmesos a cirurgia de resecció hepàtica per MHCCR i els no resecats, segons dades de *LiverMetSurvey*..... Pàgina 28
- Figura 6.** Esquema que mostra la unió del complex E-caderina-catenina als filaments d'actina en les *adherents junctions*. Pàgina 31
- Figura 7.** Estructura i generació dels fragments d'E-caderina. Pàgina 34
- Figura 8.** Funcions oncogèniques dels fragments E-cad i E-cad/CTF2..... Pàgina 35
- Figura 9.** Gràfica que mostra que la supervivència acumulada és significativament superior en els *nudemice* Mock o Snail^{OE} que en *nudemice* E-cadherin^{OE}. Pàgina 42
- Figura 10.** Supervivència actuarial dels 242 pacients sotmesos a resecció quirúrgica de MHCCR. Pàgina 59
- Figura 11.** Supervivència actuarial en funció de la localització de la primera recurrència després de la cirurgia de resecció de MHCCR (1. Recidiva únicament hepàtica; 2. Recidiva únicament pulmonar; 3. Recidiva única en altra localització diferent; 4. Recidiva en múltiples localitzacions)..... Pàgina 65
- Figura 12.** Tinció hematoxilina-eosina de metàstasis hepàtiques d'adenocarcinoma de colon (A, C i E) i la corresponent tinció per immunohistoquímica per a E-caderina. En B s'observa la presència E-caderina en membrana i citosol. En les imatges D i F s'identifiquen nuclis tenyits per E-caderina (x400) Pàgina 72
- Figura 13.** Anàlisi de supervivència global (Log-rank Mantel-Cox) en pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal segons la presència o absència d'expressió d'E-caderina nuclear en les metàstasis hepàtiques..... Pàgina 74

Figura 14. Anàlisi de supervivència lliure de malaltia (Log-rank Mantel-Cox) en pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal segons la presència o absència d'expressió d'E-caderina nuclear en les metàstasis hepàtiques..... Pàgina 76

ABREVIATURES

CEA: antigen carcinoma embrionari

CAPOX: capecitabina i oxaliplatí

CHCRSP: càncer hereditari de colon i recte no polipòsic

CCR: carcinoma colorectal

DM: Diabetis Mellitus

EGFR: receptor del factor de creixement epidèrmic

EMT: transició epitelial-mesenquimal

FDG-PET: fluorodesoxiglucosa- tomografia per emissió de positrons

FLR: futur remanent hepàtic

FOLFIRI: leucovorina càlcica (àcid folínic), fluorouracil i clorhidrat d'irinotecan

FOLFOX: leucovorina càlcica (àcid folínic), fluorouracil i oxaliplatí

5-FU: 5-fluoracil

IHQ: immunohistoquímica

IQR: rang interquartil

LOH: via molecular de pèrdua de l'heterozigositat

LV: leucovorin (àcid folínic)

MII: Malaltia inflamatòria intestinal

MHCCR: metàstasis hepàtiques de carcinoma colorectal

OCMI: mètode de microinjecció cel·lular ortotòpica

PAF: poliposi adenomatosa familiar

PS-1: presenilina1

TC: tomografia computaritzada

TELV: volum total hepàtic estimat

RMN: ressonància magnètica nuclear

RER: via molecular d'error de la replicació

VEGF: factor de creixement vascular endotelial

1. INTRODUCCIÓ

1.1. CARCINOMA COLORECTAL

1.1.1. Epidemiologia del carcinoma colorectal

El càncer colorectal (CCR) representa per una banda, la segona causa de càncer a Europa, amb una incidència anual aproximada de 447.000 casos nous (13% del total de neoplàsies) i per l'altra, la tercera causa de càncer mundial, amb una incidència superior a 1.360.000 nous casos diagnosticats el 2012 (10% del total).

Tot i que existeixen grans diferències en la qualitat de vida segons la distribució geogràfica, la qual repercuteix directament sobre les dades, Austràlia i Nova Zelanda són els països que presenten una major taxa d'incidència mundial, per contra dels de l'Àfrica occidental¹.

Si ens centrem en els països de la Unió Europea, les taxes de mortalitat per càncer colorectal varien entre aquests, trobant-se la major taxa a Hongria i la menor a Xipre. Segons Von Karsa *et al*², part de les diferències en mortalitat per CCR s'expliquen per les diferències en l'estil de vida, en les mesures de prevenció o *screening* aplicades i en el tractament entre països.

La incidència del càncer colorectal està fortament relacionada amb l'edat, diagnosticant-se més del 90% dels cassos a partir dels 50 anys.

En quant a la distribució per sexes, aquesta és superior en homes a partir dels 45 anys, amb una incidència de 17:10 en els intervals d'edat dels 45 als 75 anys. (segons dades de recollides al Regne Unit entre 2009 i 2011)³.

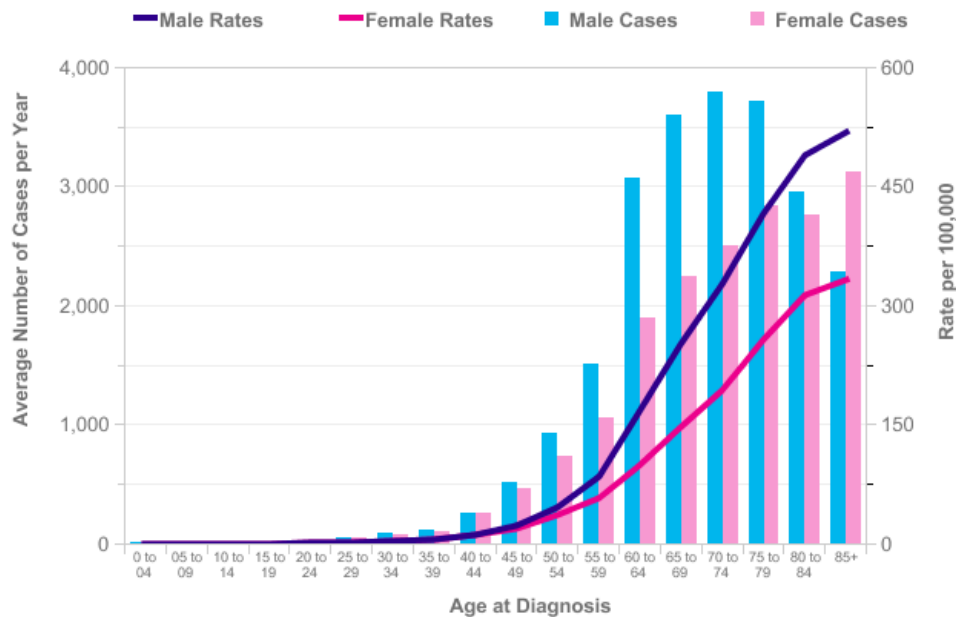


Figura 1. Nombre de casos nous per any de càncer colorectal i taxes d'incidència específiques per rangs d'edat, Regne Unit, 2009-2011³.

1.1.2. Etiologia i patogènia del carcinoma colorectal

El càncer colorectal es subdivideix en formes hereditàries, esporàdiques i familiars.

El 80% de càncers de colon i recte són esporàdics, apareixen al marge dels antecedents familiars, afecten a població major, entre els 60 i 80 anys i es manifesten gairebé sempre com una lesió única de colon o recte. Les mutacions genètiques associades al càncer es limiten al propi tumor, per contra de les formes hereditàries on la mutació específica es localitza en totes les cèl·lules de l'organisme de la persona afectada⁴.

Aproximadament del 5 al 10% de les persones que pateixen càncer colorectal presenten defectes genètics hereditaris causants de la malaltia. Aquestes formes d'origen hereditari es caracteritzen per aparició en edats més prematures i per l'associació amb d'altres tumors.

Els síndromes hereditaris es divideixen en polipòsics, essent el més freqüent la poliposis adenomatosa familiar (PAF), entre d'altres i en no polipòsics, l'anomenat càncer hereditari de colon i recte no polipòsic (CHCRSP) o Síndrome de Lynch.

La forma familiar de càncer de colon i recte es refereix al major risc associat de patir el càncer en cas de presentar un o més familiars de primer grau diagnosticats de càncer colorectal abans dels 50 anys. El risc augmenta conforme ho fa el número de familiars afectes. Tot familiar de primer grau d'un pacient diagnosticat d'un càncer colorectal abans dels 50 anys presenta un risc doble de patir aquest càncer respecte la població general, i es triplica o quadruplica si el pacient ha estat diagnosticat abans dels 45 anys o si existeix més d'un familiar de primer grau afectat⁵.

1.1.2.1. Factors de risc del carcinoma colorectal

- Edat. La probabilitat de patir un carcinoma colorectal augmenta amb l'edat, existint el pic màxim a la setena dècada de la vida. S'estima que tan sols el 5% dels pacients presenten menys de 40 anys al diagnòstic⁶.
- Antecedents personals de malaltia inflamatòria intestinal (MII). Tot i que tan sols representa de l'1 al 2% dels casos de carcinoma colorectal en la població general, s'associa al 15% de les causes de mort en pacients afectes de MII, la qual inclou la colitis ulcerosa i la malaltia de Crohn. La incidència de carcinoma colorectal en pacients amb malaltia de Crohn és de 4 a 20 vegades superior a la població general. En la MII, l'epiteli colònic es troba sotmès a una situació d'inflamació crònica amb major risc de transformació displàsica (seqüència displàsia-carcinoma)⁷.
- Diabetis mellitus (DM) tipus 2. Tot i que tant els pacients amb DM tipus 2 com els afectes de carcinoma colorectal comparteixen altres factors de risc (com l'excés de pes), després d'eliminar aquests, els pacients diagnosticats de DM tipus 2 (usualment no insulino-dependents) continuen presentant un risc augmentat de desenvolupar càncer colorectal.

- Factors relacionats amb l'estil de vida. Diversos factors relacionats amb l'estil de vida com la dieta, el pes i l'exercici físic, presenten, en realitat, una forta associació tant amb el carcinoma colorectal com amb qualsevol altre tipus de càncer. Aquests serien:
- Dieta. La població amb dietes riques en greixos saturats i proteïnes, especialment si s'associa a baixa ingesta de fibra, s'associa a major incidència de carcinoma colorectal. El mecanisme patogènic sembla ser indirecte, degut a la concentració més elevada, en aquests pacients, d'àcids biliars i colesterol en la matèria fecal, els quals estimularien la proliferació cel·lular i actuarien com a promotors de la carcinogènesis. Els aliments cuinats a molt elevades temperatures desenvolupen substàncies químiques que també contribueixen a un major risc, tot i que no es coneix exactament com actuen aquestes. Dietes amb nivells elevats d'oli d'oliva, de coco o de peix, no incrementen la incidència de CCR. Dietes riques en fruites, verdures i llavors, s'associen a un menor risc.
- Sedentarisme.
- Obesitat.
- Tabac. Presenta una relació directa amb el càncer pulmonar, però també s'associa a un major risc de desenvolupar altres neoplàsies, entre elles, el carcinoma colorectal.
- Consum elevat d'alcohol. S'associa al fet que aquests individus presenten nivells disminuïts d'àcid fòlic.
- Dèficit de calci. Segons Slattery *et al*⁸, les dietes riques en calci disminueixen el risc de desenvolupar un CCR, ja que el calci s'uneix intraluminalment, als àcids grassos i biliars, disminuint així la seva acció mitogènica.

1.1.3. Biologia molecular en carcinoma colorectal

El carcinoma colorectal es pot definir com un desordre genètic heterogeni, on es succeeixen varis esdeveniments genètics durant la seva progressió. La fase inicial comprèn una complexa i poc coneguda interrelació entre factors ambientals específics i la pròpia susceptibilitat genètica de l'hoste.

La influència dels factors ambientals en pacients afectes de carcinoma colorectal hereditari, és menor en comparació amb el poder de les mutacions genètiques.

El model descrit Fearon-Vogelstein⁹ el 1988 sobre la seqüència d'adenoma a carcinoma representa un dels models de carcinogènesis millor coneguts. Aquest es basa en la transformació seqüencial de l'epiteli colònic a focus de displàsia en les criptes, a adenoma i posteriorment, a carcinoma (Fig. 2).

Des d'aleshores han sorgit nombrosos estudis sobre les vies moleculars i genètiques relacionades amb el carcinoma colorectal. Hi participen, tant en les neoplàsies esporàdiques com en les hereditàries, gens supressors de tumors, gens reparadors dels errors de replicació de l'ADN i proto-oncogens.

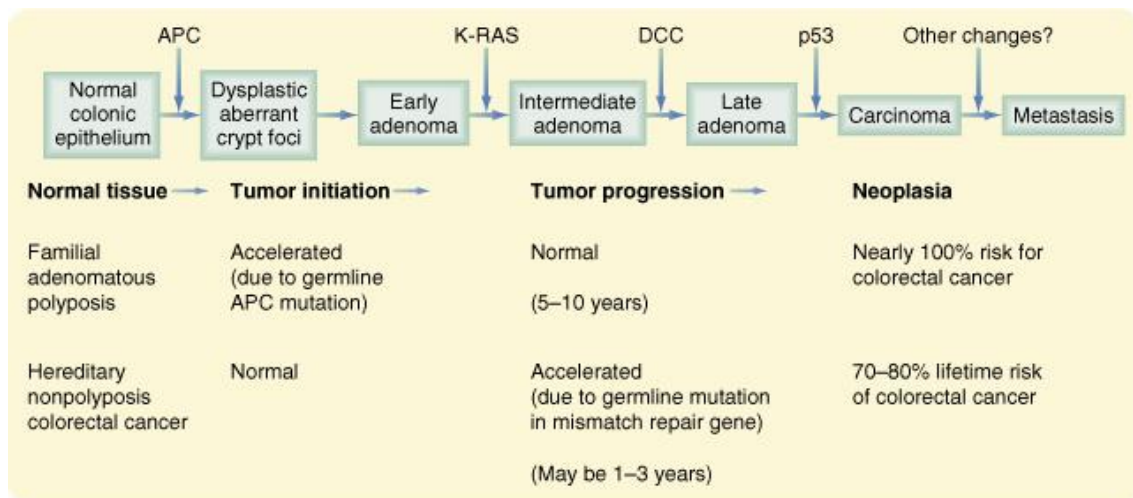


Figura 2. Seqüència adenoma-carcinoma en el càncer esporàdic i hereditari de colon i recte⁵.

En el 70-80% de les neoplàsies colòniques, la primera alteració genètica es troba en el gen de la poliposis adenomatosa del colon (*APC*), el qual és un gen supressor de tumors localitzat al cromosoma 5q21. La inactivació d'aquest gen comporta l'activació de la via molecular *LOH* (pèrdua de l'heterozigositat), en la qual participen els gens *K-ras*, *DCC* i *p53*. En pacients afectes de poliposis adenomatosa familiar, la mutació del gen *APC* es troba en la línia germinal¹⁰.

Per altra banda, aproximadament el 20% de pòlips i neoplàsies colorectals, presenten inestabilitat de micro-satèl·lits i mutacions de gens reparadors dels errors de replicació de l'ADN, i activació de la via molecular *RER* (Error de replicació)¹¹. Es troba representat en la Figura 3.

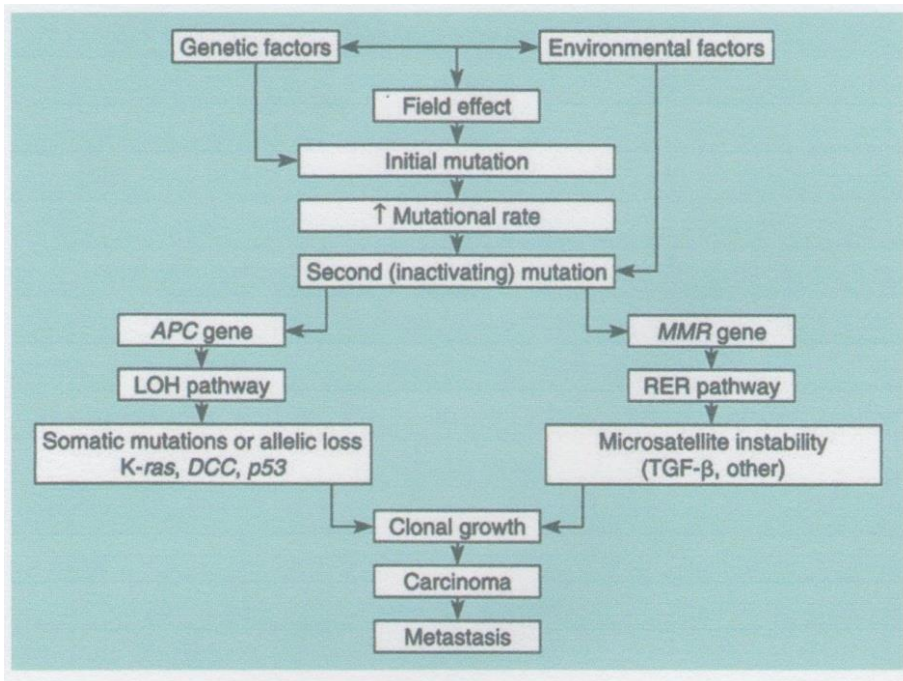


Figura 3. Via molecular del carcinoma colorectal⁴.

1.1.4. Vies de disseminació metastàsica del carcinoma colorectal

El carcinoma colorectal pot estendre's per diferents vies: continuïtat directe, extensió transperitoneal, invasió limfàtica, invasió hematògena i metastatització en altres òrgans.

- Invasió per continuïtat directa. L'extensió intramural del carcinoma colorectal es produeix més ràpidament en sentit radial a través de les diferents capes de la paret còlica que no pas en sentit axial. Aquest creixement pot donar lloc a la invasió directa per continuïtat de vísceres abdominals com estómac, nanses d'intestí prim o colon, òrgans pèlvics o la mateixa paret abdominal o bé, invasió d'estructures retroperitoneals, segons la localització del tumor primari. Segons Gutman *et al*¹², si el carcinoma penetra tot el gruix de la paret còlica, un 10% dels pacients presentaran invasió d'estructures veïnes en el moment

del diagnòstic, la qual cosa cal conèixer a l'hora de plantejar l'estratègia terapèutica.

La invasió perineural es considera un tipus d'invasió local, la qual pot arribar fins a 10cm de distància de la lesió tumoral primària.

- Invasió transperitoneal. L'extensió transmural pot continuar-se amb la invasió del peritoneu i donar lloc a una disseminació transcelòmica, podent aparèixer implants en qualsevol lloc del peritoneu o de l'epiplon. Apareixen en el 10% dels pacients diagnosticats de carcinoma colorectal¹³.
- Invasió limfàtica.
- Invasió hematògena. Les cèl·lules neoplàsiques han de tenir capacitat per envair l'endoteli vascular peritumoral, sobreviure a la circulació sanguínia i posteriorment multiplicar-se en el parènquima d'òrgans diana¹².

Factors secretats pel tumor primari tenen un paper molt important en la limfangiogènesis i en la vasculogènesis. Els tumors amb un elevat grau de vascularització s'associen a una major taxa metastàsica que els escassament vascularitzats¹⁴. Membres de la família de proteïnes de factor de creixement endotelial vascular (VEGF), VEGF-C i VEGF-D, els quals són secretats principalment pel tumor, a través de l'activació del seu receptor VEGFR-3 expressat en cèl·lules endotelials, estan implicats en la proliferació dels vasos limfàtics tumorals. En càncer colorectal, s'ha descrit una correlació entre l'expressió de VEGF-C i VEGF-D, la formació de vasos limfàtics en el tumor primari i l'aparició de metastasis en ganglis limfàtics regionals¹⁵.

Per altra banda, VEGF-A està relacionat amb la disseminació hematògena, induint la vasculogènesis a través de la unió als receptors VEGFR-1 i VEGFR-2¹⁶.

1.1.5. Estroma tumoral i disseminació metastàsica

El tumor primari està format per un microentorn complex, el qual comprèn la matriu extracel·lular (ECM) i altres tipus cel·lulars, a part de les cèl·lules tumorals. Aquestes són les cèl·lules endotelials dels vasos limfàtics i vasculars, els pericits i les cèl·lules derivades de precursors cel·lulars de la medul·la òssia com macròfags, neutròfils, mastòcits i cèl·lules mieloides, els quals deriven tots de les cèl·lules mare mesenquimals¹⁷.

La ECM és el major component del microentorn tumoral i exerceix nombroses funcions durant la progressió tumoral: sostén la proliferació i creixement de les cèl·lules tumorals; contribueix al manteniment del nucli de les cèl·lules mare tumorals (*stem cell*), el qual manté el creixement del tumor primari i afavoreix, amb la seva arquitectura, la proliferació i invasió a distància¹⁸⁻¹⁹.

Actualment existeixen diverses teories que revelen un rol actiu del microentorn tumoral en la disseminació metastàsica. Coexisteix la teoria del tropisme cel·lular, consistent en la colonització, dirigida per la cèl·lula tumoral, tan sols de determinats òrgans; amb el concepte que els òrgans implicats en les metàstasis provoquen la retenció de les cèl·lules tumorals en els capil·lars locals.

Està descrit que el tropisme sobre determinats òrgans està mediat per citoquines, quimionines i proteases produïdes pel tumor primari, les quals són les responsables de preparar el microentorn tumoral per afavorir la migració, invasió i implantació de la cèl·lula tumoral en teixits concrets²⁰.

1.2. METÀSTASIS HEPÀTIQUES DE CARCINOMA COLORECTAL

En el moment del diagnòstic, aproximadament el 25-30% dels pacients diagnosticats de CCR presentaran metàstasis hepàtiques sincròniques (estadi IV) i el 25% en desenvoluparan al llarg de l'evolució de la malaltia (metacròniques), la majoria durant els 3 primers anys del diagnòstic del tumor primari²¹⁻²².

Per altra banda, en un terç dels pacients amb CCR disseminat, el fetge és l'únic òrgan afecte, mentre que els dos terços restants de pacients presenten també metàstasis en altres localitzacions²³.

1.2.1. Tractament de les metàstasis hepàtiques de carcinoma colorectal

La resecció hepàtica amb marges sans (R0) és considerada el tractament actual capaç d'oferir una major supervivència a llarg termini als pacients afectes de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal (MHCCR).

L'estratègia terapèutica per als pacients afectes de carcinoma colorectal metastàtic ha de ser discutida per un equip multidisciplinar.

Per tal d'oferir el tractament més adequat a cada pacient, és necessària una correcta estadificació preoperatòria i disposar d'anàlisis sanguini amb hemograma, funció hepàtica i renal i CEA (antigen carcinoma embrionari); TC tòraco-abdominal i/o RM hepàtica. Davant cirurgies abdominals o toràciques majors amb intent curatiu, poden ser necessàries altres exploracions clíniques complementàries, a considerar individualment en cada pacient. En alguns casos, el FDG-PET pot aportar informació addicional en cas de lesions dubtoses. La comorbiditat i estat general del pacient són factors pronòstics importants a tenir en compte a l'hora de planejar l'actitud terapèutica a seguir²⁴.

La majoria de pacients afectes de malaltia colorectal metastàsica són irresecables d'entrada^{25,26}. Per aquest motiu és necessària una correcta selecció dels pacients, diferenciant entre els que presenten metàstasis hepàtiques d'entrada resecables d'aquells inicialment irresecables.

L'objectiu principal en aquest darrer grup, és convertir aquelles metàstasis de CCR inicialment irresecables en resecables, la qual cosa succeeix en el 15% dels casos, després de l'administració de règims de quimioteràpia sistèmica (FOLFOX, FOLFIRI, CAPOX). La introducció d'anticossos monoclonals contra el factor de creixement vascular endotelial (VEGF) i contra el receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR), bevacizumab i cetuximab respectivament, en combinació amb quimioteràpia, ha de ser considerada en casos seleccionats de pacients que presenten resposta²⁷.

1.2.1.1. Cirurgia de resecció hepàtica per metàstasis d'origen colorectal²⁸

- Es considera candidat a resecció hepàtica quirúrgica tot pacient a qui es pugui oferir una resecció de tota la malaltia hepàtica amb marges macro i microscòpics negatius (R0), sempre i quan el volum del futur remanent hepàtic (FLR) sigui funcionalment adequat. En general, la proporció entre el futur remanent hepàtic (FLR)/volum total hepàtic estimat (TELV) ha de ser superior o igual al 25% en fetges sans. En cas de fetges sotmesos a elevades dosis de quimioteràpia, aquesta taxa ha de ser del 40%²⁹.
- En cas que el pacient no es consideri mèdicament apte per a la cirurgia (inoperable), es pot considerar la teràpia ablativa.
- Pacients amb malaltia extrahepàtica que han de ser considerats per a cirurgia de resecció hepàtica serien:

1. Metàstasis pulmonars resecables.
2. Metàstasis úniques/aïllades de localitzacions extrahepàtiques (per exemple, en melsa, glàndula adrenal) o recurrència local resecable.
3. Extensió directa de la metàstasis hepàtica; per exemple, afectació diafragmàtica/adrenal que pugui ser ressecada.

(Evidència IV; Força de recomanació D)

- Les contraindicacions per a la resecció hepàtica inclouen la malaltia extrahepàtica no controlable, com:
 1. Tumor primari no tractable.
 2. Disseminació pulmonar generalitzada.
 3. Carcinomatosis peritoneal.
 4. Extensa afectació ganglionar com retroperitoneal, mediastínica o portal.
 5. Metàstasis òssies o del sistema nerviós central.

(Evidència II; Força de recomanació B)

1.2.1.2. Lesions *borderline* per a la resecció hepàtica

Es tracta de casos seleccionats que, abans de desestimar-se per a tractament quimioteràpic sistèmic pal·liatiu, han de ser avaluats en una Unitat Hepatobiliar, ja que actualment existeixen estratègies terapèutiques per a intentar augmentar el futur remanent hepàtic i conseqüentment, la resecabilitat i/o possibilitats d'ablació hepàtica de metàstasis hepàtiques inicialment no resecables.

Aquestes tècniques són:

- Embolització portal. Comporta la hipertròfia compensatòria del fetge contralateral. En cas de disposar d'un futur remanent hepàtic insuficient, la utilització d'aquesta tècnica abans de la cirurgia permetria prevenir una insuficiència hepàtica postoperatòria.
- Hepatectomia en dos temps. En cas de casos molt seleccionats de lesions hepàtiques múltiples bilaterals. El primer temps consisteix en realitzar una “neteja” de totes les lesions del lòbul menys afectat i seguidament, realitzar una lligadura o embolització de la branca portal contralateral, per tal d'obtenir una hipertròfia del lòbul “netejat”. Després d'un temps variable, en funció de l'evolució i la hipertròfia aconseguida, es programa la segona hepatectomia, la qual consisteix en la resecció completa del lòbul hepàtic encara no tractat, el qual contenia la lesió o lesions majors.
- Cirurgia hepàtica extrema. Fa referència a diferents tècniques per a reseccions de lesions hepàtiques que infiltrin el sistema vascular, incloent resecció i reconstrucció de la vena porta o de l'artèria hepàtica. També s'ha realitzat en casos seleccionats, resecció de tumors que inclouen la vena cava inferior o les tres venes suprahepàtiques, utilitzant en aquests casos tècniques d'exclusió vascular total hepàtica, perfusió hipotèrmica *in situ* o resecció hepàtica *ex vivo* (cirurgia de banc)³⁰.

(Evidència IV; Força de recomanació D)

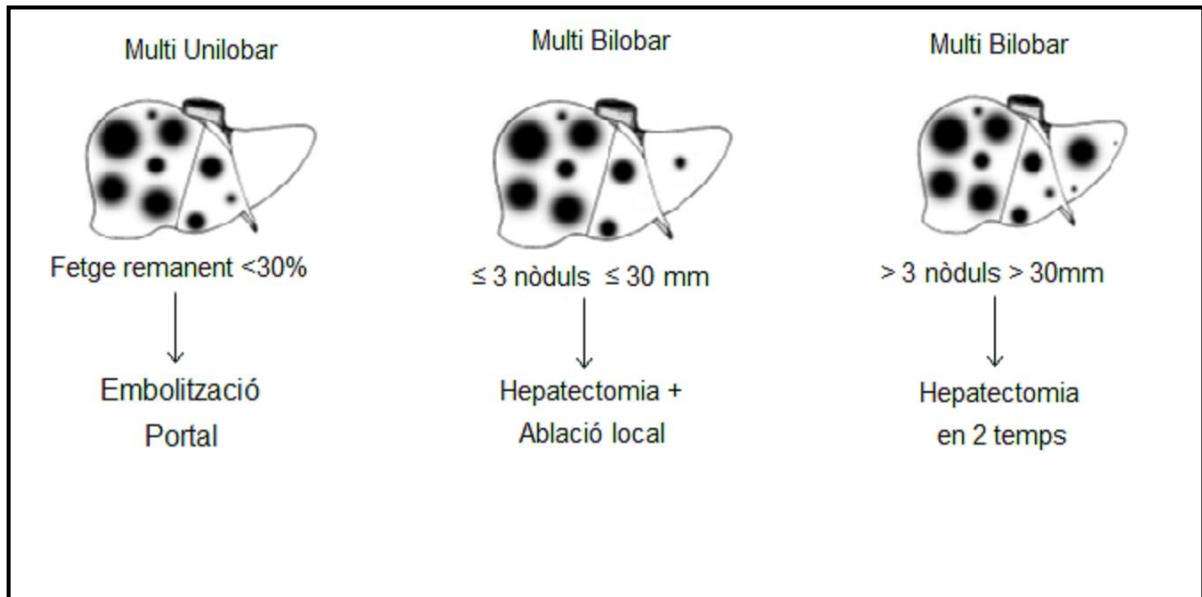


Figura 4. Estratègia terapèutica quirúrgica en metàstasis hepàtiques múltiples uni i bilobars²⁶.

1.2.2. Mortalitat i supervivència després de cirurgia per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal

La cirurgia de resecció hepàtica és l'únic tractament que ofereix en l'actualitat, la perspectiva de supervivència a llarg termini, motiu pel qual és la primera estratègia terapèutica a considerar.

Segons diferents sèries, la mortalitat en una cirurgia de resecció de MHCCR varia entre el 0 i el 3,7%, mentre que la morbiditat postoperatòria oscil·la entre el 15 i el 46%³¹.

Les noves pautes de quimioteràpia perioperatòria introduïdes durant la darrera dècada, han contribuït a una milloria de la mediana de supervivència en els pacients afectes de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal. L'associació del tractament clàssic constituït per 5-fluorouracil (5-FU) i leucovorin (LV) amb

irinotecan o oxalipatí comporta una resposta tumoral en el 40-50% dels pacients³²⁻³³.

En pacients amb metàstasis hepàtiques resecables, la tasa de supervivència als 5 anys és del 25 al 40% segons les sèries, podent arribar al 58% amb l'ús de quimioteràpia perioperatòria³⁴. La supervivència als 10 anys és del 20-25%³⁵.

Igualment, la quimioteràpia perioperatòria millora la supervivència lliure de malaltia entre el 7 i el 8% als 3 anys.

Malgrat aquestes estratègies terapèutiques, entre el 60 i 85% dels pacients presentaran recurrència de la malaltia durant els 2 següents anys de la resecció de les metàstasis hepàtiques, essent el fetge i el pulmó els llocs de recurrència més freqüents³⁶.

Per altra banda, sense tractament, la mediana de supervivència dels pacients afectes de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal és de 6 a 8 mesos, segons l'extensió de la malaltia, essent de millor pronòstic aquells que presenten metàstasis localitzades en un únic lòbul hepàtic o un menor nombre de lesions³⁷.

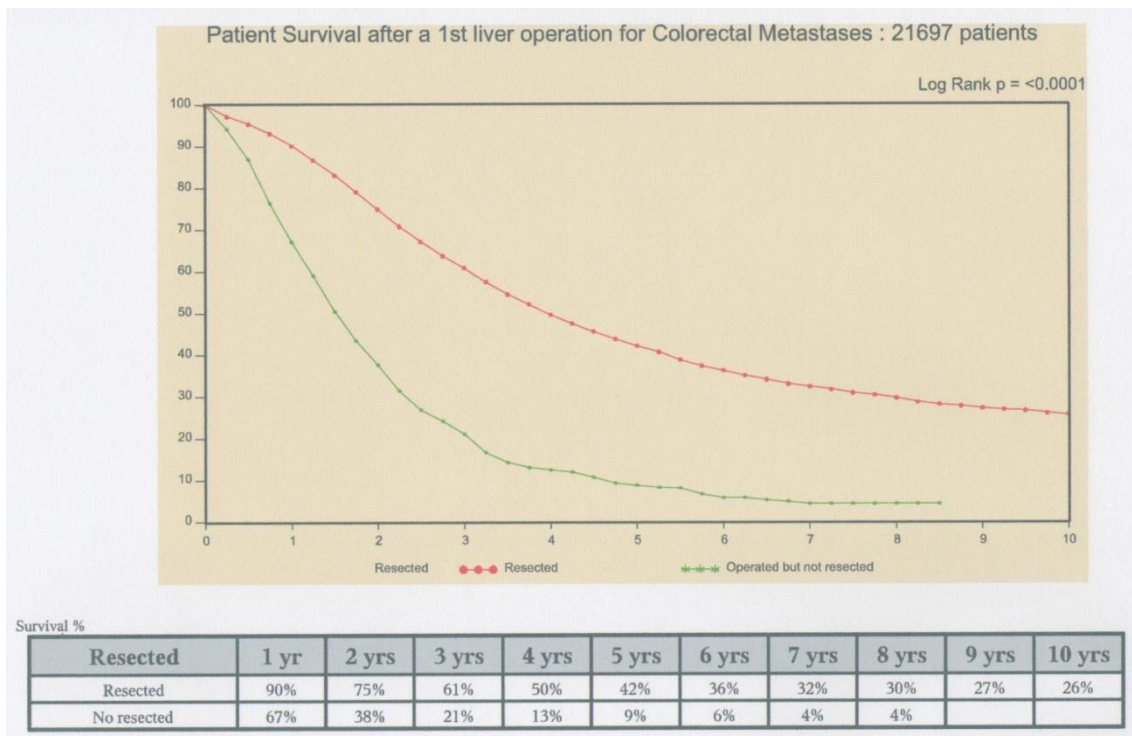


Figura 5. Diferències entre les supervivències globals dels pacients sotmesos a cirurgia de resecció hepàtica per MHCCR i els no resecats, segons dades de *LiverMetSurvey*³⁸.

1.2.3. Factors de risc de recurrència després de cirurgia per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal

Tal i com s'ha mencionat prèviament, l'hepatectomia, associada a quimioteràpia perioperatòria, és el tractament indicat pels pacients afectes de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal resecables.

Tot i així, més de la tercera part d'aquests presentaran, posteriorment, recurrència de la malaltia, ja sigui novament de localització hepàtica o extrahepàtica i en la majoria dels casos, aquesta serà la causa de la seva mort.

Els factors que normalment solen analitzar-se com a predictius de recurrència es divideixen en: variables demogràfiques (edat i sexe); variables relacionades amb el tumor primari; variables relacionades amb les metàstasis hepàtiques; la supervivència lliure de malaltia, considerada com el temps des del tractament del tumor colònic primari al diagnòstic de les metàstasis hepàtiques colorectals; valor del CEA abans de l'hepatectomia; ús de quimioteràpia neoadjuvant, entre d'altres.

Cal destacar una revisió realitzada per Gregoire *et al*³⁹, el qual pretén determinar la utilitat en la pràctica clínica actual dels diversos *scores* pronòstics publicats en relació amb els pacients intervinguts de MHCCR. Després de la recerca en *Medline* i *Embase* segons els criteris establerts, analitza sis *scores* i catorze factors pronòstics i finalment en determina la seva inconsistència, ja que existeix una elevada discordança entre els factors clínic-patològics que són estadísticament significatius en cada model predictiu. Aquest conclou, igualment, que és necessari l'estudi de factors moleculars per a entendre millor el pronòstic d'aquests pacients.

Per altra banda, cal esmentar el registre prospectiu internacional de pacients intervinguts de MHCCR (*LiverMetSurvey*³⁸), el qual segons els darrers indicadors del desembre de 2013 té recollides les dades de 22308 pacients. El seu objectiu final és analitzar els resultats en termes de supervivència d'aquests pacients per tal d'elaborar unes guies clíniques òptimes.

De totes les dades recollides i analitzades fins aquesta data, cal esmentar que resultaven estadísticament significatius els següents factors: número de lesions hepàtiques (<3 o ≥3); metàstasis sincròniques o metacròniques; lesions uni o bilaterals; tipus de cirurgia hepàtica (limitada a <3 segments o major); administració de quimioteràpia neoadjuvant.

1.3. ANTECEDENTS I ESTAT ACTUAL DE L' E-CADERINA EN CÀNCER COLORECTAL

La mateixa pràctica clínica posa de manifest que l'actual sistema d'estadiatge del carcinoma colorectal (TNM)⁴⁰ i les característiques clínic-patològiques utilitzades per a indicar el tractament adequat de cada pacient, no són suficients per a identificar els casos de pitjor pronòstic, els quals presentaran durant la seva evolució, unes supervivències lliure de malaltia i global disminuïdes. Per aquest motiu és necessari l'estudi de factors genètics i moleculars que aportin informació addicional al sistema d'estadiatge usat actualment i permetin identificar aquell subgrup de pacients de mal pronòstic, amb un major risc de presentar recurrència de la malaltia i, consegüentment, menor supervivència global.

Durant la darrera dècada, varis estudis han revelat que la desregulació de molècules d'adhesió intercel·lular com les caderines s'associa a invasió cel·lular, angiogènesis i progressió metastàsica⁴¹. La relació entre la disfunció de l'E-caderina i la progressió cancerígena ha estat demostrada tant en estudis *in vitro* com *in vivo*. Igualment, la implicació clínica de la deficiència en el funcionament de l'E-caderina ha estat confirmada per immunohistoquímica en diverses neoplàsies humanes⁴².

1.3.1. Estructura i funció de l'E-caderina

L'E-caderina humana és una glicoproteïna transmembrana tipus-I de 120-kDa codificada en el cromosoma 16q22.1 (gen CDH1). Es troba localitzada en les unions adherents (*adherents junctions*) i en la membrana basolateral de les cèl·lules epitelials. Està formada per tres dominis, extracel·lular, transmembrana i citoplasmàtic.

El domini extracel·lular està constituït per cinc tàndems de seqüències repetides de 100 aminoàcids (EC1-EC5) units entre ells per ions de calci. El fragment EC1 està implicat en les interaccions homofílques entre les caderines de les cèl·lules adjacents (*trans*-interaction) i entre les caderines de la mateixa cèl·lula per unions laterals (*cis*-interaction). Això comporta una forta estructura d'adhesió entre les cèl·lules veïnes.

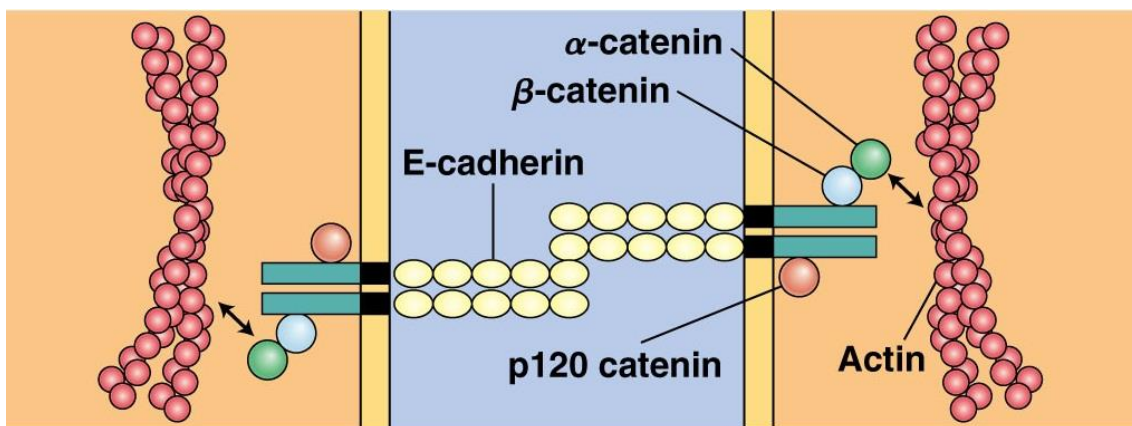


Figura 6. Esquema que mostra la unió del complex E-caderina-catenina als filaments d'actina en les *adherents junctions*⁵⁰.

El domini citoplasmàtic interacciona per a formar el complex caderina-catenina (β , γ i δ -catenina), unit a través de filaments d'actina al citoesquelet cel·lular (Fig. 6). Les unions d'aquests complexes en les *adherents junctions* mantenen espais intercel·lulars inferiors a 25nm i participen en funcions d'adhesió i d'activació de senyals intracel·lulars. Per una banda, impedeixen la motilitat individual de les cèl·lules epitelials (inhibició de la motilitat per contacte); per altra, l'estructura epitelial constituïda, confereix una barrera per a la difusió passiva de soluts entre els espais luminal i intersticial i, finalment, inhibeix la proliferació a través del bloqueig de la via de senyalització del factor de creixement (inhibició del creixement per contacte), mantenint d'aquesta manera, la integritat i funcionalitat tissular⁴³⁻⁴⁴.

En resum, es pot dir que l'E-caderina actua com un gen supressor tumoral, el qual manté la integritat epitelial i inhibeix la migració i la invasió cel·lular⁴⁵.

1.3.2. Expressió d'E-caderina i càncer

1.3.2.1. Pèrdua d'expressió d'E-caderina

Per contra de les cèl·lules epitelials de les qual deriven, les cèl·lules del carcinoma no presenten inhibició per contacte de la motilitat ni del creixement i, es caracteritzen per la capacitat d'alliberar-se del tumor primari i migrar a distància a altres localitzacions.

La pèrdua de funció de l'E-caderina és una alteració freqüent que es dona durant la carcinogènesis, i pot produir-se per diferents mecanismes (repressió de la transcripció, inactivació, mutació, endocitosis, proteòlisis). Aquesta capacitat metastàsica es produeix per la pèrdua progressiva de les característiques de les cèl·lules epitelials, les quals adopten progressivament un fenotip tipus mesenquimal en un procés conegut com a transició epitelial-mesenquimal (EMT). Aquestes alteracions fenotípiques comporten tant un trencament de la integritat tissular com un augment de la motilitat i capacitat d'invasió i disseminació hematògena⁴⁶⁻⁴⁷.

La pèrdua de la proteïna epitelial E-caderina s'ha demostrat a través de tècniques d'immunohistoquímica en diferents càncers: carcinoma escamós de cap/coll i esòfag, carcinoma de tiroides, lobulillar de mama, pròstata, pulmó, cèrvix uterí, endometri, colon, pàncrees i carcinoma gàstric difús⁴⁸.

Malgrat aquesta creença més dominant basada en la transició epitelial-mesenquimal (EMT) com a procés clau per a la progressió metastàsica, existeixen tumors invasius que mantenen E-caderina positiva com a marcador epitelial. Així, pot citar-se un estudi realitzat per Putzke AP *et al*⁴⁹ en el qual s'observà una elevada expressió d'E-caderina en càncer de pròstata metastàsic de mal pronòstic.

Això fa pensar que el procés EMT és polifacètic i progressiu i que les cèl·lules tumorals poden patir una transició parcial mantenint encara característiques típiques epitelials com l'E-caderina. En aquest sentit, s'ha demostrat que existeixen altres mecanismes pels quals aquesta proteïna contribueix al desenvolupament tumoral, com podria ser la proteòlisis de proteïnes de membrana i alliberació de fragments amb propietats oncogèniques⁴⁶.

1.3.2.2. Proteòlisis de l'E-caderina

La proteòlisis transmembrana de l'E-caderina es produeix en primer lloc per diverses metaloproteïnasses extracel·lulars (MMP-3, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, ADAM10, ADAM15, plasmina, kallikrein7). Aquest procés converteix l'E-caderina en un fragment extracel·lular N-terminal de 80-kDa i un fragment intracel·lular C-terminal de 38-kDa (E-cad/CTF-1).

El fragment extracel·lular, anomenat E-caderina soluble, és alliberat de la membrana a l'espai extracel·lular i inclús passa a la circulació sanguínia amb funcions autocrines i paracrines.

El complex γ -secretassa (presenilina-1/2) actua a la part intracel·lular de la membrana, proteolitza la E-cad/CTF-1 i dóna lloc a un altre fragment anomenat E-cad/CTF-2 de 33-kDa, el qual s'allibera al citosol i posseeix la capacitat de desencadenar senyals intracel·lulars. La caspasa-3 pot proteolitzar aquest fragment en la E-cad/CTF-3 de 29-kDa, però les funcions d'aquest són encara desconegudes⁵⁰.

La proteòlisis intracel·lular de l'E-caderina provoca l'escissió del complex caderina-catenina, donant lloc, entre d'altres, a β -catenina i p120-catenina. La β -catenina alliberada constitueix un potencial oncogen a través de l'activació de la via de senyalització Wnt/ β -catenina. Existeixen estudis que sustenten que l'activació d'aquesta via comporta una ràpida proliferació tumoral, així com un augment de la supervivència cel·lular⁵¹.

A més, es coneix que la via de senyalització Wnt/ β -catenina està involucrada en la regeneració de les cèl·lules mare, la qual suggereix que aquest procés comporta l'adquisició d'una cèl·lula mare de fenotip cancerígen⁵².

Els estudis *in vitro* revelen que les proteïnes p120-catenina i kaiso, un repressor transcripcional, interaccionen amb E-cad/CTF-2⁵¹. En el nucli, aquest fragment d'E-caderina regula el complex p120-kaiso i la transcripció dels gens diana de kaiso, com la ciclina D1, la qual cosa indueix creixement tumoral i invasió cel·lular. S'ha demostrat en el carcinoma escamós esofàgic⁵³.

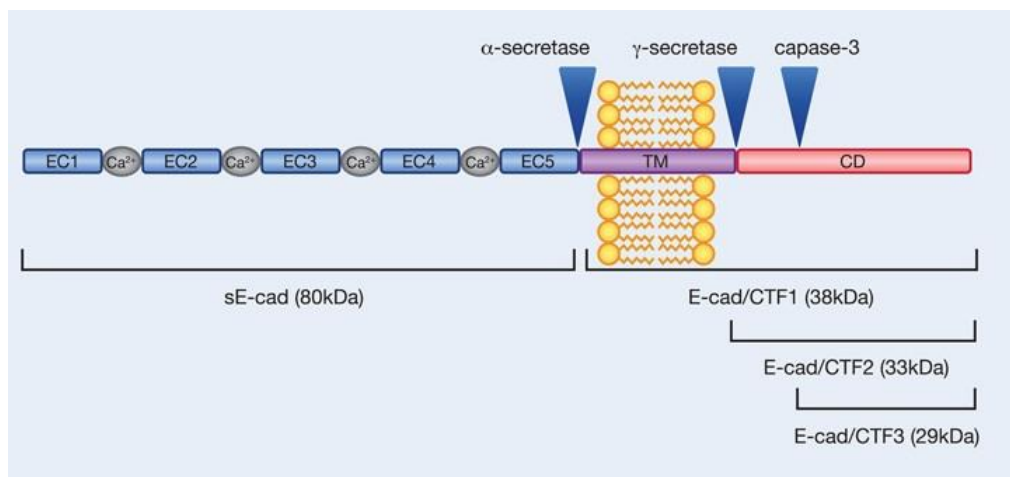


Figura 7. Estructura i generació dels fragments d'E-caderina⁵⁰.

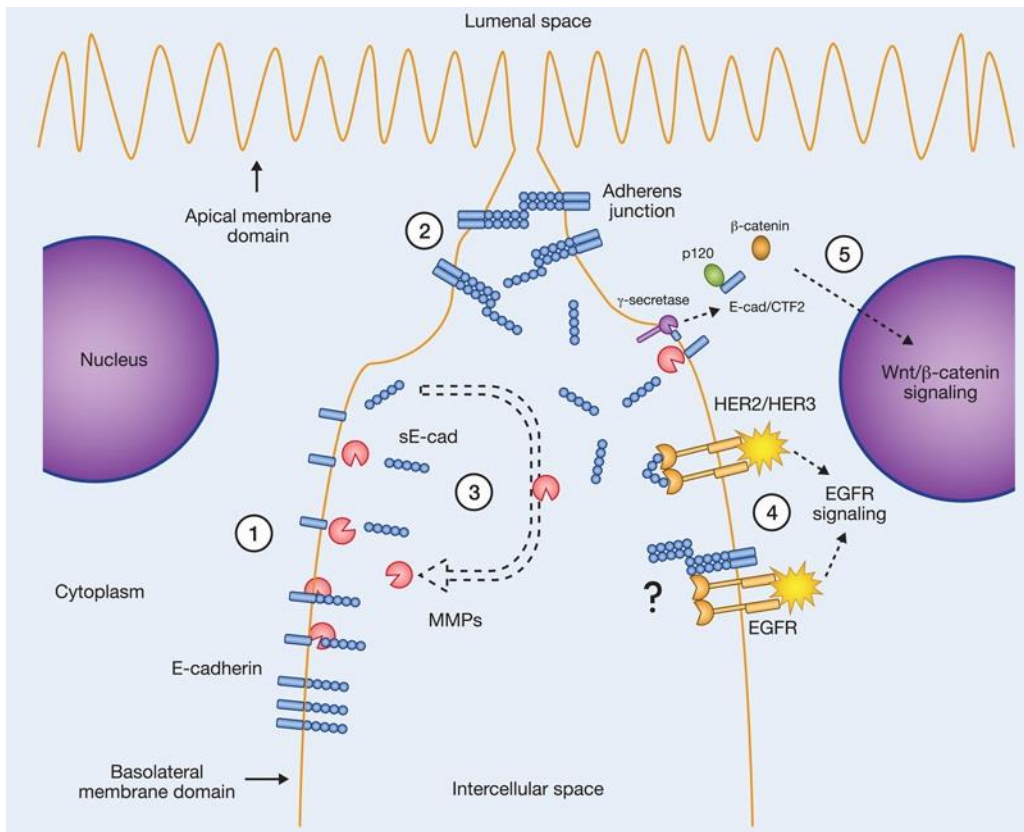


Figura 8. Funcions oncogèniques dels fragments E-cad i E-cad/CTF2⁵⁰.

1.3.3. Estudis previs sobre E-caderina i carcinoma colorectal

Perk AK *et al*⁵⁴ el 1998 ja demostrà en un model experimental de ratolí, que la pèrdua d'expressió d'E-caderina s'associava a la transició d'adenoma ben diferenciat a carcinoma invasiu.

Dorudi S *et al*⁵⁵ analitzà l'expressió d'E-caderina en 72 mostres de carcinoma colorectal humà i en els seus corresponents ganglis limfàtics infiltrats. Conclouen que la supressió de l'activitat de l'E-caderina es relaciona amb tumors més desdiferenciats i amb l'aparició de metàstasis ganglionars.

Igualment, Mohri *et al*⁵⁶ (1997) va analitzar l'expressió d'E-caderina per immunohistoquímica en mostres de 100 pacients intervinguts de càncer de colon. L'estudi mostrà una associació estadísticament significativa entre una menor tinció d'E-caderina en membrana i major recurrència, menor supervivència lliure de malaltia i menor supervivència global.

Elzagheid *et al*⁵⁷ (2006) estudià, mitjançant tècniques d'immunohistoquímica, els nivells d'expressió en membrana i en citoplasma d'E-caderina en mostres de tumor primari colorectal i de metàstasis d'una sèrie de 42 pacients. Observaren que els tumors primaris presentaven una major taxa d'expressió d'E-caderina en membrana que les metàstasis ($p=0.0001$), mentre que el nivell d'expressió citoplasmàtica no diferia en ambdós grups. Aquesta troballa s'interpretà com que la capacitat de metastatitzar s'associa a una pèrdua de l'expressió d'E-caderina en membrana.

Aquest mateix grup publicaren un estudi el 2012 realitzat en una sèrie de mostres de 230 pacients afectes de CCR estadis I a IV, on analitzaren l'expressió d'E-caderina i la seva correlació amb factors clínic-patològics. En l'anàlisi multivariat, la pèrdua d'expressió d'E-caderina constitueix un factor de risc independent predictor de recurrència (menor supervivència lliure de malaltia), amb una $p=0.043$. Realitzen igualment l'anàlisi en el subgrup de pacients d'estadi II, en els quals aquesta pèrdua d'E-caderina s'associa tant a menor supervivència global ($p<0.04$) com a una menor supervivència lliure de malaltia ($p<0.01$)⁵⁸.

1.3.4. Resultats previs en un model de ratolí de desenvolupament de metàstasis d'origen colorectal

Dins de l'Institut d'Investigacions Biomèdiques de l'Hospital de Sant Pau, concretament el Grup d'Oncogènesis i Antitumorals (GOA) i amb la col·laboració del servei de Cirurgia General i Digestiva, s'ha estudiat un nou paper de l'E-caderina en tumorogènesis i metàstasis en el càncer colorectal. S'ha descrit una nova funció oncogènica que, conjuntament amb el seu paper àmpliament conegut de supressor tumoral, aporta un nou mecanisme per a entendre el procés tumoral i la capacitat de disseminació metastàsica.

Experimentalment, Céspedes *et al*⁵⁹, per contra d'altres models experimentals de càncer colorectal metastàsic descrits fins ara, obtingueren un model animal pel desenvolupament de metàstasis de carcinoma colorectal el qual aconseguí reproduir el lloc i patró de disseminació metastàsica observats en humans afectes de càncer colorectal.

Aquest model consisteix en la microinjecció ortotòpica directa de cèl·lules humanes de càncer colorectal entre la mucosa i la *muscularis pròpia* de la paret del cec de ratolins *swiss nude* immunodeprimits utilitzant una micropipeta amb l'ajuda de visió binocular. Realitzant aquest procés es compararen 3 línies diferents de càncer colorectal humà (HCT-116, SW-620 i DLD-1) i s'avaluaren, de cadascuna, la taxa de creixement tumoral local, el patró i velocitat de disseminació i la taxa de supervivència.

Es creà un sistema d'estadiatge tumoral:

- Estadi I corresponent a creixement tumoral únicament local.
- Estadi II constituït per estadi I més carcinomatosis peritoneal (focus tumorals en peritoneu parietal, diafragma, peritoneu visceral del tracte digestiu o hepàtic).

- Estadi III format per estadi I i/o II més infiltració ganglionar mesentèrica o focus pancreàtics (ja que el pàncrees de ratolí és intraperitoneal).
- Estadi IV està format per l'estadi I, II o III més metàstasis hepàtiques i/o pulmonars.

Així doncs, tot i diferències en l'estat mutacional de les cèl·lules, el mètode de microinjecció ortotòpica cel·lular (OCMI) replica el patró de disseminació observat en la pràctica clínica: infiltració de les cèl·lules tumorals dels vasos limfàtics de la paret colònica i conseqüent disseminació al territori ganglionar mesentèric i, posteriorment, aparició de metàstasis hepàtiques i pulmonars a través de disseminació hematògena. Igualment, s'observà l'aparició de focus tumorals peritoneals.

El 2010, el mateix grup publicà un segon estudi en que utilitzava aquest model experimental anteriorment descrit, per a l'estudi del paper de l'expressió de les proteïnes E-caderina i Snail1 (repressor d'E-caderina) en tumorigènesis i disseminació metastàsica de càncer colorectal⁶⁰.

Per a realitzar l'estudi, s'utilitzaren cèl·lules humanes de càncer colorectal SW480-ADH. S'usà aquesta línia cel·lular perquè expressen baixos nivells d'E-caderina i d'Snail1. Es generaren 3 grups clònics d'aquestes cèl·lules: grup 1 a les quals es transferí un vector buit (Mock); grup 2 a les quals es transferí un vector DNA per a la sobreexpressió d'E-caderina (E-cadherin^{OE}); grup 3 caracteritzades per sobreexpressió de Snail1 (Snail1^{OE}).

Es procedí a la microinjecció ortotòpica d'aquestes cèl·lules en la paret del cec de ratolins *swiss nude* segons la tècnica anteriorment descrita. S'analitzà en cada grup: el creixement tumoral local, el patró de disseminació i l'expressió tant en el tumor local com en els focus metastàsics de Snail1, E-cadherina, β -catenina i Presenilina1 (PS1). Cal destacar que en aquest estudi s'observà infiltració ganglionar mesentèrica i focus de carcinomatosis peritoneal, però no s'objectivaren metàstasis hepàtiques ni pulmonars en cap dels ratolins.

Anàlisi histopatològic: Les cèl·lules amb sobreexpressió d'Snail1 (Snail1^{OE}), la qual cosa comporta per definició una disminució de l'expressió d'E-caderina (Snail1 és un repressor E-caderina), presenten un fenotip mesenquimal (elevats nivells de marcadors mesenquimals com LEF1 i fibronectina), mentre que les cèl·lules E-cadherin^{OE} es caracteritzen per un fenotip epitelial amb reduïts nivells de marcadors mesenquimals. Les cèl·lules Mock presenten un fenotip intermedi. D'acord amb aquestes característiques, tant el tumor primari com els focus metastàsics de les cèl·lules E-cadherin^{OE} eren carcinomes ben diferenciats. Per contra, el tumor local i els ganglis infiltrats originats a partir de les cèl·lules Snail1^{OE}, eren indiferenciats (taula 1).

Taula 1. Histopatologia i nivells d'expressió de CK20, Snail1, E-Cadherina i β -Catenina en el tumor primari, en els focus de metàstasis ganglionars i en els focus de carcinomatosis peritoneal dels 3 grups clònics de carcinoma colorectal (Mock, Snail 1^{OE}, E-cadherin^{OE})⁶⁰.

SW480 infected cells	Local tumor growth				
	Local tumor volume (cm ³)	PAS tincion	Histological grade	β - catenin staining	E- cadherin staining
SW480- Mock	0.05 \pm 0.02	-	Poorly diff.	++ cit.	+/- mb
SW480- Snail	0.13 \pm 0.03	-	Un-Diff.	+++ cit/nu	-
SW480- Snail+E-cad	0.08 \pm 0.02	+	Well-diff.	+/- cit.	+/- cit/mb

SW480 infected cells	lymphatic secondary tumor foci			
	PAS tincion	Histological grade	β - catenin staining	E- cadherin staining
SW480- Mock	-	Poorly diff.	-	-
SW480- Snail	-	Un-Diff.	+++ cit/nu	-
SW480- Snail+E-cad	+	Well-diff.	+/- cit.	+/- cit/mb

SW480 infected cells	Peritoneal secondary tumor foci				
	Peritoneal tumor volume (cm ³)	PAS tincion	Histological grade	β -catenin staining	E- cadherin staining
SW480- Mock	0.9 \pm 0.5	-	Poorly diff.	+++ cit/nu	++ mb
SW480- Snail+E-cad	3.60 \pm 0.4*	+	Well-diff	+/- cit.	+++ cit/nu/mb

Pel que fa als resultats, no s'observaren, en els grups, diferències significatives en el volum tumoral local ($p=0.063$) ni en la taxa d'infiltració ganglionar mesentèrica. Per contra, sí s'observaren diferències significatives en la taxa de disseminació peritoneal ($p=0.034$). Cap ratolí amb tumor colònic format a partir de cèl·lules Snail1^{OE} presentaren focus de disseminació peritoneal, mentre que el 100% dels ratolins E-cadherin^{OE} generaren metàstasis peritoneals (taula 2). Així doncs, es pot dir que l'expressió d'E-caderina és necessària pel desenvolupament de carcinomatosis peritoneal.

Group	Mice (n)	Local tumor		Secondary tumor foci		
		Take rate (†) (%)	Tumor volume (cm ³)	Lymph node (†) (%)	Peritoneum (†) (%)	Peritoneal foci volume (cm ³)
Mock	8	5/8 (63)	0.05 ± 0.02 [‡]	2/5 (40)	2/5 (40) [§]	0.9 ± 0.5
Snail1 ^{OE}	8	7/8 (88)	0.13 ± 0.03 [‡]	4/7 (47)	0/7 (0) [¶]	—
E-cadherin ^{OE}	8	5/8 (63)	0.08 ± 0.02 [‡]	2/5 (40)	5/5 (100) ^{§,¶}	3.6 ± 0.4

Taula 2. Taxa i volum tumoral del tumor primari i dels focus metastàsics originats a partir de la implantació en ratolins swiss *nude* dels tres grups clònics de carcinoma colorectal derivats de la línia cel·lular SW480-ADH⁶⁰.

En segon lloc, en els focus de carcinomatosis peritoneal de les cèl·lules E-cadherin^{OE} s'objectivà un increment d'E-caderina proteolitzada i translocada al nucli i augment dels nivells de la proteïna proteolítica PS1. Igualment aquest grup E-cadherin^{OE}, en comparació amb el de cèl·lules Mock o Snail^{OE}, s'associà a un augment del creixement tumoral total ($p < 0.01$) i menor supervivència dels *nudemice* ($p = 0.01$) (Fig. 9).

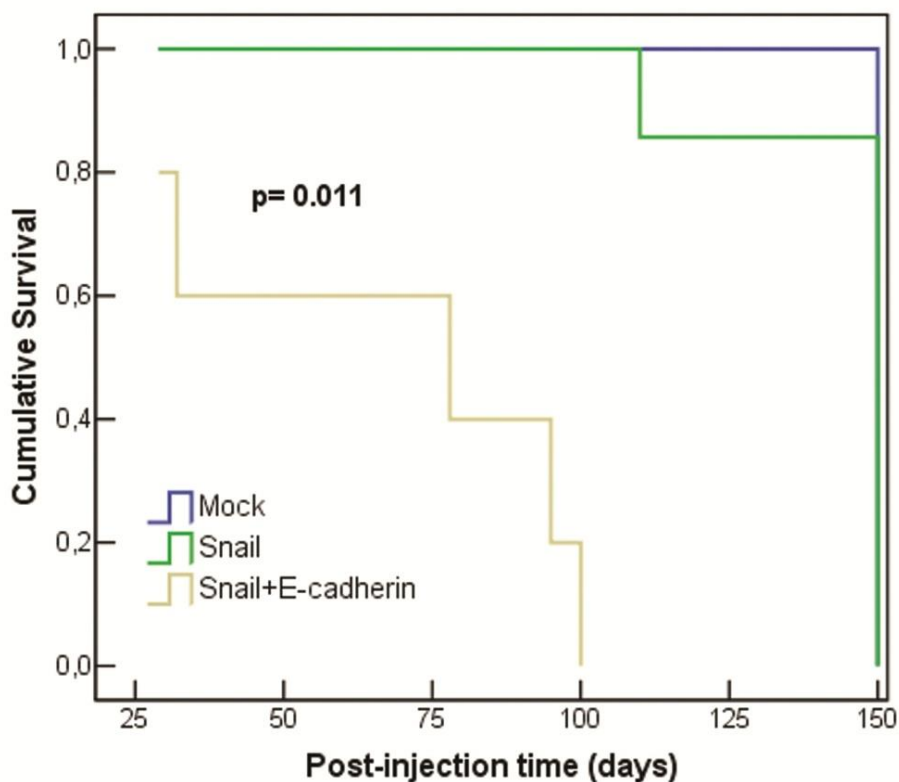


Figura 9. Gràfica que mostra que la supervivència acumulada és significativament superior en els *nudemice* Mock o Snail^{OE} que en *nudemice* E-cadherin^{OE} 60.

Com a conclusió de l'estudi, es pot dir que la sobreexpressió d'E-caderina ha posat de manifest una funció oncogènica associada a proteòlisis, translocació nuclear i desplaçament de β -catenina del nucli, la qual comporta major agressivitat i augment del volum tumoral, tot i que exclusivament en les

metàstasis peritoneals i no en d'altres localitzacions, com en el tumor primari o en les metàstasis ganglionars.

Així, es proposa que la proteïna E-caderina pot jugar un paper com a supressor tumoral o bé oncogènic en el carcinoma colorectal segons el grau de proteòlisis, el qual podria dependre del medi/entorn tumoral. Es postula que aquest varia segons l'òrgan infiltrat i condiciona l'activitat proteolítica de la PS1. Això explicaria les diferències de proporció d'E-caderina nuclear observades en el tumor primari colònic, en les adenopaties mesentèriques i en els focus de carcinomatosis peritoneal.

Aquesta troballa experimental dóna peu al present estudi, el qual pretén avaluar el valor de l'expressió d'E-caderina en mostres clíniques humanes de càncer colorectal metastàtic. Cal destacar però, que actualment els pacients amb carcinomatosis peritoneal es consideren pal·liatius i no són candidats a una intervenció quirúrgica sistemàtica, motiu pel qual no es disposa de mostres clíniques d'implants peritoneals amb un número estadísticament suficient per a ser analitzades. D'acord amb aquesta premissa i el fet que en l'evolució clínica natural del càncer colorectal, la localització hepàtica constitueix el primer lloc de disseminació, es va decidir que l'estudi d'expressió d'E-caderina es realitzaria en mostres humanes de metàstasis hepàtiques de tumor primari colorectal.

2. HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS

2. HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS

Els factors clínic-patològics relacionats amb el tumor primari colorectal i amb les seves metàstasis constitueixen actualment les variables més estudiades relacionades amb el pronòstic dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal, tant pel que fa a supervivència lliure de malaltia com a supervivència global.

Així, en el present estudi, analitzarem els factors clínic-patològics associats a supervivència i recurrència de malaltia després d'una cirurgia de resecció hepàtica per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal. Igualment, donada la seva rellevància, es determinarà l'evolució clínica dels pacients en funció del patró de recurrència

Per altra banda, la revisió prèvia de diverses publicacions realitzades en aquesta línia, ens ha dut a la conclusió de la necessitat d'incloure l'estudi de factors biològics i moleculars que ens ajudin a comprendre el perquè de les diferències evolutives entre pacients que presenten un estadiatge similar de la malaltia. Així, a part d'avaluar els factors clínics del pacient i anatomopatològics de l'especimen quirúrgic, estudiarem l'expressió d'E-caderina en el nucli cel·lular.

Basant-nos en la literatura i en els resultats experimentals previs del grup Grup d'Oncogènesis i Antitumorals (GOA) de l'Institut d'Investigacions Biomèdiques de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, es proposa que l'E-caderina pot tenir una funció oncogènica associada al seu grau de proteòlisis, el qual al seu torn, depèn de l'estroma tumoral.

Aquest efecte s'explicaria per la diferència en la prevalència entre la forma completa de la proteïna, localitzada en la membrana plasmàtica, i la forma proteolitzada, localitzada en el citosol i/o nucli de la cèl·lula tumoral, que activaria o reprimiria diferents vies de senyalització intracel·lular.

2. HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS

Per tant, la prevalència d'E-caderina proteolitzada localitzada en el citosol i/o nucli de la cèl·lula tumoral comportaria major agressivitat i capacitat d'invasió tumoral i permetria explicar les diferències en l'evolució clínica dels pacients.

OBJECTIUS

- Comprovar que els pacients amb major quantitat d'E-caderina proteolitzada i present en el nucli de les cèl·lules tumorals de les mostres de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal presenten pitjor pronòstic i evolució clínica.
- Estudiar la correlació entre la prevalença d'E-caderina nuclear i les variables clínic-patològiques amb les supervivències global i lliure de malaltia.
- Avaluar les supervivències global i lliure de malaltia (temps des de la primera resecció de MHCCR a la recurrència) en la nostra població a estudi.
- Estudiar l'evolució i la supervivència segons el patró de la recurrència després d'una primera cirurgia de resecció de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal (localització única hepàtica, única pulmonar, altres localitzacions úniques, múltiples localitzacions) en els nostres pacients.

3. MATERIAL I MÈTODES

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. Disseny i població de l'estudi

Estudi retrospectiu observacional dels pacients intervinguts, de forma cronològicament continuada, de metàstasis hepàtiques de tumor primari colorectal al Servei de Cirurgia General i Digestiva de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) des del gener del 1998 a desembre del 2009.

3.2. Criteris d'inclusió

En l'estudi s'incloueren els pacients sotmesos a resecció quirúrgica per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal durant el període anteriorment esmentat.

Els criteris de selecció dels pacients per a indicació de cirurgia de resecció hepàtica es basen en:

- Possibilitat de realitzar una cirurgia radical curativa R0.
- Remanent funcional hepàtic suficient.
- Absència de malaltia extrahepàtica disseminada, excepte metàstasis pulmonars considerades resecables.
- Criteris d'operabilitat del pacient.

S'inclouen pacients amb metàstasis hepàtiques sincròniques i metacròniques. Es defineixen metàstasis hepàtiques metacròniques les que apareixen a partir dels 6 mesos del diagnòstic de la neoplàsia primària colorectal.

3.3. Criteris d'exclusió

- Pacient no operable (comorbiditat).
- Cirurgia hepàtica curativa R0 però que comporti un remanent hepàtic funcional insuficient.

- Presència de disseminació extrahepàtica no resecable.
- Mortalitat postoperatòria immediata.
- Pèrdua de l'evolució i seguiment del pacient després de la intervenció quirúrgica de les MHCCR.

3.4. Protocol d'actuació

3.4.1. Pacients

Els pacients diagnosticats de MHCCR inclosos en l'estudi foren sotmesos a les exploracions complementàries que es practiquen de forma sistemàtica per a conèixer l'extensió de la malaltia i poder indicar la tècnica quirúrgica adequada:

- Analítica amb hemograma, bioquímica, perfil hepàtic, albúmina, CEA (Antígen carcinoma embrionari).
- Electrocardiograma.
- Tomografia computaritzada (TC) abdominal trifàsica.
- Ressonància magnètica hepàtica (en determinats casos).
- TC toràcic.
- Valoració anestèsica preoperatòria.

3.4.2. Recollida de dades clínic-patològiques

Es confeccionà una base de dades recollint, de cada cas, les següents variables:

- Dades demogràfiques: Edat, sexe.
- CEA preoperatori de la cirurgia hepàtica.
- Localització del tumor primari colorectal: colon dret, esquerre, recte.

- Estadi tumoral del tumor primari colorectal: pT, pN, invasió vascular venosa, invasió perineural.
- Característiques clínic-patològiques de les MHCCR: sincròniques o metacròniques; localització uni o bilobar; número metàstasis, mida(cm); marges afectes o lliures.
- Localització de la primera recurrència després de la intervenció de les metàstasis hepàtiques: únicament hepàtica, únicament pulmonar, altra localització única (diferent de fetge o pulmó), múltiples localitzacions.
- Tractament de la primera recurrència després de la intervenció de les metàstasis hepàtiques: resecció quirúrgica o pal·liació.
- Temps des de la intervenció del tumor primari colorectal a la intervenció de les MHCCR (mesos).
- Temps des de la intervenció de les MHCCR a l'actualitat (mesos).
- Temps des de la intervenció de les MHCCR a l'aparició de la primera recurrència (Interval lliure de malaltia, mesos).
- Temps des de l'aparició de la primera recurrència a l'actualitat.

3.4.3. Selecció de mostres histopatològiques de metàstasis hepàtiques de tumor primari colorectal

En col·laboració amb el Servei d'Anatomia Patològica del centre, es procedí a seleccionar del seu arxiu, els blocs de parafina més representatius de metàstasis hepàtiques de carcinoma colorectal dels pacients inclosos en l'estudi. Del total de 242 pacients, es pogueren obtenir 221 mostres; la resta no es localitzaren a l'Arxiu.

3.4.4. Anàlisis immunohistoquímic

Es realitzaren seccions de 4µm de les 221 mostres parafinades de MHCCR i s'avaluà, per immunohistoquímica, l'expressió d'E-caderina en la membrana i nucli de les cèl·lules tumorals.

Els talls de 4µm es van col·locar en portaobjectes (Flex IHC microscope slides, Dako), i es van incubar en una estufa a 58°C durant una hora, prèviament a la tinció immunohistoquímica.

La desparafinació, rehidratació i recuperació antigènica de les mostres amb tampó citrat sòdic (pH 6.0) (20 minuts a 97°C) es va realitzar amb l'equip DAKO PTLINK. Es va utilitzar el sistema automatitzat DAKO autostainer Link48 per a les tincions immunohistoquímiques. Un cop recuperada l'activitat antigènica, es va rentar amb tampó, i es va bloquejar l'activitat peroxidasa endògena amb peròxid d'hidrogen al 3% durant 10 minuts. Posteriorment, la mostra es va incubar amb l'anticòs primari d'E-caderina dirigit contra el domini intracel·lular d'E-caderina (BD Transduction, 1: 400). Com a anticòs secundari es va utilitzar rabbit (EndVision, DAKO). Seguidament, es van incubar els talls amb el revelador DAB (DAKO) durant 5 minuts, utilitzant hematoxilina per a la tinció de contrast. Finalment, es deshidrataven les preparacions amb concentracions creixents d'etanol, per ser muntades posteriorment amb medi de muntatge DPX.

Amb la col·laboració d'un patòleg investigador, s'analitzà la localització, en membrana o en nucli, de la tinció d'E-caderina de les mostres codificades de les metàstasis hepàtiques. Es classificaren en positives en el cas d'objectivar tinció nuclear d'E-caderina o en negatives si la tinció d'E-caderina tan sols es localitzava en la membrana cel·lular dels hepatòcits.

3.5. Mida de la mostra

Des del gener del 1998 al desembre del 2009, un total de 258 pacients foren diagnosticats i considerats candidats a intervenció quirúrgica per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.

Durant la intervenció quirúrgica, 8 pacients resultaren quirúrgicament irreseccables: 5 pacients per presentar múltiples metàstasis hepàtiques bilobars i 3 per associar-se a carcinomatosis peritoneal.

La mortalitat postoperatòria fou de 8 pacients (3.1%), 5 per insuficiència hepàtica; 1 pacient per shock sèptic secundari a col·leccions intraabdominals i pneumònia nosocomial, el qual requerí intubació orotraqueal i finalment fou èxitus per fallida multiorgànica; 1 pacient per hemoperitoneu, que morí a les 6 hores de la reintervenció quirúrgica; i un pacient per coleperitoneu.

Així, del total de 258 casos inicials, la població final del nostre estudi es compon de 242 pacients.

Cal citar que pel que fa a l'estudi immunohistoquímic de l'E-caderina, aquest tan sols fou possible realitzar-lo en 221 dels 242 pacients (91%), ja que no es localitzaren la resta de blocs parafinats de les mostres de metàstasis hepàtiques en l'Arxiu d'Anatomia Patològica.

Motius exclusió	N
Malaltia irreseccable (durant laparotomia)	8
Metàstasis hepàtiques múltiples	5
Carcinomatosis peritoneal	3
Mortalitat postoperatòria immediata	8
Insuficiència hepàtica	5
Shock sèptic	1
Hemoperitoneu	1
Coleperitoneu	1
TOTAL	16

Taula 3. Mostra final. Motius d'exclusió.

3.6. Anàlisi estadístic

S'utilitza el software SPSS versió 19.0 per a realitzar l'anàlisi estadístic. Per a les variables quantitatives, s'utilitza la mediana i la desviació estàndard. En casos de variables categòriques, es cita el número de casos i el seu percentatge. Per a la supervivència, els resultats es descriuen amb la mediana i el rang.

Es realitza un estudi estadístic de correlació de les variables clínic-patològiques de cada cas i el seu patró d'expressió d'E-caderina nuclear, mitjançant un anàlisi multivariant. L'anàlisi dels factors pronòstics de recurrència relacionats amb el tumor primari i amb les metàstasis hepàtiques es realitza amb el log-rank test. El model de regressió de Cox s'utilitza en l'anàlisi multivariant per a determinar aquells factors de risc independents predictius de recurrència de la

malaltia metastàsica. En tost els casos es determina com a nivell significatiu el 5% ($\alpha = 0.05$).

Les corbes de supervivència es calculen amb el mètode de Kaplan-Meyer, considerant com a supervivència global el temps des del diagnòstic de les MHCCR fins a l'*endpoint* (mort per la malaltia, mort per altra causa, o fi de seguiment, viu amb malaltia, viu sense malaltia). El temps lliure de malaltia es considera des de la intervenció de les MHCCR a l'aparició de la primera recidiva, independentment de la localització d'aquesta. Finalment, es calcula el temps des de l'aparició de la recurrència a la fi del seguiment. Les diferències són considerades estadísticament significatives quan presenten una probabilitat $p < 0.05$.

4. RESULTATS

4. RESULTATS

4.1. Característiques clínic-patològiques dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal

La població final del nostre estudi és de 242 pacients, formada per 153 homes (63.2%) i 89 dones (36.8%). L'edat mitja de presentació de les metàstasis hepàtiques és de 63 ± 11 anys.

Els pacients inclosos en el present estudi han estat seguits fins la seva mort o darrer seguiment viu (juny 2011) amb una mediana de seguiment de 98 mesos (IQR 70,156)⁶¹. Al darrer seguiment, 144 (60%) pacients havien mort conseqüència de la malaltia; 18 (7.4%) havien mort en principi per altres causes; 67 (28%) estaven vius sense evidència de malaltia; i 8 pacients (3.3%) estaven vius amb malaltia.

Les característiques clíniques i patològiques relacionades amb el tumor primari colorectal i les metàstasis hepàtiques es representen en la taula 4.

Taula 4. Característiques clínic-patològiques dels pacients intervinguts de MHCCR.

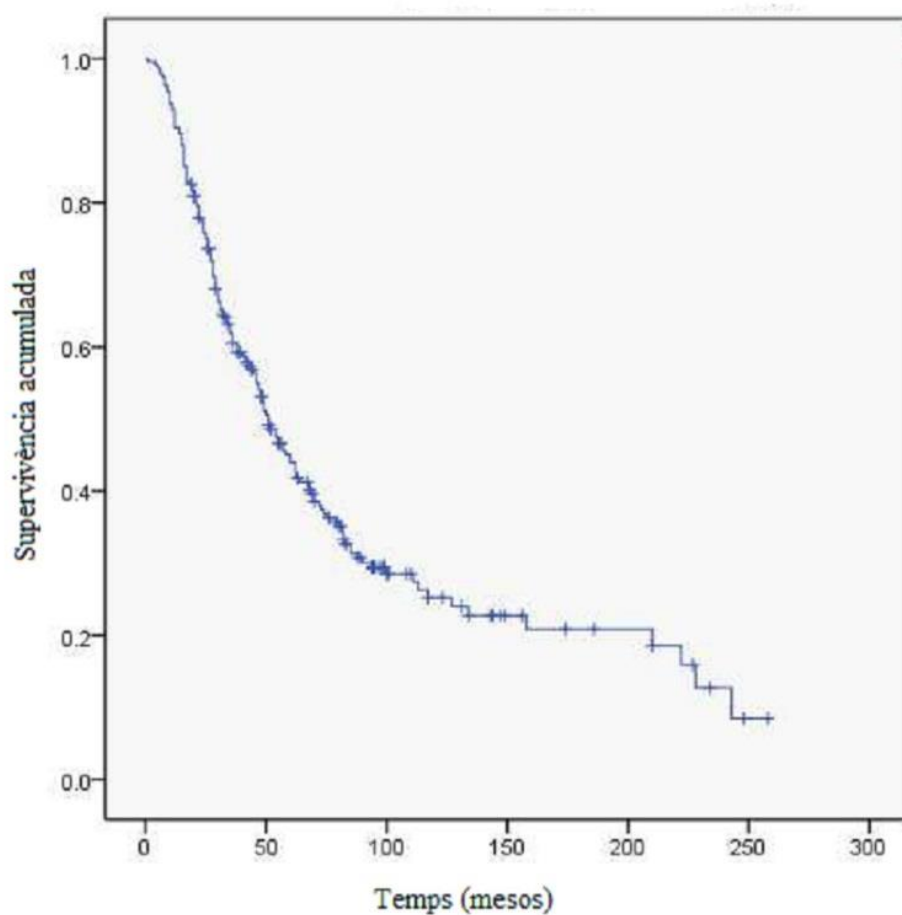
Característiques	Número de pacients n (%)
Sexe	
Home	153 (63.2)
Dona	89 (36.8)
Edat (anys)	
<70	182 (75.2)
≥70	60 (24.8)
Localització primari	
Colon dret	53 (22)
Colon esquerre	132 (54.5)
Recte	57 (23.5)
Estadi T	
T1-T2	25 (10.3)
T3	163 (67.3)
T4	54 (22.3)
Estadi N	
N0	75 (31)
N1-2	167 (69)
Invasió vascular venosa	
Negativa	189
Positiva	53
Invasió perineural	
Negativa	200
Positiva	42
Metàstasis hepàtiques	
Sincròniques	103 (41.5)
Metacròniques	138 (57)
Unilobar	184 (76)
Bilobar	58 (24)

Anàlisis preoperatori	Mediana ± DE
Hb	13.5 ± 1
Plaquetes	207 ± 75
Bilirrubina total	10 ± 7
Albúmina	41 ± 3
CEA (ng/ml)	39 ± 1

4.2. Anàlisi de supervivència global

La mediana de supervivència dels 242 pacients des de la cirurgia de resecció hepàtica fou de 51 (rang 43.1-58.8) mesos, amb una supervivència actuarial als 3 i 5 anys del 61% i 44%, respectivament (Fig. 10).

Figura 10. Supervivència actuarial dels 242 pacients sotmesos a resecció quirúrgica de MHCCR.



4.3. Anàlisi de la supervivència lliure de malaltia

Del total de pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques, 173 (71%) casos van presentar recurrència de la malaltia, amb un interval lliure de malaltia, calculada des de la cirurgia de resecció hepàtica a la recurrència, de 22 (rang 17.9-26.0) mesos de mediana.

4.4. Evolució i supervivència segons el patró de recurrència

Entre els 173 pacients (71%) que presentaren recurrència de la malaltia, la mediana de temps a la recurrència fou de 15 (rang 10-22) mesos i la mediana de supervivència global des de l'hepatectomia inicial, independentment del lloc de la recurrència, fou de 36 (27-44) mesos.

Per contra, si es tenen en compte tan sols els pacients de l'estudi que no han presentat cap recidiva durant el seguiment, la qual cosa fa referència a 69 pacients (29% del total de casos), la seva supervivència mediana és de 228 (213-242) mesos.

La localització de la primera recurrència després de la cirurgia de resecció de MHCCR, es mostra de forma detallada en la taula 5. Les supervivències global i lliure de malaltia segons el lloc de recurrència, es representen en la taula 6.

Taula 5. Localització, freqüència i rescat quirúrgic de la primera recurrència després de la cirurgia de resecció de MHCCR.

Localització primera Recurrència	Nombre pacients n (%)	Resecció quirúrgica n (%)
Hepàtica única	82 (43%)	25 (30%)
Pulmonar única	29 (17%)	13 (45%)
Altra localització única	22 (13%)	6 (27%)
Cervell	9	
Òssia	7	
Ovari	3	
Local (Tumor primari)	3	
Múltiples localitzacions	40 (23%)	4 (10%)
Total	173 (71%)	

Taula 6. Supervivència i interval lliure de malaltia segons el patró de recurrència ($p < 0.001$), expressada en mesos [mediana (rang)].

Localització primera recurrència	Supervivència lliure de malaltia	Supervivència des de l'hepatectomia inicial	Supervivència des de la recurrència
Hepàtica única	13 (10-16)	35 (23-46)	17 (6-27)
Pulmonar única	18 (9-27)	52 (39-64)	32 (18-45)
Altra localització única	16 (12-19)	40 (27-52)	15 (7-32)
Múltiples localitzacions	16 (12-19)	28 (25-31)	10 (7-13)
Global recurrències	15 (10-22)	36 (27-44)	19 (13-30)

Per a l'estudi, s'han dividit les recurrències en les següents localitzacions: metàstasis únicament de localització hepàtica; de localització únicament pulmonar; altres localitzacions úniques diferents de metàstasis hepàtiques i pulmonars, essent en la nostra sèrie, 9 metàstasis cerebrals, 7 òssies, 3 en ovari i 3 recurrències locals del tumor primari; finalment, la darrera subdivisió inclou aquells pacients que presenten metàstasis en múltiples localitzacions, independentment de la combinació d'aquestes.

Es pot observar que el període lliure de malaltia és diferent segons el lloc de la primera recurrència (taula 6). La localització única hepàtica, amb 82 pacients (47%), constitueix per una banda, el lloc de major recurrència de la malaltia dels pacients intervinguts d'una primera cirurgia de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal i per altra, la localització amb un menor interval lliure de malaltia, amb una mediana de 13 (9.7-16.2) mesos.

La mediana de supervivència des de la primera cirurgia hepàtica va ser de 35 (23.7-46.2) mesos. Cal destacar que tan sols el 30% d'aquests pacients que presentaren recidiva hepàtica pogueren ser rescatats quirúrgicament.

El segon lloc en freqüència, amb 40 pacients (23.2%), és ocupat pels pacients que presenten recidiva en múltiples localitzacions, incloent en aquesta categoria, metàstasis hepàtiques i pulmonars, peritoneals, així com qualsevol altra combinació. Aquests pacients presenten una supervivència lliure de malaltia de 16 (12.4-19.5) mesos, la qual és lleument superior als que presenten recidiva únicament hepàtica, però per contra, presenten una supervivència global des de l'hepatectomia inicial menor, de 28 (24.9-31.0) mesos.

Aquest subgrup de pacients cal considerar-los cadascun de forma individual. Actualment, no existeix cap consens sobre la indicació de rescat quirúrgic en aquests pacients. En la nostra sèrie foren intervinguts 4 pacients: dos pacients presentaren metàstasis hepàtiques i pulmonars, en un es realitzà segmentectomia hepàtica II i VIII i resecció d'una metàstasis pulmonar única i en l'altre, bisegmentectomia hepàtica II-III i lobectomia pulmonar superior dreta; un pacient amb metàstasis hepàtica única en segment VI (segmentectomia VI) i adrenalectomia esquerra per metàstasis adrenal; finalment el darrer cas presentava metàstasis hepàtiques i en ovari, pel que fou sotmès a resecció de 3 metàstasis hepàtiques, histerectomia i doble annexectomia.

Es tracta únicament de 4 casos, per la qual cosa realitzar un anàlisi de supervivència no seria estadísticament significatiu.

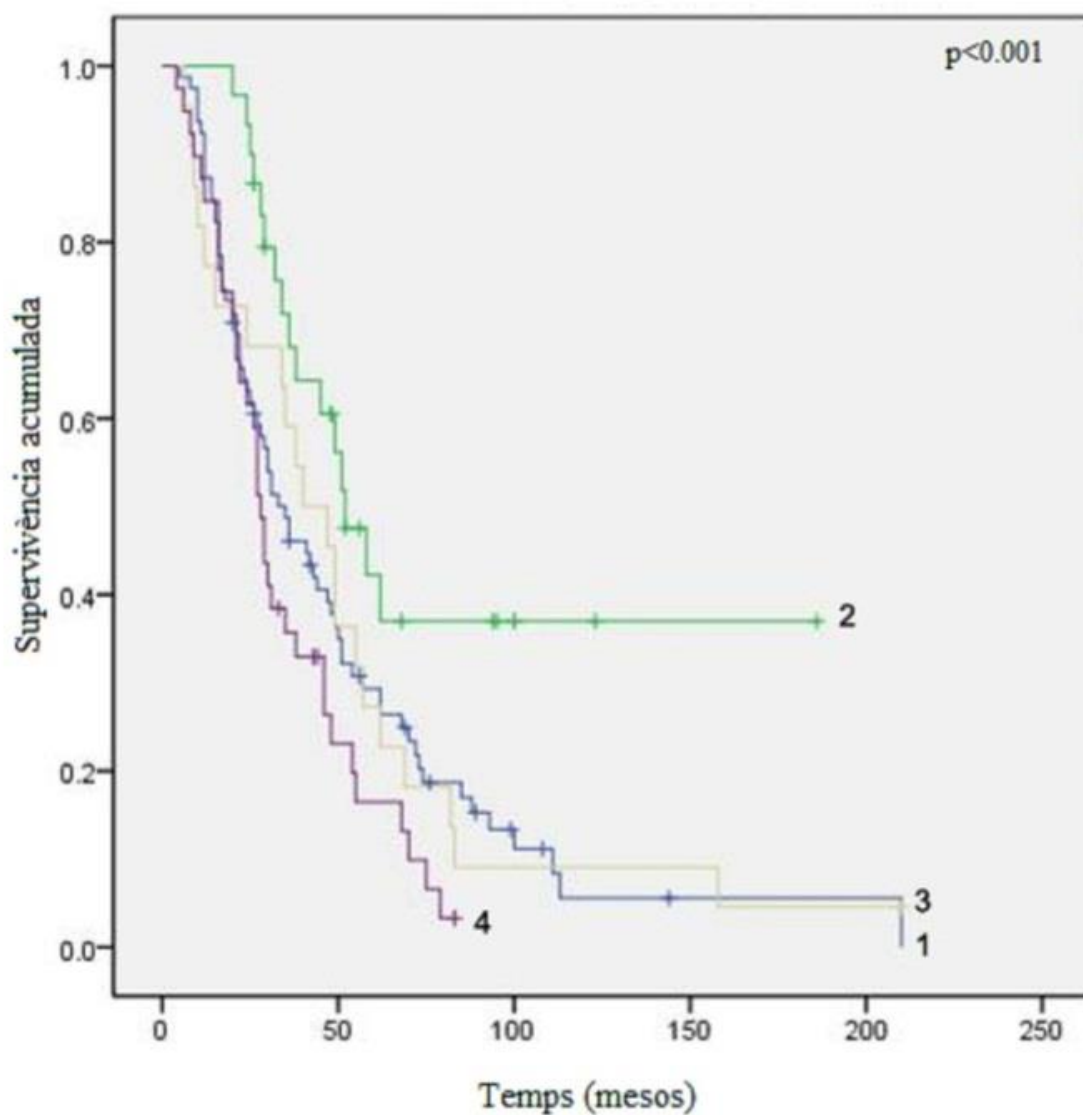
Els pacients de millor pronòstic són els que presenten recurrència pulmonar única. En aquests destaca tant una millor supervivència lliure de malaltia, de 18 (9.2-26.7) mesos, com una millor supervivència global des de l'hepatectomia inicial, de 52 (39.4-64.5) mesos.

El 45% de pacients que presentaren metàstasis pulmonars com a única localització, compliren criteris per a ser sotmesos a cirurgia de rescat.

Finalment, 22 pacients (13%) del total que presentaren recurrència, metastatitzaren en altres localitzacions úniques, diferents de l'hepàtica i la pulmonar. Tot i que es tracta d'una mescla diferent de pacients, cal dir que presenten una supervivència global de 40 (27.2-52.0) mesos, la qual és lleugerament superior als pacients amb metàstasis hepàtiques i evidentment, als que presenten recidiva en localitzacions múltiples. En la nostra sèrie, 6 d'aquests pacients foren sotmesos a cirurgia: els 3 pacients amb recidiva local del tumor primari; 2 pacients amb metàstasis ovàriques foren sotmesos a laparotomia exploradora amb histerectomia i doble annexectomia amb impressió de radicalitat quirúrgica; i, un pacient amb una metàstasis única cerebral fou sotmès a RT i cirurgia d'aquesta.

En la Figura 11 es representa la gràfica de supervivència segons el lloc de recurrència.

Figura 11. Supervivència actuarial en funció de la localització de la primera recurrència després de la cirurgia de resecció de MHCCR (1. Recidiva únicament hepàtica; 2. Recidiva únicament pulmonar; 3. Recidiva única en altra localització diferent; 4. Recidiva en múltiples localitzacions).



4.5. Anàlisi estadístic bivariant i multivariant de factors pronòstics relacionats amb la supervivència

Es realitzen els anàlisis estadístics bi i multivariant per a determinar aquelles variables associades amb la supervivència a llarg termini dels pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.

S'analitzen factors demogràfics com l'edat i el sexe; factors relacionats amb el tumor primari colorectal; factors relacionats amb les MHCCR; el nivell de CEA abans de la cirurgia de les MHCCR i la immunohistoquímica d'E-caderina dels blocs de MHCCR (taula 7).

L'edat superior o igual a 70 anys, l'afectació de la paret colònica (T4), la invasió ganglionar (N1 i 2), la presència d'invasió tan venosa com perineural en el tumor primari, el nombre de metàstasis hepàtiques superior o igual a 3 i, la presència d'E-caderina nuclear en les mostres de MHCCR, actuen com a factors pronòstics estadísticament significatius pel que fa a la supervivència a llarg termini en els nostres pacients.

En quant es procedeix a l'anàlisi multivariant, dels set factors estadísticament significatius en el bivariant, es pot concloure que, l'edat, l'afectació ganglionar, la invasió perineural, el nombre de lesions metastàsiques hepàtiques i la presència d'E-caderina nuclear, són factors de risc independents de supervivència global en pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.

Taula 7. Associació entre els factors clínic-patològics i l'E-caderina i la supervivència global dels 242 pacients intervinguts de MHCCR (mesurat des de la cirurgia per MHCCR fins l'estat en el darrer seguiment)

Variable (n)	Mediana supervivència global (mesos, rang)	Univariat <i>p</i> , HR (95% CI)	Multivariat <i>p</i> , HR (95% CI)
Sexe			
Home (153)	49 (41-56)	0.515, 1.11 (0.8-1.5)	-
Dona (89)	57 (36 -77)		
Edat			
<70 anys (182)	60 (47 -72)	0.004, 1.65 (1.1-2.3)	0.002, 1.78 (1.2-2.6)
≥70 anys (60)	35 (25-44)		
Localització			
Colon dret (53)	49 (31-66)	0.671, 1.14 (0.8-1.7)	-
Colon esquerre (132)	54 (41-66)		
Recte (57)	51 (41-60)		
Invasió paret			
T1-T2 (25)	-	0.002, 3.17 (1.6-6.3)	-
T3 (163)	51 (42-60)		
T4 (54)	38 (25-51)		
Invasió ganglionar			
N0 (75)	83 (45-121)	0.001, 1.85 (1.2-2.6)	<0.001, 2.07 (1.4-3.0)
N1-N2 (167)	47 (37-57)		
Invasió venosa			
V (-) (189)	58 (46-70)	0.002, 1.8 (1.2-2.5)	-
V(+) (53)	29 (20-38)		

4. RESULTATS

Invasió perineural			
P (-) (200)	60 (47-73)	<0.001, 2.24 (1.5-3.3)	<0.001, 2.63(1.7-4.0)
P (+) (42)	27 (17-37)		
CEA (ng/ml)			
<15 (150)	57 (44-69)	0.305, 1.19 (0.8-1.6)	-
≥15 (88)	34 (26-41)		
Temps diagnòstic			
Sincròniques (103)	51 (41-61)	0.609, 0.92 (0.7-1.3)	-
Metacròniques (138)	52 (41-63)		
Lòbuls afectes			
Unilateral (184)	54 (46-62)	0.951, 1.01 (0.6-1.4)	-
Bilateral (58)	45 (16-74)		
Número metàstasis			
<3 (199)	57 (48-66)	0.006, 1.73 (1.1-2.5)	0.007, 1.77 (1.1-2.7)
≥3 (43)	30 (21-39)		
Mida nòdul major			
<5 (177)	54 (43 -64)	0.166, 1.27 (0.9-1.8)	-
≥5 (64)	46 (32 -60)		
Marges resecció			
Afectes (53)	47 (28-65)	0.086, 0.73 (0.5-1.0)	-
Lliures (187)	55 (43 -66)		
E-cadherina nuclear			
Negativa (144)	82 (62-102)	<0.001, 2.27 (1.6-3.2)	<0.001, 2.51 (1.8-3.5)
Positiva (77)	30 (24-35)		

4.6. Anàlisi estadístic bivariant i multivariant de factors pronòstics predictius de recurrència després d'una primera cirurgia per MHCCR

L'associació entre les variables relacionades amb el tumor primari colorectal i amb les metàstasis hepàtiques i la posterior aparició de recurrència en els pacients intervinguts d'una primera cirurgia de metàstasis hepàtiques, es detalla a la taula 8.

L'afectació vascular venosa i perineural del tumor primari, així com el número de metàstasis, l'afectació dels marges de resecció d'aquestes i la tinció d'E-caderina nuclear en les mostres de MHCCR, actuen com a factors pronòstics estadísticament significatius en quant al desenvolupament de recurrència de malaltia, independentment del lloc d'aparició d'aquesta.

En l'anàlisi multivariant, com a factors de risc independents de recurrència després d'una hepatectomia per MHCCR, resulten 4 de les 5 variables anteriorment esmentades: la invasió venosa, la invasió perineural, el número de metàstasis superior o igual a 3 i la presència d'E-caderina proteolitzada al nucli de les cèl·lules metastàsiques.

Taula 8. Associació entre E-caderina nuclear i factors clínicopatològics amb l'aparició de recurrència després de cirurgia per MHCCR.

Variable (n)	Mediana supervivència a recurrència (mesos, rang)	Univariat <i>p</i> , HR (95% CI)	Multivariat <i>p</i> , HR (95% CI)
Sexe			
Home (153)	22 (17-27)	0.914, 0.98 (0.7-1.3)	-
Dona (89)	20 (13-26)		
Edat			
<70 anys (182)	23 (16 -29)	0.257, 1.21 (0.8-1.7)	-
≥70 anys (60)	18 (14 -22)		
Localització			
Colon dret (54)	20 (13-27)	0.892, 0.92 (0.6-1.4)	-
Colon esquerre (131)	22 (16-28)		
Recte (57)	21 (14-27)		
Invasió paret			
T1-T2 (25)	39 (33-44)	0.137, 1.61 (0.9-2.7)	-
T3 (163)	19 (16-22)		
T4 (54)	24 (15-33)		
Invasió ganglionar			
N0 (75)	34 (24-44)	0.086, 1.32 (0.9-1.8)	-
N1-N2 (167)	18 (15-20)		
Invasió venosa			
V (-) (189)	25 (18-32)	0.001, 1.8 (1.2-2.6)	0.022, 1.57 (1.0-2.3)
V(+) (52)	12 (7-16)		

4. RESULTATS

Invasió perineural			
P (-) (200)	24 (17 -31)	<0.001, 2.1(1.4-3.0)	0.001, 2.0 (1.3-3.0)
P (+) (41)	12 (5-19)		
CEA (ng/ml)			
<15 (150)	23 (18-30)	0.095, 1.22 (0.9-1.7)	-
≥15 (88)	21 (18-28)		
Temps diagnòstic			
Sincròniques (104)	19 (15-23)	0.272, 0.84 (0.6-1.1)	-
Metacròniques (138)	24 (18-30)		
Lòbuls afectes			
Unilateral (184)	23 (17-29)	0.182, 1.26 (0.8-1.7)	-
Bilateral (58)	18 (13-23)		
Número metàstasis			
<3 (198)	25 (20-30)	0.006, 1.69 (1.1-2.4)	0.018, 1.59 (1.0-2.3)
≥3 (43)	15 (10-20)		
Mida nòdul major			
<5 (178)	23 (18 -28)	0.087, 1.33 (0.9-1.9)	-
≥5 (64)	17 (11-22)		
Marges resecció			
Afectes (53)	17 (15-19)	0.039, 0.69 (0.5-1.0)	-
Lliures (188)	24 (18-30)		
E-cadherina nuclear			
Negativa (144)	33 (22-44)	<0.001, 1.9 (1.3-2.6)	<0.001, 1.9 (1.4-2.6)
Positiva (77)	16 (12-20)		

4.7. Anàlisi estadístic de la presència d'E-caderina proteolitzada de localització nuclear en metàstasis hepàtiques de càncer colorectal

Del total de 242 pacients intervinguts, s'analitzà la immunotinció per a E-caderina de 221 (91%) mostres de blocs parafinats de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal. El 9% de blocs restants, no pogueren ser localitzats en l'Arxiu d'Anatomia Patològica del nostre centre.

Les mostres es classificaren en positives o negatives segons la presència o no, en aquestes, de nuclis cel·lulars tenyits per l'anticòs contra E-caderina. La determinació fou realitzada amb la col·laboració d'un patòleg investigador.

De les 221 mostres analitzades, el 35% (77 casos) resultaren positives.

La mediana de supervivència global dels pacients amb E-caderina nuclear negativa en les mostres de MHCCR és de 82 (62-102) mesos, amb una supervivència actuarial als 3 i 5 anys de 73.7% i 58.6%, respectivament (Fig. 13).

Per contra, la mediana de supervivència global dels pacients amb positivitat per a E-caderina nuclear, és de 30 (24-35) mesos. La supervivència actuarial als 3 i 5 anys és de 40.3% i 29.0%, respectivament.

Figura 12. Tinció hematoxilina-eosina de metàstasis hepàtiques d'adenocarcinoma de colon (A, C i E) i la corresponent tinció per immunohistoquímica per a E-caderina. En B s'observa la presència d'E-caderina en membrana i citosol. En les imatges D i F s'identifiquen nuclis tenyits per E-caderina (magnificació x 400)

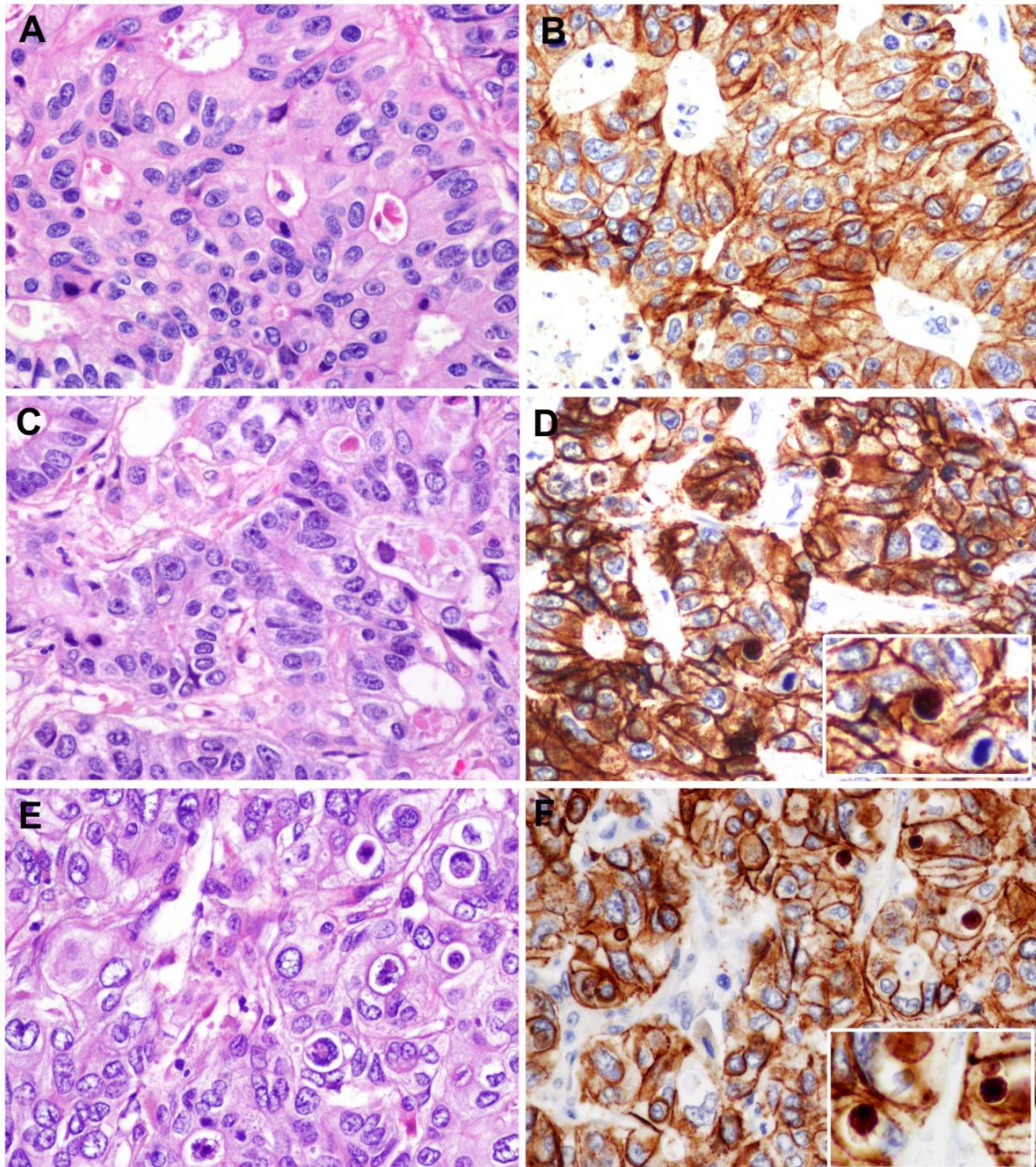
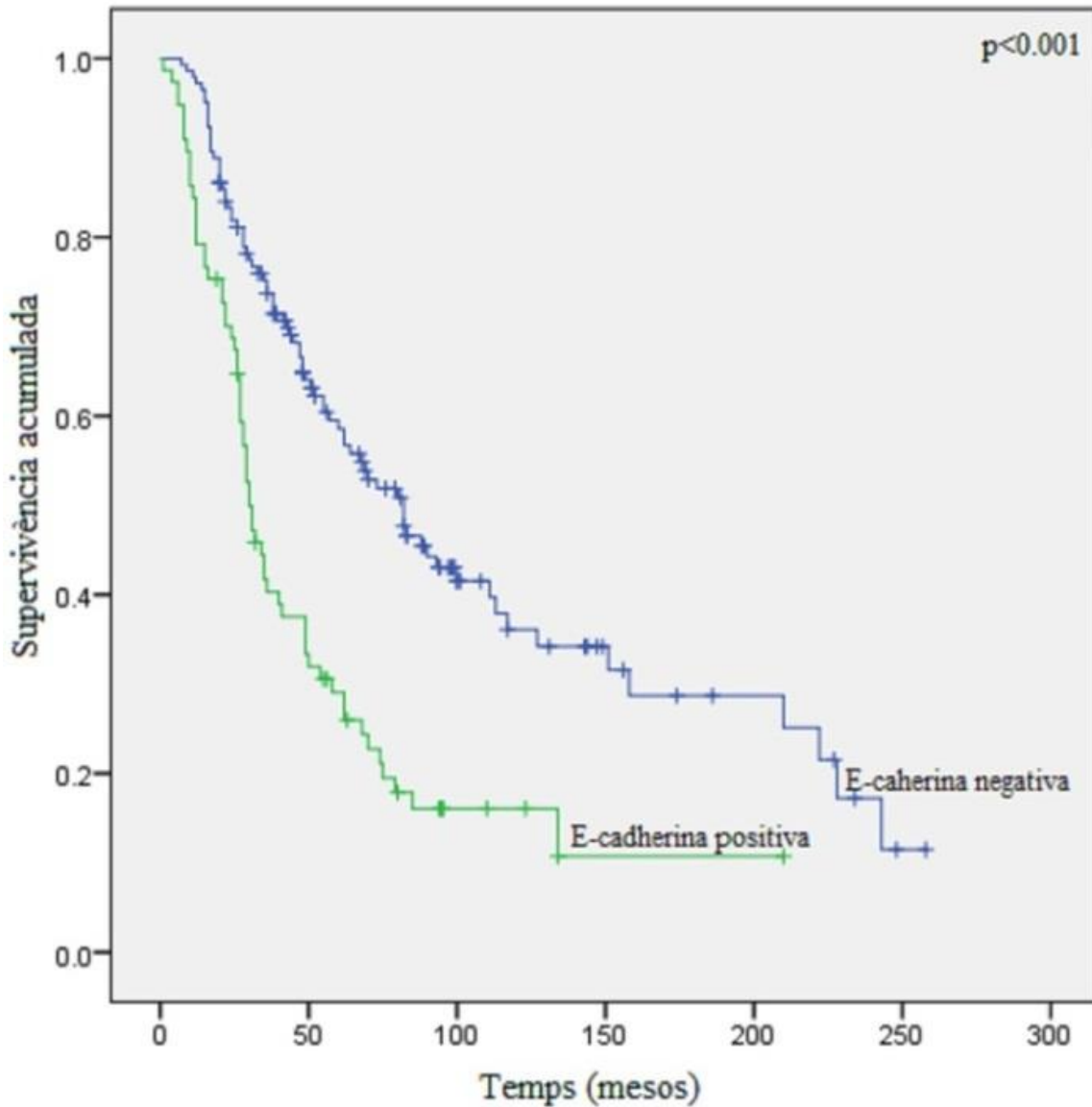


Figura 13. Anàlisi de supervivència global (Log-rank Mantel-Cox) en pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal segons la presència o absència d'expressió d'E-caderina nuclear en les metàstasis hepàtiques.



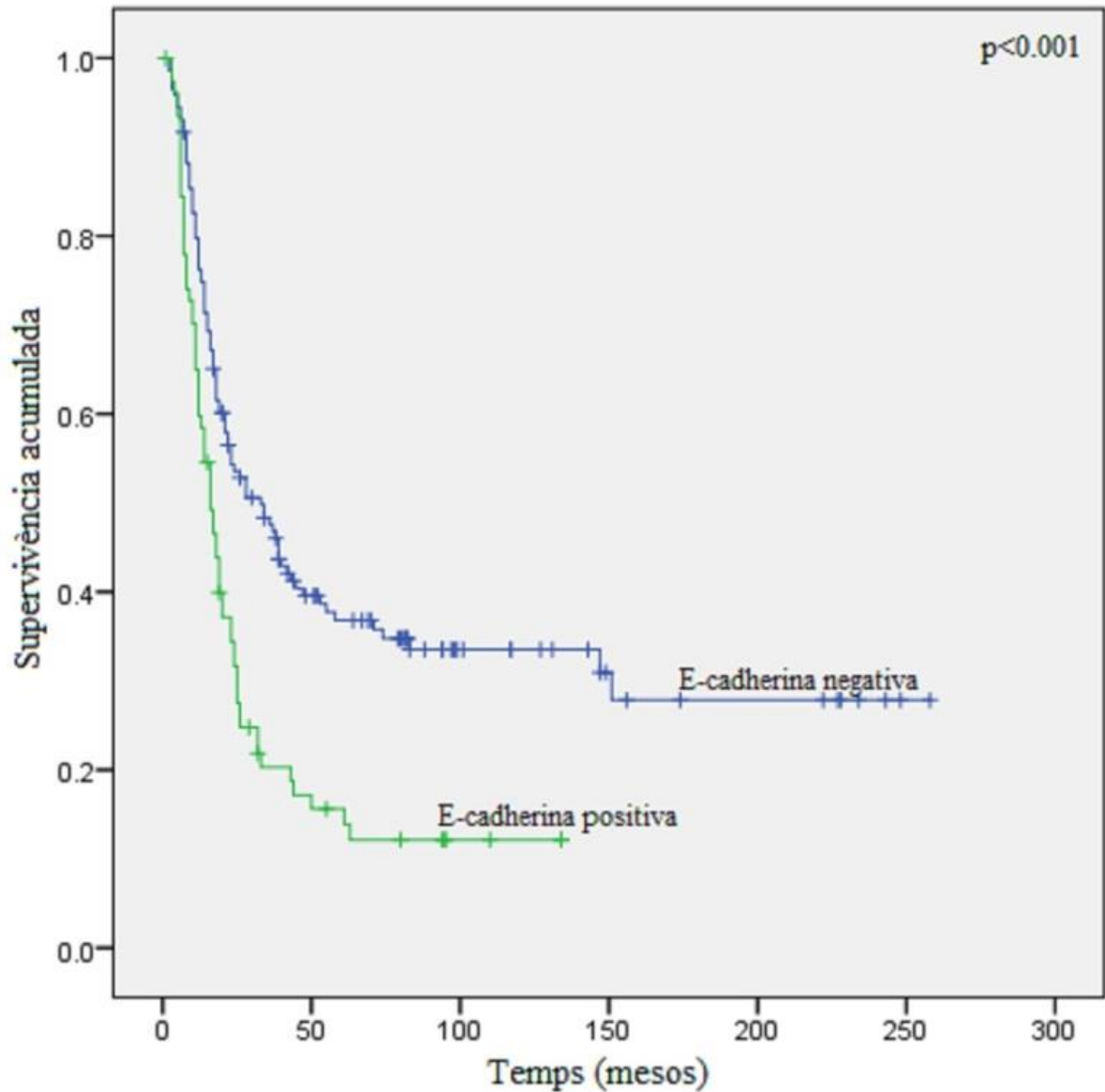
En l'anàlisi de supervivència bivariant (Kaplan-Meier), la presència d'E-caderina nuclear resulta, conjuntament amb la presència d'invasió perineural en el tumor primari, un dels factors de mal pronòstic de major significància estadística ($p < 0.001$).

En l'anàlisi multivariat de Cox, la positivitat d'E-caderina nuclear es manté com a factor de risc independent de mal pronòstic pel que fa a la supervivència global ($p < 0.001$).

Pel que fa a la supervivència lliure de malaltia, l'E-caderina nuclear també constitueix un factor de risc independent de recurrència dels pacients intervinguts d'hepatectomia per MHCCR ($p < 0.001$).

La mediana de la supervivència lliure de malaltia dels pacients amb E-caderina nuclear negativa, és de 33 (22-44) mesos; mentre que la mediana dels casos amb E-caderina nuclear positiva decau a 16 (12-20) mesos. Expressat en supervivències actuarials, serien del 47.6% als 3 anys i del 39.65 als 5 anys en els pacients amb negativitat per a E-caderina. Per contra, la supervivència lliure de malaltia pels pacients amb E-caderina positiva és del 20.3% als 3 anys i del 15.6% als 5 anys (Fig. 14).

Figura 14. Anàlisi de supervivència lliure de malaltia (Log-rank Mantel-Cox) en pacients intervinguts de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal segons la presència o absència d'expressió d'E-caderina nuclear en les metàstasis hepàtiques.



5. DISCUSSIÓ

5. DISCUSSIÓ

L'elevada incidència del càncer colorectal, el qual representa la segona causa de càncer a Europa i la tercera a nivell mundial, comporta un cost humà i una despesa sanitària gens menyspreables⁶².

Igualment, es coneix que en el moment del diagnòstic, aproximadament el 25-30% d'aquests pacients, presentaran metàstasis hepàtiques sincròniques (estadi IV) i el 25% en desenvoluparan al llarg de l'evolució de la malaltia, la majoria durant els 3 primers anys del diagnòstic del tumor primari.

Malgrat que per una banda, la introducció dels nous règims de quimioteràpia ha permès una notable milloria de la supervivència mediana a llarg termini d'aquests pacients i per altra, la cirurgia aconsegueix rescatar cada vegada casos més extrems, dos terços (entre el 60 i el 85%) dels pacients, presentaran una nova recidiva de la malaltia, essent el fetge i el pulmó, els llocs d'aparició més freqüents⁶³⁻³⁶.

Per tot això, es pot dir que l'estudi dels factors relacionats amb el desenvolupament de les metàstasis hepàtiques de càncer primari colorectal, és un tema de vital importància que justificaria la realització d'aquest treball, en el qual s'analitzen factors clínics i patològics relacionats amb el tumor primari i amb les metàstasis hepàtiques i la seva associació amb les supervivència global i lliure de malaltia d'aquests pacients.

Però per altra banda, donat que ja existeixen en la literatura diversos estudis sobre factors pronòstics per intentar estratificar els pacients en categories de risc de recurrència després d'una intervenció de MHCCR per tal de millorar-ne el seu maneig terapèutic i, s'ha conclòs que la seva utilitat en la pràctica clínica resulta controvertit⁶⁴, creiem necessari també, l'estudi de factors moleculars relacionats amb el tumor primari i les seves metàstasis. En el nostre cas, ens centrem en l'avaluació de la presència d'E-caderina en el nucli de les cèl·lules metastàsiques hepàtiques com a factor pronòstic molecular relacionat amb les supervivències global i lliure de malaltia dels pacients intervinguts de MHCCR.

5.1. Supervivència, evolució i recurrència dels pacients intervinguts de MHCCR

En aquest estudi s'analitzen la supervivència lliure de malaltia, la supervivència global i les diferents evolucions segons la localització de la recidiva en els pacients intervinguts d'una primera cirurgia de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal.

Els resultats obtinguts en quant a supervivència global de la nostra mostra, la qual fou de 61% i 44% als 3 i 5 anys respectivament, són similars als de la resta de sèries publicades⁶⁵⁻⁶⁶.

Pel que fa a la taxa global de recurrència, del 71%, també és comparable a la reportada en altres sèries³⁶⁻⁶⁷.

De totes formes, el període de 12 anys que compren el nostre estudi, inclou pacients que han rebut règims quimioteràpics diferents, d'acord amb els protocols de cada moment, ja que no fou fins l'any 2000 que s'incorporà l'oxaliplatí o l'irinotecan al 5-fluoracil, el qual pot ser aquest un punt a tenir en compte i no descartem la necessitat d'estudis amb poblacions més homogènies pel que fa al règim quimioteràpic rebut.

Existeixen nombrosos estudis sobre recurrència després d'una cirurgia de resecció hepàtica per metàstasis d'origen colorectal, els quals la majoria coincideixen com en la nostra sèrie, que el fetge és el primer lloc de recidiva, amb una taxa del 30 al 48%, essent la nostra del 47%; seguit pel pulmó i pel grup constituït per metàstasis en múltiples localitzacions. De totes maneres, són escasses les sèries publicades que analitzen la supervivència a llarg termini segons el patró concret de recurrència. La majoria diferencien tan sols únicament, entre localització intra i extrahepàtica⁶⁸⁻⁶⁹⁻⁷⁰.

Cal destacar l'estudi realitzat per D'Angelica M *et al*⁸⁶ (2011) en el qual s'analitza detalladament l'evolució de 733 malalts intervinguts de MHCCR segons la localització de la recurrència, i es conclou que aquesta s'associa de forma independent amb la supervivència, mesurada tant des de l'hepatectomia inicial com des del diagnòstic de la recidiva.

Tant en aquest estudi com en el nostre, del total de pacients que presenten recurrència de la malaltia, els de millor pronòstic són els que desenvolupen metàstasis únicament de localització pulmonar. Aquests presenten el major interval lliure de malaltia (18 mesos) i la millor supervivència global (52 mesos de mediana). Per contra, els pacients que metastatitzen de nou en el fetge, presenten una supervivència lliure de malaltia de 13 mesos i una supervivència global des de la primera hepatectomia de 35 mesos.

Actualment no es disposa de coneixements consistents que expliquin aquest fenomen. S'interpreta que el microambient pulmonar podria ser biològicament més tolerant a la càrrega tumoral. Igualment podria influir, en detriment al fetge, que en aquest estadi de la malaltia, el pulmó és un òrgan quirúrgicament verge i sense els efectes patològics de la quimioteràpia, i que més de la meitat de les recurrències pulmonars són resecables. En el nostre estudi, el 45% dels pacients amb metàstasis pulmonars després d'una primera cirurgia per metàstasis hepàtiques, són sotmesos a resecció quirúrgica, per contra del 30% dels pacients amb recidiva de nou hepàtica.

Això reforça el fet que, de la mateixa manera que s'accepta que hepatectomies de repetició per metàstasis hepàtiques confereixen taxes de supervivència a llarg termini similars a la de la primera hepatectomia⁷¹⁻⁷²⁻⁷³, existeixen arguments suficients per oferir tractament quirúrgic curatiu als pacients afectes de recurrència pulmonar, sempre i quan es plantegi una cirurgia de resecabilitat R0 i no existeixin factors que impedeixin la seva operabilitat, com són l'estat general i comorbiditat del pacient i el volum funcional pulmonar residual, entre d'altres⁷⁴⁻⁷⁵.

Com en la resta de sèries, la recurrència en múltiples localitzacions, incloent aquí la carcinomatosis peritoneal i qualsevol altra combinació, representa el grup de pacients amb un curs clínic més agressiu, amb una mediana de supervivència en el nostre estudi de 28 mesos.

Els pacients que presenten una recidiva en una altra localització única diferent a l'hepàtica i a la pulmonar, presenten una supervivència intermèdia, amb una mediana de 40 mesos. Segons la localització i l'experiència de l'equip mèdic i quirúrgic, es pot plantejar el rescat quirúrgic en aquests pacients, ja que estem parlant de categoria d'evidència IV²⁸.

5.2. Factors clínic-patològics predictius de supervivència i recurrència dels pacients intervinguts de MHCCR

En el present estudi, s'analitza la relació de variables demogràfiques, variables clínic-patològiques pròpies del tumor primari i de les metàstasis hepàtiques, així com la presència o no d'E-caderina nuclear en les mostres de metàstasis hepàtiques amb la supervivència global i amb l'aparició de recurrència de la malaltia, independentment de la localització d'aquesta.

En l'anàlisi multivariat, l'edat, la invasió ganglionar (N1 i 2), la invasió perineural, el nombre de metàstasis major o igual a 3 i la tinció nuclear d'E-caderina, resultaren ser factors de risc independents de mal pronòstic, és a dir, predictius de pitjor supervivència global.

Pel que fa a l'aparició de recurrència després d'una cirurgia de resecció de metàstasis hepàtiques colorectals, els factors de risc independents foren: la invasió venosa i la perineural, el nombre de metàstasis major o igual a 3 i la tinció nuclear d'E-caderina.

Tots aquests factors apareixen descrits com a factors de risc independents en altres estudis, però no de manera uniforme⁷⁶⁻⁷⁷⁻⁷⁸⁻⁷⁹.

En aquest sentit cal destacar per exemple, l'afectació dels marges de resecció, el paper del qual com a factor pronòstic de supervivència després d'una hepatectomia és controvertit⁸⁰.

En el nostre anàlisi, l'afectació microscòpica dels marges (R1), tan sols fou estadísticament significatiu en l'estudi estadístic bivariant per a la recurrència, però no en el multivariant ni en l'estudi estadístic per a la supervivència global.

Nuzzo G *et al*⁸¹ conclou que un marge histològic $\leq 5\text{mm}$ s'associa a menor supervivència global i menor supervivència lliure de malaltia com a factor de risc independent. Are C *et al*⁸² descriu que el marge òptim per a una millor supervivència global i factor de risc independent ha de ser $>1\text{ cm}$. Per contra, Bodingbauer M *et al*⁸³ demostrà que un marge positiu no s'associa a major risc de recurrència, inclús en el marge quirúrgic, sempre i quan l'hepatectomia es realitzi amb el dissector ultrasònic i per cirurgians experts.

Cal destacar la invasió perineural, ja que resulta analitzada en pocs estudis i en el nostre, constitueix un dels factors de risc independent més importants tant pel que fa a la supervivència global com per a la lliure de malaltia ($p < 0.001$).

Aquesta dada concorda amb l'estudi de Liebig C *et al*⁸⁴ del 2009 realitzat amb 249 pacients. Aquest conclou que la invasió perineural s'associa a menor diferenciació cel·lular i pitjor evolució de la malaltia i determina que, aquesta troballa, podria relacionar-se amb l'evolució més agressiva del subgrup de pacients amb ganglis negatius i per tant, no candidats a tractament adjuvant, però que malgrat tot, evolucionen desfavorablement.

Per altra banda, l'existència de diverses publicacions sobre *scores* pronòstics de l'evolució de pacients intervinguts de MHCCR, ha portat a una revisió d'aquests. Gregoire E *et al*⁸⁹ analitzen sis *scores*, entre els quals cinc d'ells consideren el número de metàstasis com a factor pronòstic; i, quatre, coincideixen en que la mida de les metàstasis i el temps entre la resecció del tumor primari i el diagnòstic de les MHCCR, són factors predictius de mala evolució.

Finalment conclou que aquests models basats en factors clínic-patològics resulten actualment inconsistents, essent necessària la inclusió de l'estudi de factors biològics i moleculars en els futurs models predictius⁸⁵.

5.3. Presència d'E-caderina nuclear com a factor pronòstic

Tot i que el sistema d'estadiatge TNM del carcinoma colorectal (de l'American Joint Committee on Cancer) és el de major consistència per a predir el futur oncològic dels pacients diagnosticats de carcinoma colorectal i el que s'utilitza actualment en la pràctica clínica, resulta insuficient per a detectar un determinat subgrup de pacients d'elevat risc classificats dins un mateix estadiatge i els quals, amb les premisses actuals, no són candidats a tractament quimioteràpic complementari⁵⁸.

El 40-50% dels casos diagnosticats de càncer colorectal i que són sotmesos a cirurgia curativa, són classificats anatomopatològicament com a estadis II o III⁸⁶. Es coneix que pacients inclosos en el mateix estadi tumoral, presentaran evolucions clíniques diferents en quant a recidiva i a supervivència global.

És per aquest motiu que existeix la necessitat d'identificar factors predictius a nivell genòmic o molecular que ens ajudin a comprendre el perquè de les diferències evolutives entre pacients que presenten un estadiatge similar de la malaltia i conseqüentment, poder millorar l'actitud terapèutica envers aquests.

En aquest sentit, estudis recents relacionen la pèrdua de funció d'E-caderina amb un increment de la invasivitat tumoral en diverses neoplàsies epitelials humanes, com el càncer gàstric, esofàgic, d'ovari, de mama i el colorectal, entre d'altres⁸⁷⁻⁸⁸.

Les caderines són proteïnes transmembrana que juguen un important paper en l'adhesió intercel·lular. S'anomenen E-caderines quan es troben al teixit epitelial. La pèrdua de la funció de l'E-caderina, al disminuir les interaccions cel·lulars veïnes, promou la motilitat i migració cel·lular, així com el desenvolupament de fenotips cel·lulars mesenquimals⁸⁹⁻⁹⁰.

D'aquests coneixements sorgeix la utilitat de la determinació de l'expressió d'E-caderina com a factor predictiu de supervivència i recurrència en carcinoma colorectal⁴⁸.

En l'estudi realitzat per Chen X *et al*^{β1}, en el qual s'analitza l'expressió d'E-caderina en carcinoma colorectal obtingut de 5 línies cel·lulars humanes diferents, es correlaciona l'expressió d'E-caderina amb factors clínic-patològics i s'observa que, l'absència d'expressió d'E-caderina en membrana, s'associa a tumors primaris colorectals poc diferenciats ($p=0.023$) i amb el desenvolupament de metàstasis hepàtiques ($p = 0.043$).

Lee WY *et al*^{β2} analitza l'expressió de proteïnes relacionades amb el procés de transició epitelial-mesenquimal, entre elles l'E-cadherina, en mostres humanes de càncer colorectal, i conclou que, la pèrdua de l'expressió d'aquesta s'associa a una pitjor supervivència global ($p = 0.016$).

Avaluant els diferents estudis, es conclou que la pèrdua de funció de l'E-caderina s'associa a major capacitat d'invasió tumoral, malgrat que els mecanismes moleculars no són ben coneguts.

Onder *et al*^{β3} afirma que la capacitat d'invasió i de disseminació metastàsica per la pèrdua d'E-caderina, no es deu a la simple disrupció del contacte intercel·lular, sinó a la inducció del fenomen de transició epitelial-mesenquimal i a l'activació de múltiples factors de transcripció.

La majoria d'estudis, analitzen la pèrdua de la seva expressió en membrana, la qual cosa es relaciona amb el fenomen de transició epitelial-mesenquimal (EMT), el qual comporta la pèrdua progressiva de les característiques de les cèl·lules epitelials que adopten un fenotip tipus mesenquimal més agressiu.

Per contra, nosaltres avaluem la localització anòmala d'E-caderina en el nucli cel·lular, sustentant les bases d'un nou mecanisme oncogènic associat al fenomen de la proteòlisis intracel·lular d'E-caderina descrit per Céspedes *et al*⁶⁰ en el model animal. La proteòlisis comporta l'escissió del complex caderina-catenina i conseqüentment, es produeix l'activació de la via de senyalització Wnt/ β -catenina, la qual es considera d'elevat potencial oncogènic⁵¹.

En l'estudi del model de càncer colorectal animal, s'objectivà que els focus de carcinomatosis amb major quantitat d'E-caderina proteolitzada i translocada al nucli contenien igualment nivells augmentats de la proteasa PS1. D'aquí es postula que seria el medi tumoral el que condicionaria l'activitat proteolítica de PS1, el qual dependria de l'òrgan infiltrat.

La consistència del nostre estudi es basa per una banda, en l'anàlisi de l'expressió de l'E-caderina en mostres de metàstasis de càncer colorectal humanes i no en el tumor primari i per altra, la realització d'aquest amb una *n* considerable (242 pacients humans) i amb llarg període de seguiment evolutiu dels pacients (98 mesos de mediana).

Aportem conclusions que creiem que amplien i reforcen el publicat fins ara, ja que concloem que, la presència d'E-caderina nuclear en les mostres de MHCCR, la qual cosa comporta la pèrdua de la seva funció i l'activació de vies de senyalització cel·lular oncogèniques, s'associa a pitjor pronòstic en quant a supervivència lliure de malaltia, supervivència global i major risc de recurrència després d'una intervenció R0 per metàstasis hepàtiques d'origen colorectal ($p < 0.001$).

Així, els nostres resultats validen la utilitat de l'estudi de l'expressió de l'E-caderina per a conèixer millor el pronòstic dels pacients afectes de carcinoma colorectal i carcinoma colorectal metastàtic i poder seleccionar aquells casos amb fenotips més agressius no detectats amb el sistema d'estadiatge i factors pronòstics actuals, per tal d'oferir-los un seguiment estricte més personalitzat.

Malgrat tot, ens trobem en una fase inicial i és necessari prosseguir els estudis per conèixer primer de tot, quins són els factors afavoridors de la proteòlisi d'E-caderina i, en segon lloc, els mecanismes moleculars que deriven de la seva conseqüent localització nuclear.

Així, per arribar a l'aplicació en la pràctica clínica d'aquests resultats és imprescindible una investigació futura molt més exhaustiva.

6. CONCLUSIONS

6. CONCLUSIONS

1. La presència d'E-caderina nuclear en les mostres de MHCCR, s'associa a pitjor pronòstic en quant a supervivència global, supervivència lliure de malaltia i major risc de recurrència després d'una primera intervenció curativa per MHCCR ($p < 0.001$). La seva determinació permetria detectar fenotips carcinogènics més agressius no identificats amb el sistema d'estadiatge existent a l'actualitat.
2. L'edat, l'afectació ganglionar (N1 i 2), la presència d'invasió perineural, el nombre de metàstasis ≥ 3 i la presència d'E-caderina nuclear, són factors de risc independents de pitjor supervivència global. Igualment, les quatre darreres variables coincideixen com a factors de risc independents predictius de recurrència de la malaltia després d'una primera cirurgia per MHCCR.
3. Dos terços dels pacients intervinguts d'una primera cirurgia de metàstasis hepàtiques d'origen colorectal presenten recidiva, essent la localització novament hepàtica la més freqüent, seguida de la recurrència en múltiples localitzacions.
4. D'entre el total de pacients que presenten recurrència després d'una cirurgia de MHCCR, la localització pulmonar és la de millor pronòstic, amb una major supervivència lliure de malaltia i major supervivència global, pel que cal considerar el tractament quirúrgic d'aquests pacients sempre que sigui possible (cirurgia curativa R0 i pacient operable).

7. BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

- ¹ Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. *Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012*. Eur J Cancer 2013; 49: 1374-1403
- ² European Colorectal Cancer Screening Guidelines Working Group. Von Karsa L, Patnick J, Segnan N, Atkin W, Halloran S, Lansdorp-Vogelaar I, et al. *European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis: overview and introduction to the full supplement publication*. Endoscopy. 2013; 45: 51-9
- ³ <http://www.cancerresearchuk.org/cancer> [accès septembre 2014]
- ⁴ Gordon PH, Nivatvongs S. *Principles and practice of surgery for the colon, rectum and anus*. Ed. Informa Healthcare. 2007 (3th ed.)
- ⁵ Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston. Tratado de Cirugía. Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna*. Ed. Elsevier. 2005 (17^a ed.)
- ⁶ Corman ML, Vendeheimer MC, Collier JA. *Colorectal carcinoma: a decade of experience at the Lahey Clinic*. Dis Colon Rectum. 1979; 22: 477-479
- ⁷ Munkholm P. *Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease*. Aliment Pharmacol Ther. 2003; 18: 1-5
- ⁸ Slattery ML, Sorenson AW, Ford MH. *Dietary calcium intake as a mitigation factor in colon cancer*. Am J Epidemiol. 1988; 128: 504-514
- ⁹ Fearon ER, Vogelstein B. *A genetic model for colorectal tumorigenesis*. Cell. 1990; 61: 759-767
- ¹⁰ Allen JI. *Molecular biology of colon polyps and colon cancer*. Semin Surg Oncol. 1995; 11: 399-405
- ¹¹ Peltomaki P. *Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer*. J Clin Oncol. 2003; 21: 1174-1179
- ¹² Gutman M, Fidler IJ. *Biology of human colon cancer metastasis*. World J Surg. 1995; 19: 226-234

- ¹³ Morson BC, Dawson IMP. *Gastrointestinal Pathology*. 4th Ed. Malden Oxford: Blackwell Science. 2003
- ¹⁴ Zetter BR. *Angiogenesis and tumor metastasis*. Annu Rev Med. 1998; 49: 407-424
- ¹⁵ Stacker SA, Baldwin ME, Achen MG. *The role of tumor lymphangiogenesis in metastatic spread*. Faseb J. 2002; 16: 922-934
- ¹⁶ Larcher F, Murillas R, Bolontrade M, Conti CJ, Jorcano JL. *VEGF/VPF overexpression in skin of transgenic mice induces angiogenesis, vascular hyperpermeability and accelerated tumor development*. Oncogene. 1998; 17: 303-311
- ¹⁷ Joyce JA, Pollard JW. *Microenvironmental regulation of metastasis*. Nat Rev Cancer. 2009; 9: 239-252
- ¹⁸ Lu P, Weaver VM, Werb Z. *The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression*. J Cell Biol 2012; 196: 395–406
- ¹⁹ Naba A, Clauser KR, Whittaker CA, Carr SA, Tanabe KK, Hynes RO. *Extracellular matrix signatures of human primary metastatic colon cancers and their metastasis to liver*. BMC Cancer . 2014; 14: 518
- ²⁰ Zetter BR. *Angiogenesis and tumor metastasis*. Annu Rev Med. 1998 ;49: 407-424
- ²¹ Verhoef C, Van der Pool A, Nuyttens J, Planting A, Eggermont M, De Wilt J. *The “liver first approach” for patients with locally advanced rectal cancer and synchronous liver metastases*. Dis Colon Rectum. 2009; 52: 23-30
- ²² Jaeck D, Bachellier P, Guiguet M, et al. *Long-term survival following resection of colorectal metastases*. Br J Surg. 1997; 84: 977-80
- ²³ Casanova D, Figueras J, Pardo F. *Guía Clínica de la AEC: Cirugía Hepática*. Editorial Arán;2004.
- ²⁴ Van Custem E, Nordlinger B, Cervantes A: ESMO Guidelines Working Group. *Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment*. Ann Oncol. 2010; 21: 93-97

- ²⁵ Adam R, Delvart V, Pascal G, Valeanu A, Castaing D, Azoulay D, Giacchetti S, Paule B, Kunstlinger F, Ghémard O, Levi F, Bismuth H. *Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy*. Ann Surg. 2004; 240: 644-658
- ²⁶ Adam R, Miller R, Pitombo M, Wicherts DA, Haas RJ, Bitsakou G, Aloia T. *Two-stage hepatectomy approach for initially unresectable colorectal hepatic metastases*. Surg Oncol Clin N Am. 2007; 16: 525-536
- ²⁷ Hourwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. *Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil and Leucovorin for metastatic colorectal cancer*. N Eng J Med. 2004; 350: 2335-42
- ²⁸ Garden OJ, Rees M, Poston GJ, Mirza D, Saunders M, Ledermann J. et al. *Guidelines for resection of colorectal liver metastases*. Gut. 2006; 55: 1-8.
- ²⁹ Tanaka K, Shimada H, Matsuo K, Ueda M, Endo I, Togo S. *Remanent liver regeneration after two-stage hepatectomy for multiple bilobar colorectal metastasis*. Eur J Surg Oncol. 2007; 33: 329-335
- ³⁰ Castaing D, Adam R, Azoulay D. *Chirurgie de foie et de l'hypertension portale*. Ed. Masson. 2006
- ³¹ Jarnagin WR, Gonen M, Fong Y, DeMatteo RP, Ben-Porat L, Little S, et al. *Improvement in perioperative outcome after hepatic resection: Analysis of 1803 consecutive cases over the past decade*. Ann Surg. 2002; 236: 397-406
- ³² Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P, et al. *Irinotecan combined with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomized trial*. Lancet. 2000; 355: 1041-7
- ³³ De Gramont A, Figier A, Seymour M, Homérin M, Hmissi A, Cassidy J, et al. *Leucovorin and Fluorouracil with or without oxaliplatin as first line treatment in advanced colorectal cancer*. J Clin Oncol. 2000; 18: 2938-47

- ³⁴ Adam R, Bhangui P, Poston G, Mirza D, Nuzzo G, Barroso E, Ijzermans J et al. *Is perioperative chemotherapy useful for solitary, metachronous, colorectal liver metastases?*. *Ann Surg.* 2010; 252: 774-787
- ³⁵ Adam R, Hoti E, Bredt LC. *Evolution of neoadjuvant therapy for extended hepatic metastasis-Have we reached our (non-resectable) limit?*. *J Surg Oncol.* 2010; 102: 922-931
- ³⁶ D'Angelica M, Kornprat P, Gonen M, DeMatteo R, Fong Y, Blumgart L, et al. *Effect on outcome of recurrence patterns after hepatectomy for colorectal metastases.* *Ann Surg Oncol.* 2011; 18(4): 1096-103
- ³⁷ Bengtsson G, Carlsson G, Hafström L, Jönsson PE. *Natural history of patients with untreated liver metastases from colorectal cancer.* *Am J Surg* 1981; 141: 586-589
- ³⁸ <http://www.livermetsurvey.org> [accès juliol 2014]
- ³⁹ Gregoire E, Hoti E, Gorden DL, de la Serna S, Pascal G, Azoulay D. *Utility or futility of prognostic scoring systems for colorectal liver metastases in an era of advanced multimodal therapy.* *EJSO.* 2010; 36: 568-574
- ⁴⁰ Edge SB, Compton CC. *The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM.* *Ann Surg Oncol.* 2010; 17(6): 1471-1474
- ⁴¹ Berx G, Van Roy F. *Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer.* *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009; 1: a003129
- ⁴² Strumane K, Berx G, Van Roy F. *Cadherins in cancer.* *Handb Exp Pharmacol.* 2004; 165: 69-103
- ⁴³ Gumbiner BM. *Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis.* *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005; 6: 662-34
- ⁴⁴ Qian X, Karpova T, Sheppard AM, McNally J, Lowy DR. *E-cadherin mediated adhesion inhibits ligand-dependent activation of diverse receptor tyrosine kinases.* *EMBO J.* 2004; 23: 1739-48
- ⁴⁵ Nelson WJ, Nusse R. *Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways.* *Science.* 2004; 303: 1483-7

- ⁴⁶ Christiansen JJ, Rajasekaran AK. *Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis*. Cancer Res. 2006; 66: 8319-26
- ⁴⁷ Yilmaz M, Christofori G. *Mechanisms of motility in metastasizing cells*. Mol Cancer Res. 2010; 8: 629-42
- ⁴⁸ Chetty R, Serra S. *Nuclear E-cadherin immunoexpression. From biology to potential applications in diagnostic pathology*. Adv Anat Pathol. 2008; 15: 234-240
- ⁴⁹ Putzke AP, Ventura AP, Bailey AM, Akture C, Opoku-Ansah J, Celiktaş M, et al. *Metastatic progression of prostate cancer and E-cadherin regulation by zeb1 and SRC family kinases*. Am J Pathol. 2011; 179(1): 400-10
- ⁵⁰ David JM, Rajasekaran AK. *Dishonorable discharge: the oncogenic roles of cleaved E-cadherin fragments*. Cancer Res. 2012; 72: 2917-23
- ⁵¹ Ferber EC, Kajita M, Wadlow A, Tobiansky L, Niessen C, Ariga H, Daniel J, Fujita Y. *A role for the cleaved cytoplasmic domain of E-cadherin in the nucleus*. J Biol Chem. 2008; 283(19):12691-700
- ⁵² Reya T, Clevers H. *Wnt signalling in stem cells and cancer*. Nature. 2005; 434:843-50
- ⁵³ Salahshor S, Naidoo R, Serra S, Shih W, Tsao MS, Chetty R, Woodgett JR. *Frequent accumulation of nuclear E-cadherin and alterations in the Wnt signaling pathway in esophageal squamous cell carcinomas*. Mod Pathol. 2008; 21: 271-81
- ⁵⁴ Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G. *A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma*. Nature. 1998; 392: 190-193
- ⁵⁵ Dorudi S, Sheffield JP, Poulosom R, Northover JM, Hart IR. *E-cadherin expression in colorectal cancer. An immunocytochemical and in situ hybridization study*. Am J Pathol. 1993; 142: 981-986
- ⁵⁶ Mohri Y. *Prognostic significance of E-cadherin expression in human colorectal cancer tissue*. Surg Today. 1997; 27: 606-612

- ⁵⁷ Elzagheid A, Algars A, Bendardaf R, Lamlum H, Ristamaki R, Collan Y, Syrjanen K, Pyrhonen S. *E-cadherin expression pattern in primary colorectal carcinomas and their metastases reflects disease outcome*. World J Gastroenterol. 2006; 21: 4304-9
- ⁵⁸ Elzagheid A, Buhmeida A, Laato M, El-Faitori O, Syrjänen K, Collan Y, Pyrhönen S. *Loss of E-cadherin expression predicts disease recurrence and shorter survival in colorectal carcinoma*. Apmis. 2012; 120: 539-548
- ⁵⁹ Céspedes MV, Espina C, García-Cabezas MA, Trias M, Boluda A, Gómez del Pulgar MT, et al. *Orthotopic microinjection of human colon cancer cells in nude mice induces tumor foci in all clinically relevant metastatic sites*. Am J Pathol. 2007; 170: 1077-85
- ⁶⁰ Céspedes MV, Larriba MJ, Pavón MA, Alamo P, Casanova I, Parreño M, et al. *Site-dependent E-cadherin cleavage and nuclear translocation in a metastatic colorectal cancer model*. Am J Pathol. 2010; 177: 2067-79
- ⁶¹ Schemper M, Smith TL. *A note on quantifying follow-up in studies of failure time*. Control Clin Trials. 1996; 17(4): 343-6
- ⁶² Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, Thun MJ. *Global Cancer Facts&Figures 2007*. Atlanta, GA: American Cancer Society. 2007
- ⁶³ Van Cutsem E, Nordlinger B, Cervantes A. *Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment*. Ann Oncol. 2010; 5: 93-97
- ⁶⁴ Gregoire E, Hoti E, Gorden DL, de la Serna S, Pascal G, Azoulay D. *Utility or futility of prognostic scoring systems for colorectal liver metastases in an era of advanced multimodal therapy*. EJSO. 2010; 36: 568-574
- ⁶⁵ Bredt LC, Rachid AF. *Predictors of recurrence after a first hepatectomy for colorectal cancer liver metastases: a retrospective analysis*. World J Surg Oncol. 2014; 20;1:391
- ⁶⁶ Wicherts DA, de Haas RJ, Salloum C, Andreani P, Pascal G, Sotirov D and Adam R. *Repeat hepatectomy for recurrent colorectal metastases*. Br J Surg. 2013; 100(6):808-18

- ⁶⁷ Chan K, Chiang J, Lee C, Yu M, Lee W, Chen J, et al. *Outcomes of resection for colorectal cancer hepatic metastases stratified by evolving eras of treatment.* World J Surg Oncol. 2011; 9: 174
- ⁶⁸ Topal B, Kaufman L, Aerts R, Penninckx F. *Patterns of failure following curative resection of colorectal liver metastases.* Eur J Surg Oncol. 2003; 29(3): 248-53
- ⁶⁹ Bozzetti F, Doci R, Bignami P, Morabito A, Gennari L. *Patterns of failure following surgical resection of colorectal cancer liver metastases. Rationale for a multimodal approach.* Ann Surg. 1987; 205(3): 264-70
- ⁷⁰ De Jong MC, Pulitano C, Ribero D, Strub J, Mentha G, Schulick RD, et al. *Rates and patterns of recurrence following curative intent surgery for colorectal liver metastases: an international multi-institutional analysis of 1669 patients.* Ann Surg. 2009; 250(3): 440-8
- ⁷¹ Adam R, Bismuth H, Castaing D, Waechter F, Navarro F, Abascal A, et al. *Repeat hepatectomy for colorectal liver metastases.* Ann Surg. 1997; 225(1): 51-60
- ⁷² Ahmad A, Chen S, Bilchik A. *Role of repeated hepatectomy in the multimodal treatment of hepatic colorectal metastases.* Arch Surg. 2007; 142: 526-32
- ⁷³ Sugawara G, Iosgai M, Kaneoka Y, Suzuki M, Yamaguchi A. *Repeat hepatectomy for recurrent colorectal metastases.* Surg Today. 2005; 35: 282-289
- ⁷⁴ Prenafeta N, Artigas V, Gómez G, Martínez E, Belda J. *Factores pronósticos de las metástasis pulmonares de cáncer colorrectal.* Cir Esp. 2012; 90(3): 169-75
- ⁷⁵ Saito Y, Omiya H, Kohno K, Kobayashi T, Itoi K, Teramachi M. *Pulmonary metastasectomy for 165 patients with colorectal carcinoma: A prognosis assessment.* J Thorac Cardiovasc Surg. 2002; 124: 1007-13

- ⁷⁶ Fong Y, Fortner J, Sun R, Brennan MF, Blumgart LH. *Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases*. Ann Surg. 1999; 230: 309-30
- ⁷⁷ Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Hatsuse K, Fujimoto H, Hase K. *Predictors of extrahepatic recurrence after resection of colorectal liver metastases*. Br J Surg. 2004; 91: 327-33
- ⁷⁸ Yamada H, Kondo S, Okushiba S, Morikawa T, Katoh H. *Analysis of predictive factors for recurrence after hepatectomy for colorectal liver metastases*. World J Surg. 2001; 25(9): 1129-33
- ⁷⁹ Dexiang Z, Li R, Ye W, Haifu W, Yunshi Z, Qinghai Y, Shenyong Z, Bo X, Li L, Xiangou P, Haohao L, Lechi Y, Tianshu L, Jia F, Xinyu Q, Jianmin X. *Outcome of patients with colorectal liver metastasis: analysis of 1,613 consecutive cases*. Ann Surg Oncol. 2012; 19: 2860-2868
- ⁸⁰ Hayashi M, Inoue Y, Komeda K, Shimizu T, Asakuma M, Hirokawa F, Miyamoto Y, Okuda J, Takeshita A, Shibayama Y, Tanigawa N. *Clinicopathological analysis of recurrence patterns and prognostic factors for survival after hepatectomy for colorectal liver metastasis*. BMC Surg. 2010; 27:10-27
- ⁸¹ Nuzzo G, Giuliane F, ardito F, Vellone M, Giovannini I, Federico B, Vecchio FM. *Influence of surgical margin on type of recurrence after liver resection for colorectal metastasis: a single-center experience*. Surgery. 2008; 143: 384-393
- ⁸² Are C, Gonen M, Zazzali K, Dematteo RP, Jarnagin WR, Fong Y, Blumgart LH, D'Angelica M. *The impact of margins on outcome after hepatic resection for colorectal metastasis*. Ann Surg. 2007; 246: 295-300
- ⁸³ Bodingbauer M, Tamandl D, Schmid K, Plank C, Schima W, Gruenberger T. *Size of surgical margin does not influence recurrence rates after curative liver resection for colorectal cancer liver metastasis*. Br J Surg 2007; 94: 1133-1138
- ⁸⁴ Liebeg C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, et al. *Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer*. J Clin Oncol. 2009; 27: 5131-5137

- ⁸⁵ Spelt L, Andersson B, Nilsson J, Andersson R. *Prognostic models for outcome following liver resection for colorectal cancer metastases: A systematic review*. Eur J Surg Oncol. 2012; 38(1): 16-24
- ⁸⁶ Aranha O, Benson AB. *Adjuvant therapy for colon cancer*. Curr Gastroenterol Rep. 2007; 9: 415-21
- ⁸⁷ Sung CO, Park CK, Kim SH. *Classification of epithelial to mesenchymal transition phenotypes in esophageal squamous cell carcinoma is strongly associated with patient prognosis*. Mod Pathol. 2011; 24: 1060-1068
- ⁸⁸ Ohishi Y, Kurihara S, Takeuchi T, Aman M, Kaku T, Kobayashi H, Wake N, Oda Y. *E-cadherin nuclear staining is useful for the diagnosis of ovarian adult granulosa cell tumor*. Hum Pathol. 2012; 43: 808-817
- ⁸⁹ Bates RC, Mercurio AM. *The epithelial-mesenchymal transition (EMT) and colorectal cancer progression*. Cancer Biol Ther. 2005; 4: 365-370
- ⁹⁰ Sipos F, Galamb O. *Epithelial-to-mesenchymal and mesenchymal-to-epithelial transitions in the colon*. World J Gastroenterol. 2012; 18: 601-608
- ⁹¹ Chen X, Wang Y, Xia H, Wang Q, Jiang X, Lin Z, Ma Y, Yang Y, Hu M. *Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis*. Mol Biol Rep. 2012; 39: 6707-14
- ⁹² Yun JA, Kim SH, Hong H, Yun SH, Kim HC, Chun HK, Cho YB, Lee WY. *Loss of E-cadherin expression is associated with poor prognosis in stage III colorectal cancer*. Oncol. 2014; 86: 318-328
- ⁹³ Onder T, Gupta P, Mani S, Yang J, Lander E, Weinberg R. *Loss of E-Cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways*. Cancer Res. 2008; 68: 3645-3654
- ⁹⁴ Colon cancer and rectal cancer. <http://www.nccn.org> [accès desembre 2014]

8. ANNEXES

8.1. Classificació TNM de les neoplàsies colorectals⁹⁴

TUMOR PRIMARI	
Tx	Primari desconegut
T0	No presència de tumor primari
Tis	Carcinoma in situ: invasió de la làmina pròpia
T1	Tumor envaeix la submucosa
T2	Tumor envaeix la muscular pròpia
T3	Tumor s'estén a muscular pròpia
T4a	Tumor afecta peritoneu visceral
T4b	Tumor envaeix òrgans veïns
GANGLIS	
Nx	Ganglis desconeguts
N0	No ganglis envaïts
N1	1-3 ganglis regionals afectats
N1a	1 gangli regional afectat
N1b	2-3 ganglis regionals afectats
N1c	Implants a subserosa, mesenteri o teixit pericorectal sense ganglis afectats
N2	4 ganglis o més afectats
N2a	4-6 ganglis afectats
N2b	7 o més ganglis afectats
METÀSTASIS	
M0	No metàstasis
M1	Metàstasis
M1a	Metàstasi a 1 òrgan
M1b	Metàstasi a més d'1 òrgan

8.2. Estadiatge de les neoplàsies colorectals⁹⁴

Estadi	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-4 ^a	N1/N1c	M0
	T2-3	N2a	M0
	T1-2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-4a	N2b	M0
	T4b	N1-2	M0
IVA	T	N	M1a
IVB	T	N	M1b

.
