UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Concentración postoperatoria de factor de crecimiento endotelial vascular en suero como factor predictivo de recurrencia tras cirugía curativa de cáncer de colon. Estudio multicéntrico

Clara Téllez Marquès

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=es

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license: https://creativecommons.org/licenses/?lang=en

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

Concentración postoperatoria de factor de crecimiento endotelial vascular en suero como factor predictivo de recurrencia tras cirugía curativa de cáncer de colon. Estudio multicéntrico

Doctoranda

Clara Téllez Marquès

Directores

Marta Pascual Damieta

Miguel Pera Román

Tutor

Luís Grande Posa

Programa de Doctorat en Cirurgia i Ciències Morfològiques

Departament de Cirurgia

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2025

A Juanjo, por tu apoyo incondicional. T’

AGRADECIMIENTOS

A Marta Pascual, por no haberte cansado nunca de animarme durante este proyecto y por haber estado a mi lado en todo momento. Por tu implicación y paciencia infinitas revisando conmigo, una y otra vez, cada versión de esta tesis. Y gracias también por confiar en mí y haberme dado la oportunidad de formar parte del equipo.

A Miguel Pera, por tus comentarios, siempre tan acertados.

A Luís Grande, por facilitarme siempre todo lo que estaba en tu mano.

A tota la Secció de Cirurgia Colorectal de l'Hospital del Mar —Sandra Alonso, Sílvia Salvans, Marta Jiménez, Blanca Montcusí i Marta Pascual—. Ha estat un goig formar part d'un equip tant potent, tant a nivell quirúrgic com humà. Ha estat un orgull i vos agraeixo infinitament tot el que m'heu ensenyat, dins i fora de quiròfan. Sou molt grans! Gràcies per tots els ànims, el suport i els consells. I gràcies també a na Montse Bonilla pel seu suport constant i sincer.

En especial, Sandra, tu ja ho saps, però gràcies infinites per tot: ets la definició d'una Mentora en majúscules per jo.

A n'Olga Morató, per tota la feina feta a l'inici d'aquest projecte. Jo només vaig haver de seguir el teu fil: gràcies per deixar-ho tot tan ben encaminat.

A todos los colaboradores de este proyecto, por su esfuerzo, compromiso y generosidad. Sin vosotros, nada de esto habría sido posible.

A n'en Xavier Mayol, per haver tingut la paciència d'ensenyar-me totes les tècniques necessàries al laboratori, i per estar sempre disposat a ajudar-me amb el que he necessitat.

A tots els companys de l'Hospital del Mar, sense vosaltres no seria la cirurgiana que sóc avui.

Papá, mamà, gràcies per a haver-me permès arribar on soc. Tenc molta sort de tenir-vos. A na Maria, per ser la millor germana que es pot tenir. Mingo, Sé, Ray, nebots i

nebodes, i a tota la família en general, que tenc la sort de tenir-la molt nombrosa. Vos estim molt! Sé que no sempre hi soc, i açò me pesa moltes vegades, però gràcies per fer-me sentir sempre tant estimada.

A ses meues amigues, per ajudar-me a veure que hi ha més vida fora de la cirurgia. En especial, a na Clara, per sempre ser, com ella diu, un espai segur.

Y muy especialmente a ti, Juanjo. Por tu paciencia, comprensión y empatía, incluso cuando esta tesis sacaba lo peor de mí. Gracias por tus clases de estadística. Gracias por transmitirme tus valores en la ciencia y por todas tus revisiones. Gracias por ser siempre tan curioso sobre mi mundo. Gracias por volver y por ayudarme a verme con tus ojos. Gracias infinitas por todo el amor que me das. Te quiero.

ABREVIATURAS

4DPO	Cuarto día postoperatorio
ADAMTS1	Metaloproteinasa con motivos de trombospondina 1
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AECP	Asociación Española de Coloproctología
AJCC	*American Joint Committee on Cancer*
AKT	Proteína quinasa B
AMPK	Quinasa activada por AMP
BAD	Promotor de muerte asociado a Bcl-2
BRAF	v-raf murino sarcoma viral oncogene homolog B1; oncogén de la vía MAPK
CC	Cáncer de colon
CCD	Dispositivo de carga acoplada
CCL2	Quimiocina ligando 2 de la familia CC
CCL3	Quimiocina ligando 3 de la familia CC
CCR	Cáncer colorrectal
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
CIMP	Fenotipo metilador de islas CpG
CIN	Inestabilidad cromosómica
CLR	*Crohn's-like lymphoid reaction*,
CXCL16	Quimiocina C-X-C ligando 16
CXCL4	Quimiocina C-X-C ligando 4
CXCL8	Quimiocina C-X-C ligando 8
DAG	Diacilglicerol
DCC	Gen delecionado en cáncer colorrectal
DE	Desviación estándar
Dll4	Delta-like 4
DMAE	Degeneración macular asociada a la edad
DPPIV	Dipeptidil peptidasa IV
ECM	Matriz extracelular
EG-VEGF	Factor de crecimiento derivado de glándulas endocrinas
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EOCRC	*Early-onset colorrectal cancer*
ERAS	Programas de Recuperación Intensificada después de la Cirugía
ERK	Quinasa regulada por señales extracelulares
ESMO	Sociedad Europea de Oncología Médica
FAK	Quinasa de adhesión focal
FAP	Poliposis adenomatosa familiar
FDR	Tasa de descubrimiento falso
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FGFR	Receptor para factor de crecimiento de fibroblastos ácido
FU	Fluoropirimidinas
GDNF	Factor neurotrófico derivado de la glía
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
HB-EGF	Factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina

HGF	Factor de crecimiento de hepatocitos
HIF	Factor inducible por hipoxia
HIPEC	Quimioterapia intraperitoneal hipertérmica
HR	Hazard Ratio
HRP	Peroxidasa de rábano picante
HSP27	Proteína de choque térmico 27
IC 95	Intérvalo de confianza del 95%
IGFBP	Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina
IL	Interleucina
IP3	Inositol trisfosfato
IPN	Invasión perineural
KGF	Factor de crecimiento de queratinocitos
KIT	Receptor tirosina quinasa
KRAS	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LAP	Proteína asociada a latencia
LOPD	Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal
MAPK	Cinasa activada por mitógenos
MCP	Proteína inflamatoria macrófaga
MEC	Matriz extracelular
MEK	Quinasa activada por mitógenos de tipo ERK
MIP	Proteína inflamatoria macrófaga
MMP	Metaloproteinasa de matriz
MMR	Errores de apareamiento
MSI	Inestabilidad de microsatélites
MSS	Estabilidad de microsatélites
NOS	*Not otherwise specified,* no especificado de otro modo
NRAS	*Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog*
NRG1	Neuregulina 1
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	*Odds Ratio,* razón de probabilidades
PAI	Inhibidor del activador del plasminógeno
PD-ECGF	Factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas
PD-L1	Ligando 1 de muerte programada
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDGFR	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaqueta
PEDF	Factor derivado de la pigmentación epitelial
PF4	Factor 4 derivado de plaquetas
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato
PRBB	Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona
PSM	Emparejamiento por puntuación de propensión
PTEN	Fosfatasa y homóloga de tensina
PTK2	Tirosina-proteína quinasa 2
PTX3	Pentraxina 3
RIQ	Rango intercuartílico
ROC	Curva de características operativas del receptor
RR	Riesgo relativo

SCC	Societat Catalana de Cirurgia
SG	Supervivencia global
SLE	Superviviencia libre de enfermedad
SRC	Protooncoproteína Src
SSP	Lesiones serradas sésiles
TC	Tomografía computarizada
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta
TIMP	Inhibidor tisular de metaloproteinasas
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
TNM	Sistema de clasificación tumoral
TP53	Gen que codifica la proteína supresora tumoral p53
TSA	Adenomas serrados tradicionales
TSP	Trombospondina
UICC	*Union for International Cancer Control*
uPA	Uroquinasa plasminógeno activadora
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VEGFR	Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular
VRAP	Proteína asociada al receptor de VEGF

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Clasificación TNM y estadios según la 8ª edición.....44
Tabla 2. Características asistenciales de los hospitales participantes en el estudio……81
Tabla 3. Clasificación funcional de las proteínas analizadas mediante el array angiogénico.....90
Tabla 4. Centros de origen de los pacientes incluidos en el estudio.....99
Tabla 5. Características demográficas, clínicas y patológicas de la cohorte estudiada.....100
Tabla 6. Concentraciones séricas de VEGF en el 4DPO según variables clínicas y quirúrgicas.....104
Tabla 7. Análisis univariado y multivariado de los factores clínico-patológicos asociados a la supervivencia libre de enfermedad.....107
Tabla 8. Comparación de las características demográficas y clínicas entre la cohorte histórica y la cohorte actual.....108
Tabla 9. Comparación de variables clínicas tras el emparejamiento por puntuación de propensión.....110
Tabla 10. Características clínicas y demográficas de los sujetos incluidos en el análisis exploratorio de biomarcadores angiogénicos.....113
Tabla 11. Comparación de niveles séricos de 55 proteínas angiogénicas según la presencia o ausencia de recurrencia tumoral.....116
Tabla 12. Distribución de los niveles de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 según estadio tumoral.....120
Tabla 13. Valores p del análisis de los niveles de intensidad relativa de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 según recurrencia tumoral y tratamiento adyuvante con quimioterapia.....120

Figura 1. Incidencia (azul) y mortalidad (rojo) mundial de neoplasias……...34
Figura 2. Distribución mundial de la incidencia (A) y mortalidad (B) por CC en 2022…..35
Figura 3. Dinámica poblacional del CC en España……36
Figura 4: Representación esquemática de la secuencia adenoma-carcinoma en el CCR……..38
Figura 5. Frecuencia de localización de los tumores de colon……39
Figura 6. Tipos de resecciones quirúrgicas según la localización del tumor……43
Figura 7. Tipos de resección quirúrgica para tumores del colon transverso y del ángulo esplénico……43
Figura 8. Recomendaciones para el tratamiento adyuvante en pacientes con CC estadio II y III……46
Figura 9. Proceso de activación de la angiogénesis……60
Figura 10. Cronología histórica del descubrimiento de VEGF……62
Figura 11. Representación esquemática de los miembros de la familia VEGF……63
Figura 12. Vía canónica de VEGF-A/VEGFR-2……64
Figura 13. Representación esquemática del ensayo ELISA tipo *sándwich*……..85
Figura 14. Resumen gráfico del diseño y metodología del estudio……86
Figura 15. Representación esquemática del funcionamiento del array y ejemplo de una membrana ya revelada……92
Figura 16. Diagrama de flujo de los pacientes participantes en el estudio……98
Figura 17. Análisis de supervivencia para la cohorte completa (N = 255)……..102
Figura 18. Análisis de supervivencia según los niveles séricos de VEGF en el 4DPO.106
Figura 19. Diagrama de flujo de la selección de pacientes……...112
Figura 20. Correlación entre la concentración sérica de VEGF y la señal relativa obtenida mediante el array multiplexado……115
Figura 21. *Heatmap* de intensidad relativa de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF en función de la presencia o ausencia de recurrencia tumoral……..119
Figura 22. Distribución de la intensidad media de pixel de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF en el 4DPO……..121
Figura 23. Análisis de supervivencia libre de enfermedad según los niveles de Serpin B5……..122
Figura 24. Análisis multivariado de riesgo de recurrencia tumoral incluyendo la expresión normalizada de Serpin B5……123

ÍNDICE

ÍNDICE

RESUMEN **25**

ABSTRACT **29**

1. INTRODUCCIÓN **34**

1.1. Epidemiología del cáncer de colon **34**

1.2. Dinámica poblacional del cáncer de colon **35**

1.3. Etiología del cáncer de colon **37**

1.4. Patogenia del cáncer de colon **37**

1.5. Características clinicopatológicas, extensión local y diseminación del cáncer de colon **39**
1.5.1. Características clínicas 40
1.5.2. Características patológicas 40
1.5.3. Extensión local y diseminación a distancia del cáncer de colon 41

1.6. Tratamiento quirúrgico del cáncer de colon **42**

1.7. Clasificación de los tumores en función del grado de extensión: Sistema TNM **44**

1.8. Tratamiento adyuvante en el cáncer de colon **45**

1.9. Recurrencia del cáncer de colon **46**
1.9.1. Factores pronósticos de recurrencia dependientes del tumor 47
1.9.2. Factores pronósticos de recurrencia dependientes del cirujano y de la agresión quirúrgica 54

1.10. Angiogénesis **59**
1.10.1. Proceso angiogénico fisiológico 59
1.10.2. VEGF como eje regulador de la angiogénesis 62
1.10.3. Mediadores alternativos de la angiogénesis 67

2. HIPÓTESIS **74**

2.1. Justificación **74**

3. OBJETIVOS **77**

3.1. Objetivo principal **77**

3.2. Objetivos secundarios **77**

4. MATERIAL Y MÉTODOS **80**

4.1. Estudio de validación de VEGF como biomarcador predictivo **80**

4.1.1. Diseño del estudio 80
4.1.2. Sujetos del estudio 80
4.1.3. Entorno del estudio 80
4.1.4. Variables y recogida de datos 81
4.1.5. Definiciones 83
4.1.6. Obtención de las muestras 83
4.1.7. Determinación de VEGF en suero 84
4.1.8. Tratamiento adyuvante y seguimiento oncológico 85
4.1.9. Análisis estadístico 86

4.2. Análisis exploratorio del perfil angiogénico mediante cuantificación multiplexada de proteínas. Estudio preliminar 88
4.2.1. Selección de las muestras 89
4.2.2. Determinación de proteínas angiogénicas mediante arrays comerciales 89
4.2.3. Métodos estadísticos aplicados 93

4.3. Gestión de muestras biológicas 94

4.4. Aspectos éticos 94

4.5. Aspectos de financiación 95

5. RESULTADOS 98

5.1. Resultados del estudio de validación de VEGF 98
5.1.1. Reclutamiento e inclusión de pacientes 98
5.1.2. Características demográficas de los pacientes, del tumor y resultados perioperatorios 99
5.1.3. Resultados oncológicos a largo plazo 101
5.1.4. Respuesta angiogénica postoperatoria según los valores de VEGF 103
5.1.5. Recurrencia y VEGF 104
5.1.6. Análisis univariado y multivariado 106
5.1.7. Comparación con la cohorte previa 107
5.1.8. Emparejamiento por puntuación de propensión (*propensity score matching*) 110

5.2. Resultados del análisis exploratorio del perfil angiogénico mediante cuantificación multiplexada de proteínas 112
5.2.1. Selección de la muestra 112
112
5.2.2. Correlación entre los niveles séricos de VEGF y la intensidad de señal en el array multiplexado 114
5.2.3. Análisis del panel de proteínas 115
5.2.4. Análisis de las proteínas significativas en función de la recurrencia 118
5.2.5. Análisis de las proteínas significativas en función del estadio tumoral 119
5.2.6. Análisis de las proteínas en función de la quimioterapia 120
5.2.7. Análisis univariado y multivariado 121

6. DISCUSIÓN 126

6.1. Análisis del papel de VEGF como biomarcador de recurrencia 127

6.2. Exploración de otros biomarcadores angiogénicos 135

7. CONCLUSIONES 142

8. LÍNEAS DE FUTURO 145

9. BIBLIOGRAFÍA 149

10. ANEXOS 172

10.1. CEIC del estudio de validación de VEGF 172

10.2. Documento de información para el paciente 173

10.3. Documento del consentimiento informado 175

10.4. CEIC del estudio de otras proteínas angiogénicas 176

RESUMEN

RESUMEN

Introducción: La angiogénesis juega un papel fundamental en el crecimiento tumoral y la diseminación metastásica, y su respuesta fisiológica postoperatoria puede influir en el riesgo de recurrencia. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es uno de los principales mediadores de este proceso. Un estudio unicéntrico previo de nuestro grupo identificó que las concentraciones séricas de VEGF superiores a 370 pg/mL en el cuarto día postoperatorio (4DPO) se asociaban con un riesgo cuatro veces mayor de recurrencia tumoral en pacientes con cáncer de colon (CC) operados con intención curativa. Esta tesis tiene como objetivo validar dichos hallazgos en una cohorte multicéntrica prospectiva y explorar el perfil angiogénico de estos pacientes y su impacto en la recurrencia tumoral.

Material y métodos: Se incluyeron 255 pacientes con CC localizado sometidos a cirugía con intención curativa en siete centros españoles entre 2016 y 2020 (NCT04851054). Los niveles séricos de VEGF al 4DPO se determinaron mediante ELISA y se recogieron variables demográficas, quirúrgicas y relacionadas con el tumor. Se realizó un seguimiento oncológico mínimo de 24 meses. Se estimaron las curvas de recurrencia mediante el método de Kaplan-Meier y se compararon mediante el test de log-rank. Para identificar factores asociados a la recurrencia, se aplicaron modelos de regresión de Cox. Asimismo, se utilizó el emparejamiento por puntuación de propensión (PSM) para reducir el sesgo por variables de confusión. Adicionalmente, se realizó un análisis exploratorio en una subcohorte de 60 pacientes (32 con recurrencia y 28 sin ella) seleccionados de la misma cohorte. En esta subpoblación, se analizó de forma simultánea la expresión de 55 proteínas angiogénicas mediante un array semicuantitativo comercial, comparando perfiles de expresión entre grupos y su asociación con la recurrencia

Resultados: Con una mediana de seguimiento de 34 (IC95% 33.0-35.0) meses, se observó una recurrencia tumoral en el 15,7% de los casos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de VEGF entra pacientes con y sin recurrencia, y no se validó el punto de corte de 370 pg/mL. Sin embargo, se observaron concentraciones de VEGF superiores en pacientes con cirugía abierta ($p = 0,013$) y en aquellos con complicaciones postoperatorias ($p < 0,001$), con una tendencia hacia la significación estadística en la dehiscencia de sutura ($p = 0,062$). En el análisis

exploratorio del perfil angiogénico, los pacientes con recurrencia tumoral mostraron una respuesta angiogénica inhibitoria reducida, reflejada por niveles más bajos de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF ($p < 0,05$). Serpin B5 mostró una relación más robusta ($q = 0,033$). En el análisis multivariado, Serpin B5 se identificó como factor protector independiente de recurrencia.

Conclusiones: Aunque VEGF refleja la magnitud de la agresión quirúrgica, no se validó como biomarcador predictivo de recurrencia. Nuestros hallazgos sugieren que una respuesta angiogénica inhibitoria deficiente podría tener un papel relevante en la recurrencia del cáncer de colon, subrayando la necesidad de una comprensión más profunda de los mecanismos angiogénicos implicados en la progresión tumoral.

ABSTRACT

ABSTRACT

Introduction: Angiogenesis plays a key role in tumor growth and metastatic spread, and its postoperative physiological response may influence the risk of recurrence. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the main mediators of this process. A previous single-center study conducted by our group identified that serum VEGF concentrations above 370 pg/mL on the fourth postoperative day (4POD) were associated with a fourfold increased risk of tumor recurrence in patients with colon cancer (CC) undergoing curative-intent surgery. The aim of this thesis is to validate these findings in a prospective multicenter cohort and to explore the angiogenic profile of these patients and its impact on tumor recurrence.

Material and Methods: A total of 255 patients with localized CC who underwent curative-intent surgery between 2016 and 2020 at seven Spanish centers were included (NCT04851054). Serum VEGF levels at 4POD were determined using ELISA, and demographic, surgical, and tumor-related variables were collected. A minimum oncologic follow-up of 24 months was conducted. Recurrence curves were estimated using the Kaplan-Meier method and compared using the log-rank test. Cox regression models were applied to identify factors associated with recurrence. Additionally, propensity score matching (PSM) was used to reduce confounding bias. An exploratory analysis was also performed in a subcohort of 60 patients (32 with recurrence and 28 without), selected from the same cohort. In this subgroup, the expression of 55 angiogenesis-related proteins was simultaneously analyzed using a commercial semiquantitative array, comparing expression profiles between groups and their association with recurrence.

Results: With a median follow-up of 34 months (95% CI: 33.0–35.0), tumor recurrence occurred in 15.7% of cases. No statistically significant differences were observed in VEGF levels between patients with and without recurrence, and the previously proposed cut-off point of 370 pg/mL was not validated. However, higher VEGF concentrations were observed in patients who underwent open surgery ($p = 0.013$) and in those with postoperative complications ($p < 0.001$), with a trend towards statistical significance in cases of anastomotic leakage ($p = 0.062$). In the exploratory analysis of the angiogenic profile, patients with tumor recurrence exhibited a diminished inhibitory angiogenic response, reflected by lower serum levels of Serpin B5, ADAMTS1, and GM-CSF ($p < 0.05$). Among them, Serpin B5 showed the strongest association ($q = 0.033$). In

multivariate analysis, Serpin B5 was identified as an independent protective factor against recurrence.

Conclusions: Although VEGF reflects the magnitude of surgical trauma, it was not validated as a predictive biomarker of recurrence. Our findings suggest that an impaired inhibitory angiogenic response may play a relevant role in colon cancer recurrence, highlighting the need for a deeper understanding of the angiogenic mechanisms involved in tumor progression.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Epidemiología del cáncer de colon

El cáncer de colon (CC) es la cuarta neoplasia más común, con una incidencia estimada de 14,5 casos por 100.000 habitantes. En términos de mortalidad, se posiciona como la quinta causa de muerte por cáncer, con aproximadamente 538.000 defunciones atribuibles a esta entidad **(Figura 1)**[1].

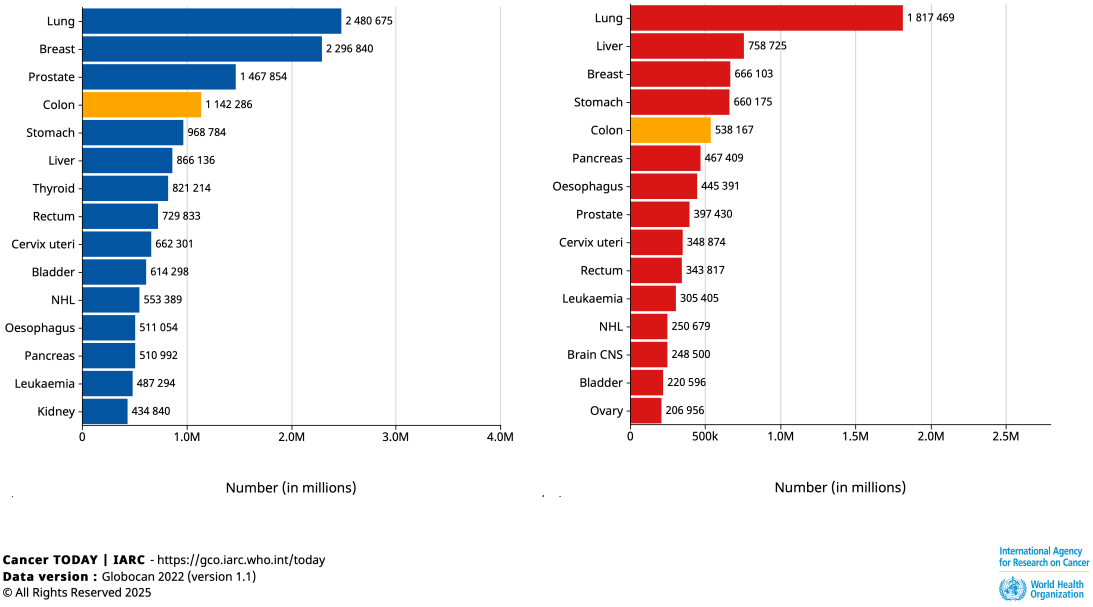
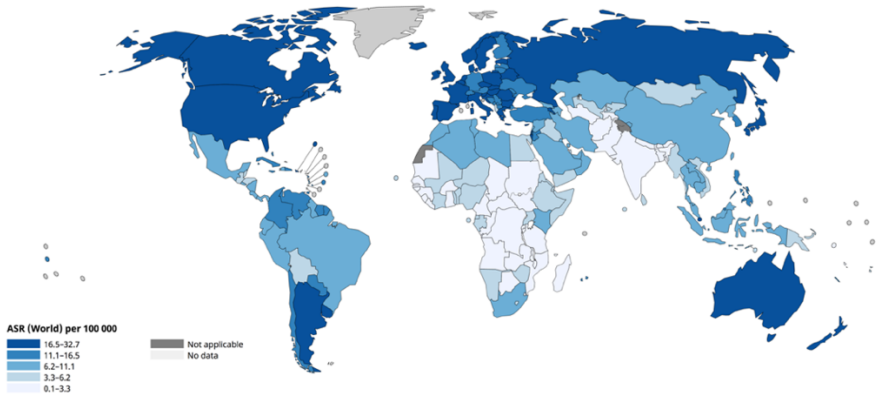


Figura 1. Incidencia (azul) y mortalidad (rojo) mundial de neoplasias. Se puede observar que el cáncer de colon ocupa el cuarto y quinto lugar respectivamente (2022). Datos en números absolutos. Fuente: https://gco.iarc.fr/en (consultado en abril de 2025).

La distribución geográfica del CC presenta una marcada heterogeneidad, con más de dos tercios de los nuevos casos y más de la mitad de las muertes concentradas en países con un desarrollo humano alto o muy alto **(Figura 2)**. En paralelo, en naciones con índices de desarrollo humano medio, se ha observado un aumento acelerado de la incidencia, reflejo de la llamada transición oncológica u occidentalización[1], caracterizada por la sustitución progresiva de los cánceres vinculados a enfermedades infecciosas por neoplasias asociadas a factores de riesgo modificables[2,3].

A)



B)

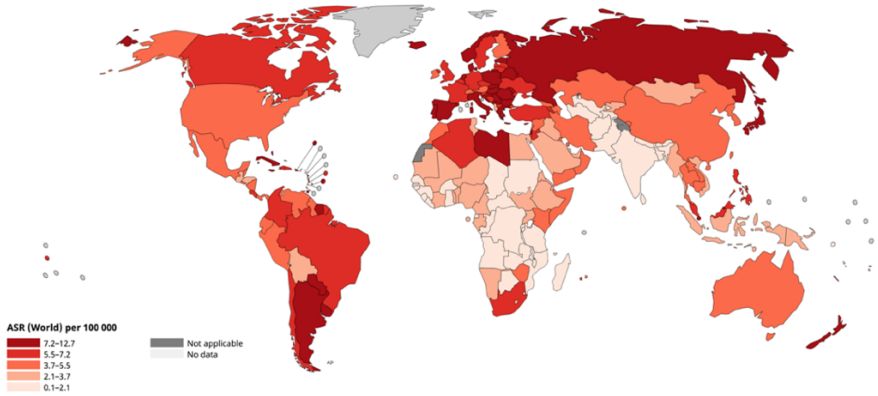


Figura 2. Distribución mundial de la incidencia (A) y mortalidad (B) por CC en 2022. Datos ajustados por edad según la población estándar mundial (por 100.000 habitantes). Fuente: https://gco.iarc.fr/en (consultado en abril de 2025).

Aunque el término cáncer colorrectal (CCR) incluye tanto el CC como el de recto, este trabajo se ha centrado deliberadamente en el CC por motivos metodológicos, ya que el tratamiento neoadyuvante recibido en algunos pacientes con cáncer de recto podría actuar como factor de confusión. Siempre que ha sido posible, se ha seleccionado literatura específica de CC, aunque en algunos casos ha sido necesario referirse a estudios conjuntos sobre CCR.

1.2. Dinámica poblacional del cáncer de colon

En las últimas décadas, la incidencia y mortalidad por CC han mostrado una evolución heterogénea a nivel mundial. En países con programas consolidados de cribado poblacional, como ocurre en varias regiones de Europa Occidental, se ha observado

una reducción progresiva en la mortalidad, atribuible a la detección precoz de lesiones precancerosas y a la mejora de los tratamientos[4]. En España, los datos muestran una disminución sostenida en el número de casos hasta 2016 **(Figura 3A)**, coincidiendo con la progresiva extensión de los programas de cribado poblacional. Sin embargo, las previsiones para las próximas décadas son menos optimistas. Según estimaciones del Global Cancer Observatory (GLOBOCAN), se espera un aumento progresivo global en la incidencia de CC hasta el año 2050 **(Figura 3B)**. Este incremento proyectado se relaciona con el envejecimiento poblacional y la persistencia y aumento de factores de riesgo modificables como la obesidad, la dieta baja en fibra o el sedentarismo.

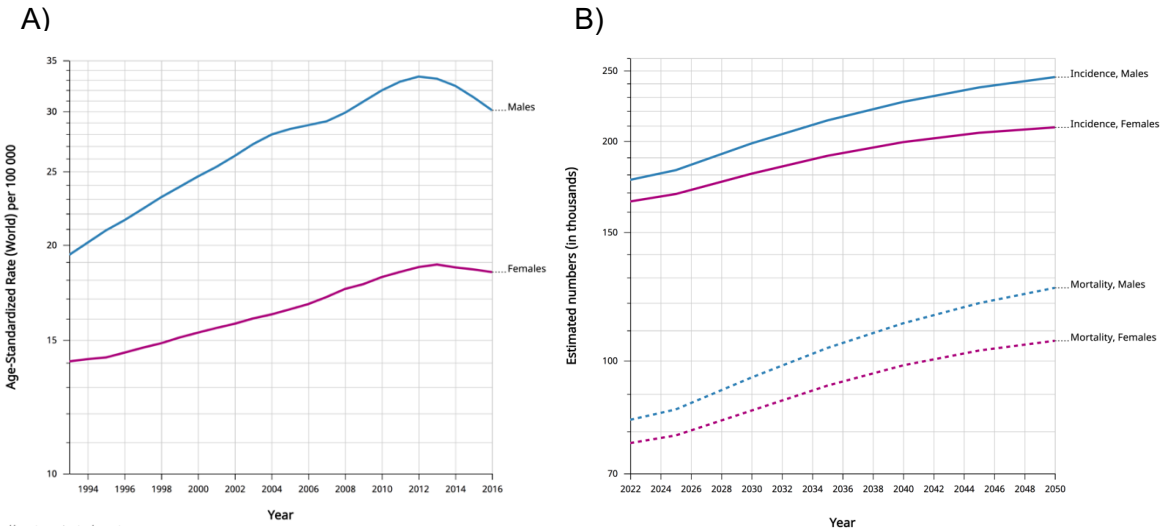


Figura 3. Dinámica poblacional del CC en España. A) Evolución de la incidencia de CC en hombres y mujeres en España entre 1994 y 2016 (ajustadas por edad según la población estándar mundial, por 100.000). B) Estimación de incidencia y mortalidad mundial de CC en hombres y mujeres hasta 2050. Fuente: https://gco.iarc.fr/en (consultado en abril de 2025).

Una preocupación creciente es el aumento sostenido del CCR de aparición precoz (*early-onset colorrectal cancer*, EOCRC), definido como el diagnóstico antes de los 50 años[5,6], un grupo actualmente excluido de los programas de cribado poblacional en la mayoría de los países europeos. Este fenómeno, observado principalmente en países con ingresos altos, podría deberse a factores como la dieta, el sedentarismo, la microbiota o exposiciones ambientales tempranas. Su tendencia ascendente refuerza la necesidad de revisar las estrategias de cribado y de promover una mayor concienciación de la población joven y de los profesionales sanitarios ante síntomas de sospecha en edades tradicionalmente consideradas de bajo riesgo.

1.3. Etiología del cáncer de colon

El CC es una enfermedad de origen multifactorial, resultado de la interacción de factores genéticos, ambientales y del estilo de vida. Aproximadamente el 90% de los casos son esporádicos, y sólo un 5% se asocian a síndromes hereditarios definidos, como la poliposis adenomatosa familiar (FAP) o el síndrome de Lynch[7]. El 5% restante incluye casos familiares sin un patrón genético claro, pero con mayor riesgo por agregación familiar[8].

Entre los factores no modificables, la edad es el principal factor de riesgo, pues los pacientes con más de 65 años tienen 3 veces más probabilidades de ser diagnosticados que aquellos de 50-64 años, y unas 30 veces más que los de entre 25-49 años[9]. No obstante, este patrón ha empezado a cambiar con una tendencia al alza en pacientes más jóvenes[10].

Respecto a los factores ambientales y de estilo de vida, el sedentarismo[11,12] y la dieta típica de los países industrializados, como el consumo de carne roja procesada[13], las dietas ricas en grasas saturadas, el alcohol[14] y la obesidad[12,15], se han asociado a un aumento de la incidencia de CRC. Por el contrario, el consumo regular de fibra y productos lácteos[14], así como realizar actividad física regularmente[16], se ha asociado con una disminución de la incidencia de esta neoplasia. En este contexto, el microbioma intestinal emerge como un mediador clave entre los factores de riesgo y el desarrollo del CRC, ya que los cambios en la microbiota, promovidos por la dieta y el estilo de vida, pueden modular la inflamación, el metabolismo de carcinógenos y la respuesta inmunitaria[17,18].

Además, ciertas condiciones médicas como la enfermedad inflamatoria intestinal incrementan el riesgo de forma significativa. Por ello, en estas poblaciones se han adaptado las estrategias de cribado al riesgo individual[19,20].

1.4. Patogenia del cáncer de colon

La carcinogénesis colorrectal es un proceso dinámico y multifásico que implica la acumulación secuencial de alteraciones genéticas, epigenéticas y microambientales en

las células epiteliales del colon[21]. Se han descrito tres principales vías morfológicas de carcinogénesis: la secuencia adenoma-carcinoma, la vía del pólipo serrado y la vía inflamatoria[22–27], cada una con características histológicas y moleculares distintivas. A nivel genético, estos procesos pueden desarrollarse a través de tres vías moleculares bien establecidas: la inestabilidad cromosómica (CIN), la inestabilidad de microsatélites (MSI) y el fenotipo metilador de islas CpG (CIMP, del inglés *CpG Island Methylator Phenotype*)[26]. Estas vías no son excluyentes entre sí y pueden solaparse[28].

La secuencia adenoma-carcinoma, también conocida como ruta *APC-KRAS-TP53*, es responsable de aproximadamente el 70-90% de los casos, y se caracteriza por la adquisición escalonada de mutaciones en genes clave que regulan la proliferación, diferenciación, apoptosis y estabilidad genómica **(Figura 4)**[26,27,29]. El proceso suele iniciarse con la inactivación del gen *APC*, lo que promueve la proliferación epitelial y la formación de pólipos benignos. Posteriormente, la mutación de *KRAS* favorece la progresión adenomatosa. En fases más avanzadas, se produce la pérdida de otros genes supresores, como el gen DCC, que contribuye al crecimiento de los pólipos adenomatosos, y finalmente, la inactivación de *TP53*, que permite la evasión de la apoptosis y la acumulación de daño genético, permitiendo la transición hacia el carcinoma invasivo[26,27,29]. Esta progresión suele tardar entre 10 y 15 años y es la base fundamental de los programas de cribado poblacional dirigidos a la detección precoz y extirpación de lesiones premalignas[30].

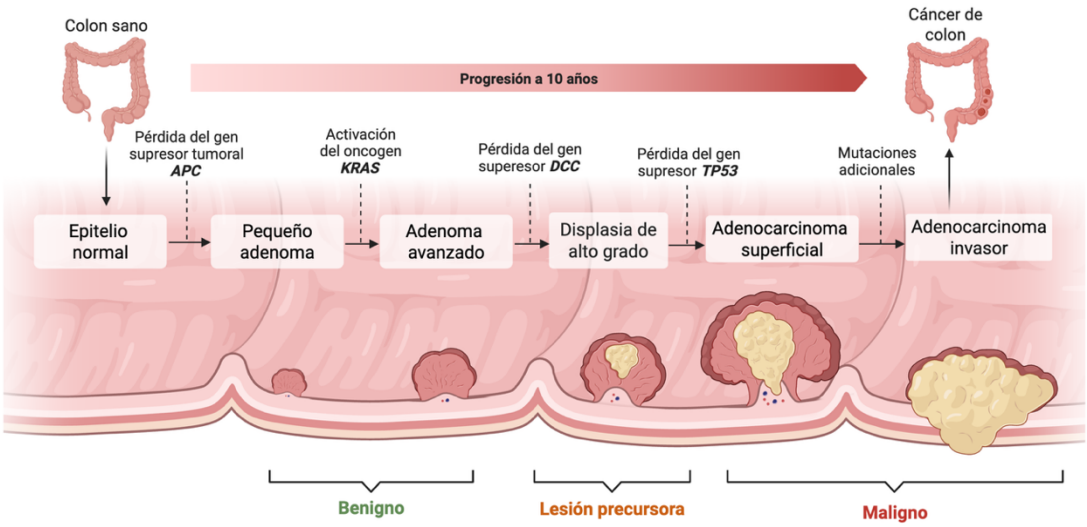


Figura 4: Representación esquemática de la secuencia adenoma-carcinoma en el CCR. El proceso evoluciona a lo largo de 10 años mediante la acumulación secuencial de alteraciones moleculares clave. La inactivación de *TP53* marca la transición hacia la malignidad, y las mutaciones adicionales contribuyen a la invasividad del tumor. Imagen creada con BioRender.

La vía serrada, implicada en el 10-20% de los casos, se asocia a un fenotipo CIMP. En esta ruta son frecuentes las mutaciones de *BRAF* y, en menor medida, en *KRAS*, así como la MSI[31], derivada de la inactivación del sistema de reparación de errores de apareamiento (MMR)[23,26]. Estas lesiones se localizan preferentemente en el colon proximal, lo que puede dificultar su detección endoscópica y contribuir a su infradiagnóstico[23,24,26,27].

En la vía inflamatoria, la inflamación crónica del epitelio intestinal favorece la acumulación de mutaciones genéticas y epigenéticas, aumentado el riesgo de carcinogénesis. En estos casos, la mutación de *TP53* suele ser un evento temprano[32], y la activación de vías como NF-κB refleja la influencia directa del entorno inflamatorio sobre la transformación tumoral[26,33].

1.5. Características clinicopatológicas, extensión local y diseminación del cáncer de colon

Los CC se originan en cualquier segmento del colon, desde la válvula ileocecal hasta el colon sigmoide. La **Figura 5** muestra la distribución anatómica de los tumores colorrectales[34].

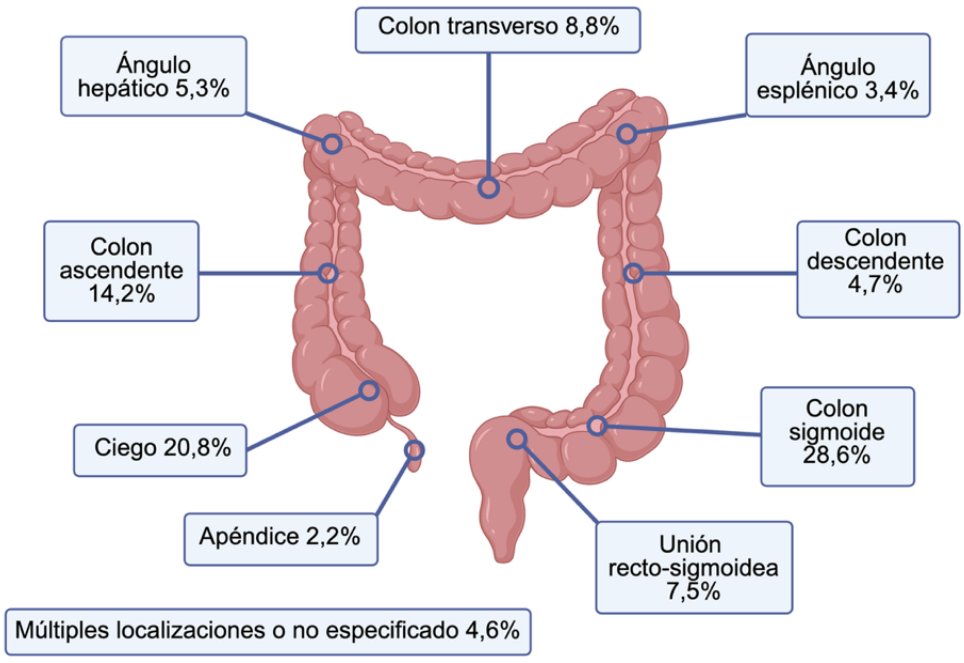


Figura 5. **Frecuencia de localización de los tumores de colon y recto**. Clasificación según los códigos de la *International Classification of Diseases for Oncology[35].* Adaptada a partir de los datos de Cancer Research UK (2016-2018), https://cruk.org/cancerstats, consultado en marzo de 2025. Imagen creada con BioRender.com.

1.5.1. Características clínicas

El CC suele presentar síntomas inespecíficos que pueden confundirse con patologías benignas como las hemorroides o el síndrome del intestino irritable[36]. Los signos y síntomas más frecuentes son el dolor abdominal, el sangrado rectal, los cambios en el ritmo deposicional, la pérdida de peso, la ferropenia y la anemia, cuya frecuencia y severidad varían según la localización y el estadio tumoral[37].

Gracias al cribado poblacional, una proporción creciente de casos se diagnostica en fases asintomáticas[38]. En un estudio alemán con 2.450 pacientes, solo el 68% de los pacientes presentaban síntomas al diagnóstico, mientras que el 21% fueron detectados por cribado mediante colonoscopia o test de sangre oculta en heces[39].

En menores de 50 años —actualmente excluidos de la mayoría de los programas de cribado poblacional—, la clínica suele ser más florida. Un estudio americano reciente mostró que el 95% de los pacientes jóvenes presentaban síntomas al diagnóstico, principalmente dolor abdominal (63%), alteraciones del ritmo deposicional (54%), sangrado rectal (53%) y pérdida de peso (32%); la anemia fue menos común, observándose solamente en el 17% de los casos[40]. Este patrón clínico más marcado pero inespecífico, sumado a un bajo índice de sospecha, puede condicionar retrasos diagnósticos y una mayor proporción de estadios avanzados.

1.5.2. Características patológicas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los tumores colorrectales se clasifican en epiteliales y no epiteliales[41], siendo los primeros los más frecuentes. Dentro de los tumores epiteliales, aproximadamente el 90% son adenocarcinomas[41], una neoplasia epitelial glandular o mucinosa que se considera invasiva una vez que infiltra la capa submucosa[42].

La mayoría de los adenocarcinomas se clasifican como convencionales o NOS (del inglés *Not Otherwise Specified*), en ausencia de rasgos histológicos distintivos que permitan una subtipificación específica[41]. No obstante, existen variantes histológicas específicas con implicaciones clínicas y moleculares relevantes[43]. El adenocarcinoma mucinoso se diagnostica cuando más del 50% de la lesión se compone de acúmulos de

mucina extracelular con células malignas[41]. Representa entre el 5-20% de todos los CRC[41,44,45], y se diferencia del convencional en su localización, perfil molecular y comportamiento clínico. Es más frecuente en el colon proximal[46,47] y, a nivel molecular, se asocia con mayor frecuencia a MSI y a mutaciones del gen *BRAF*[46,48]. Aunque en la enfermedad localizada no parece tener un peor pronóstico, en la enfermedad metastásica se ha descrito una menor respuesta a tratamiento sistémico y peor supervivencia global (SG)[46,48].

Otros subtipos histológicos menos frecuentes reconocidos por la OMS incluyen el adenocarcinoma con células en anillo de sello (que será discutido en apartados posteriores), el adenocarcinoma medular (frecuente en tumores con MSI y mejor pronóstico), el micropapilar (de comportamiento más agresivo) y el adenocarcinoma serrado, vinculado a la vía serrada de carcinogénesis, con mutaciones en *BRAF* y fenotipo CIMP. Otras variantes como el carcinoma escamoso o adenoescamoso son excepcionales[41].

En cuanto al grado histológico, se distinguen tumores de alto grado (menos del 50% de componente glandular, previamente denominados pobremente diferenciados e indiferenciados) y bajo grado (más del 50% del tumor está formado por glándulas, anteriormente bien y moderadamente diferenciados). Los de bajo grado representan más del 80% de los casos[41], y suelen asociarse a un mejor pronóstico.

1.5.3. Extensión local y diseminación a distancia del cáncer de colon

El CC presenta una capacidad inherente de diseminación tanto local como a distancia, a través de distintos mecanismos que favorecen la progresión de la enfermedad[49]:

- Diseminación local. La progresión local incluye la infiltración en profundidad a través de las distintas capas de la pared del colon (reflejada en la categoría T de la clasificación TNM[42]) y en sentido longitudinal a lo largo de esta. En un estudio poblacional reciente, entre los tumores localizados diagnosticados, el 21,7% correspondían a T1, el 29,6% a T2, el 41,9% a T3 y el 4,7% a T4[50]. En cuanto a la diseminación intramural longitudinal, rara vez supera los 2cm[49], lo que influye en la decisión de los márgenes quirúrgicos.

- Diseminación linfática. Es la principal vía de afectación regional. Su probabilidad depende de la profundidad de la invasión tumoral (T): ocurre en el 10-15% de tumores T1, 15-25% en T2, y hasta el 40-60% en T3-T4[51]. Suele iniciarse en ganglios pericólicos adyacentes al tumor y progresar a cadenas más distantes[52], aunque en ocasiones puede presentarse afectación inicial de estaciones ganglionares distales (*skip metastasis*)[53].
- Diseminación hematógena. Se produce principalmente por el sistema venoso portal[54], lo que explica que el hígado sea el órgano más frecuentemente afectado[55,56]. Si las células tumorales sobreviven al metabolismo hepático o acceden a venas sistémicas, pueden diseminarse a otros órganos como el pulmón[55,56]. Se estima que el 15-25% de los pacientes presentan metástasis hepáticas sincrónicas[55], y entre un 18-25% las desarrollarán durante el seguimiento oncológico[56,57].
- Diseminación transperitoneal. Implica la propagación directa de células tumorales a través del peritono, con formarán de implantes[58]. Suele asociarse a tumores T4 con invasión de la serosa y afecta aproximadamente el 10% de los pacientes con enfermedad avanzada al diagnóstico[59]. Aunque clásicamente se consideraba una enfermedad metastásica irresecable, actualmente algunos pacientes pueden beneficiarse de cirugía citorreductora y quimioterapia intraperitoneal hipertérmica (HIPEC)[58,59].

1.6. Tratamiento quirúrgico del cáncer de colon

El tratamiento principal del CC es quirúrgico, con el objetivo de lograr una resección curativa (R0), asegurando la extirpación del tumor y su drenaje linfático. En la actualidad, la colectomía segmentaria sigue siendo el tratamiento estándar, aceptando como correctos unos márgenes oncológicos de resección de 5 cm [3,60]. Una correcta linfadenectomía requiere la exéresis de al menos 12 ganglios linfáticos[3] y la ligadura del pedículo mesentérico en el origen de los vasos segmentarios[7]. Además, es fundamental que la resección se realice preservando la integridad del mesocolon, respetando los planos embriológicos[61].

Siguiendo estas premisas y según la localización del tumor, clásicamente se han diferenciado diversas resecciones **(Figura 6)**: hemicolectomía derecha, hemicolectomía derecha ampliada, hemicolectomía izquierda y sigmoidectomía.

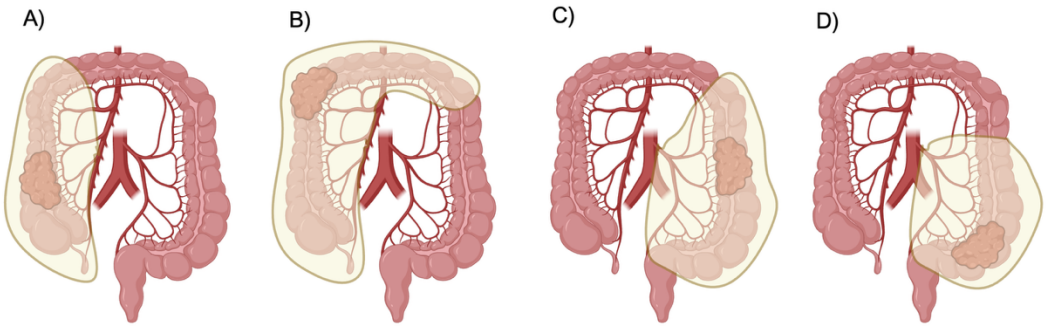


Figura 6. Tipos de resecciones quirúrgicas según la localización del tumor. A) hemicolectomía derecha; B) hemicolectomía derecha ampliada; C) hemicolectomía izquierda; D) sigmoidectomía. Adaptada de Schiedeck et al.[7]. Imagen creada con BioRender.com.

Consideración especial merecen las neoplasias de colon transverso y del ángulo esplénico. A pesar de que clásicamente se han tratado mediante una hemicolectomía derecha ampliada, estudios recientes avalan la colectomía segmentaria como alternativa válida tanto en el colon transverso[62,63], como en el ángulo esplénico[64]. Véase **Figura 7**.

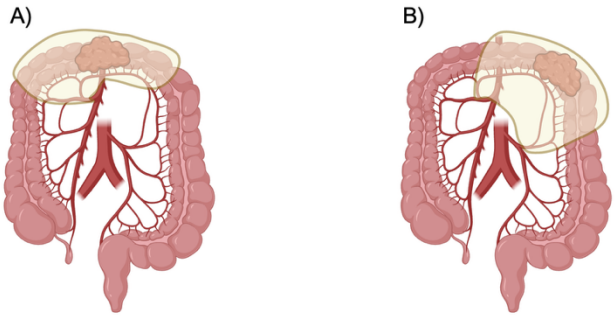


Figura 7. **Tipos de resección quirúrgica para tumores del colon transverso y del ángulo esplénico.** A) colectomía segmentaria de colon transverso. B) resección segmentaria de ángulo esplénico. Imagen creada con BioRender.com.

En los casos de tumores con invasión a órganos adyacentes que se tratan con intención curativa, es fundamental realizar una exéresis en bloque con márgenes negativos a fin de minimizar el riesgo de persistencia tumoral y reducir la probabilidad de recidiva local [3,60].

En cuanto al abordaje quirúrgico, tanto la cirugía abierta como la mínimamente invasiva (laparoscópica o robótica) han demostrado ser igualmente seguras en manos expertas. El abordaje mínimamente invasivo se ha asociado a menor pérdida sanguínea, recuperación más rápida y reducción de la estancia hospitalaria, sin comprometer la radicalidad oncológica ni la supervivencia a largo plazo[65,66].

1.7. Clasificación de los tumores en función del grado de extensión: Sistema TNM

El sistema TNM es el método más utilizado para describir la extensión anatómica del CC. Su correcta aplicación requiere una evaluación detallada del tumor primario y el cribado de enfermedad metastásica. Está basado en tres parámetros —tumor primario (T), afectación ganglionar (N) y metástasis a distancia (M)—, y permite la clasificación por estadios del I al IV **(Tabla 1)**. El estadiaje clínico inicial (cTNM), basado en pruebas de imagen, guía las decisiones terapéuticas, mientras que el análisis anatomopatológico postoperatorio permite establecer el pTNM definitivo y ajustar el tratamiento adyuvante, el plan de seguimiento y la estimación pronóstica[42].

Tabla 1. **Clasificación TNM y estadios según la 8ª edición**[42]**.**

Estadio	Clasificación TNM	Descripción clínica
0	Tis N0 M0	Carcinoma in situ
I	T1–T2 N0 M0	Tumor limitado a la submucosa o muscular propia, sin ganglios
IIA	T3 N0 M0	Invasión más allá de la muscular, sin afectación ganglionar
IIB	T4a N0 M0	Invasión de la serosa visceral, sin ganglios
IIC	T4b N0 M0	Invasión a órganos adyacentes, sin ganglios
IIIA	T1–T2 N1/N1c M0	Tumor limitado con metástasis en pocos ganglios (1–3)
IIIB	T3–T4a N1/N1c M0 o T2–T3 N2a M0	Tumor más avanzado o con más ganglios (hasta 6)
IIIC	T4a N2a M0 o T3–T4b N2b M0	Tumor T4 o con ≥7 ganglios afectados
IVA	Cualquier T, cualquier N, M1a	Metástasis en un único órgano (p. ej., hígado)
IVB	Cualquier T, cualquier N, M1b	Metástasis en múltiples órganos
IVC	Cualquier T, cualquier N, M1c	Metástasis peritoneal con/sin otras metástasis

A pesar de su innegable utilidad, el sistema TNM presenta una serie de limitaciones, como la ausencia de información molecular y la heterogeneidad dentro de un mismo estadio, que han impulsado la búsqueda de modelos más integrados[67–69]. La evolución del sistema TNM hacia una clasificación más integrada, que combine los hallazgos anatómicos con biomarcadores moleculares y herramientas de medicina de precisión, representa un paso clave hacia una oncología más personalizada y eficiente.

1.8. Tratamiento adyuvante en el cáncer de colon

La quimioterapia adyuvante tras una resección curativa (R0) busca eliminar micrometástasis o células tumorales residuales y reducir el riesgo de recurrencia. Debe iniciarse lo antes posible, idealmente antes de las 8 semanas tras la intervención[70]. Su indicación depende principalmente del estadiaje histopatológico (pTNM), especialmente en la afectación ganglionar (pN), junto con la valoración de otros factores de riesgo. Además, se recomienda evaluar el estado de los genes de reparación de errores de apareamiento (MMR, por sus siglas en inglés), ya que su deficiencia —que determina la MSI— puede predecir la respuesta a la quimioterapia en estadios II[71]. En general, el tratamiento adyuvante se indica en pacientes con estadio II de riesgo intermedio y alto, y en los pacientes con estadio III[3].

En el estadio III se utiliza una combinación de fluoropirimidinas (5-FU o capecitabina) y oxaliplatino. Los esquemas más utilizados en la práctica clínica son CAPOX y FOLFOX[3,72] **(Figura 8)**. La neuropatía sensitiva periférica es la toxicidad limitante más frecuentemente asociada a estos tratamientos[72], afectando a largo plazo en un 69% de casos, con grados moderados o graves en el 33% de los pacientes[73]. Por ello, el estudio IDEA evaluó la no inferioridad de acortar el tratamiento de 6 a 3 meses, demostrando que 3 meses de CAPOX son no inferiores a 6 meses en pacientes con estadio III de bajo riesgo (T1-T3, N1)[74]. Sin embargo, esta no inferioridad no se confirmó con el esquema FOLFOX. Esta división en subgrupos de riesgo se basa en un análisis post-hoc, por lo que debe interpretarse con cautela en la práctica clínica[75].

En pacientes con estadio II, el beneficio de la quimioterapia adyuvante es más controvertido. Mientras que los resultados del metaanálisis IMPACT B2 cuestionaron el beneficio global de la adyuvancia en pacientes con estadio II[76], el ensayo QUASAR demostró un beneficio discreto pero significativo del 5-FU modulado con leucovorina en términos de recurrencia y mortalidad[77]. El estudio MOSAIC evaluó la adición de oxaliplatino al esquema de De Gramont (FOLFOX), sin demostrar una mejora significativa frente al esquema sin oxaliplatino. Sin embargo, dada la heterogeneidad de los pacientes del estadio II, se apuntó a un posible beneficio en pacientes de alto riesgo[78]. Con la evidencia disponible, las guías clínicas actuales recomiendan una valoración individualizada en pacientes con estadio II, reservando el tratamiento adyuvante para aquellos con factores de alto riesgo, como se muestra en la **Figura 8**.

En los casos de alto riesgo se seguirá un esquema similar a los estadios III. En riesgo intermedio, siempre y cuando sean MSS (estabilidad de microsatélites) se administrará el esquema de De Gramont (5-FU y leucovorina) o Capecitabina en monoterapia, ambos durante 6 meses.

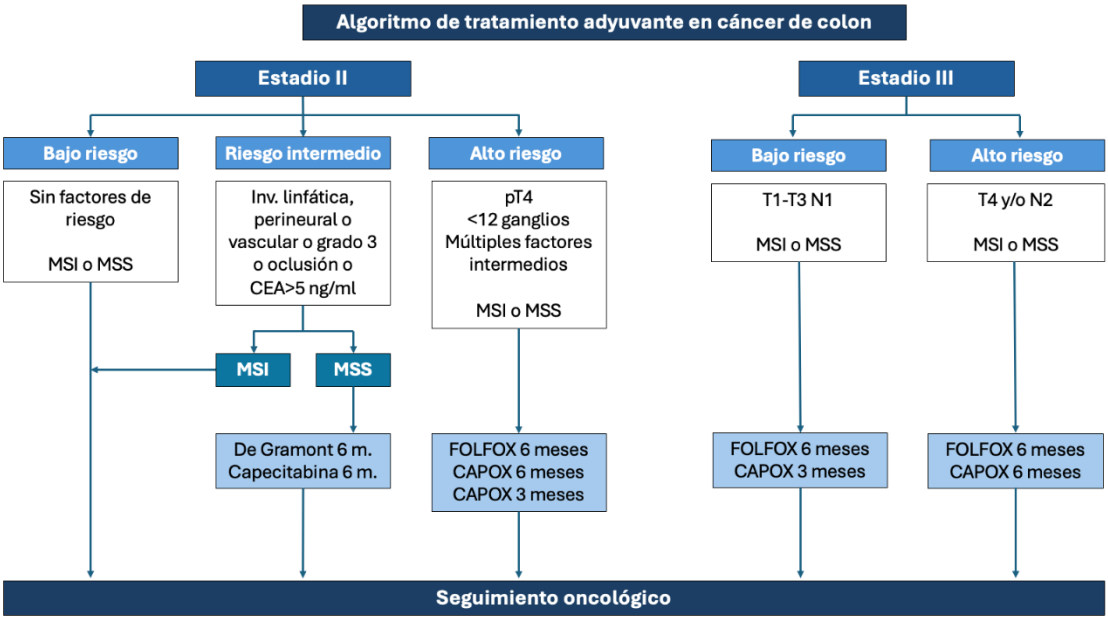


Figura 8. **Recomendaciones para el tratamiento adyuvante en pacientes con CC en estadio II y III.** Basado en las actuales guías europeas[3]. CAPOX: Capecitabina más oxaliplatino; CEA: Antígeno carcinoembrionario; FOLFOX: Leucovorina, fluorouracilo y oxaliplatino; Inv.: Invasión; MSS: Estabilidad de microsatélites; MSI: Inestabilidad de microsatélites.

1.9. Recurrencia del cáncer de colon

La recurrencia tras cirugía con intención curativa es el factor con mayor impacto sobre la supervivencia en el CC[79], afectando aproximadamente al 20% de los pacientes durante el seguimiento[50,69,78]. Se define como recurrencia local la reaparición del tumor en la zona de resección quirúrgica o en sus proximidades, incluyendo la anastomosis, el lecho tumoral o el mesenterio[80]. La recurrencia sistémica se define como la reaparición del tumor en localizaciones lejanas al tumor primario[81].

El factor más importante para la recurrencia es la afectación ganglionar[3,69,78]. Sin embargo, dada la heterogeneidad del estadio II es importante tener en cuenta la valoración de otros factores.

1.9.1. Factores pronósticos de recurrencia dependientes del tumor

Se han estudiado múltiples características del tumor primario que pueden influir en el pronóstico de los pacientes con CC.

1.9.1.1. Localización del tumor

La localización tumoral en el CC suele dividirse en colon derecho (desde ciego hasta los dos tercios proximales del colon transverso) y colon izquierdo (desde el tercio distal del colon transverso hasta el colon sigmoide), reflejando diferencias embriológicas[82] que se traducen en variaciones histológicas, inmunológicas y moleculares[83].

Los tumores proximales se asocian más frecuentemente con carcinomas mucinosos[84], presentan alta frecuencia de MSI, y una mayor respuesta inmunitaria[85]. En contraste, los tumores izquierdos muestran mayor prevalencia de mutaciones en *KRAS* y *TP53*, mayor actividad transcripcional[83,86] y una menor respuesta inmunitaria, probablemente relacionada con una mayor tolerancia inmunológica inducida por la mayor diversidad bacteriana del colon distal[83]. Otro factor que podría explicar la diferencia pronóstica entre ambas localizaciones es la forma de presentación clínica. Los tumores derechos tienden a manifestarse de manera más insidiosa, frecuentemente con anemia microcítica secundaria a sangrado crónico[87]. En cambio, los tumores izquierdos suelen producir cambios en el tránsito intestinal y hemorragia más evidente, lo que facilita una detección más precoz[83].

Numerosos estudios han analizado el impacto pronóstico de la localización tumoral. En general, la mayoría concluye que los tumores derechos presentan una peor SG en comparación con los del lado izquierdo[87–89]. No obstante, estos hallazgos no son universales, ya que algunos estudios no han encontrado diferencias significativas[87,90]. Ante la evidencia disponible, parece claro que la simple división entre tumores derechos e izquierdos no capta completamente la complejidad biológica subyacente. Es probable que las diferencias pronósticas observadas estén más relacionadas con el subtipo molecular del tumor que con su ubicación anatómica *per se*.

1.9.1.2. Tipo histológico del tumor y grado de diferenciación celular

Los tipos histológicos que, por sí solos, se asocian a peor pronóstico independientemente del estadio tumoral son el adenocarcinoma de células en anillo de sello y el carcinoma neuroendocrino de alto grado de tipo célula pequeña[41].

El adenocarcinoma de células en anillo de sello se caracteriza por la presencia de >50% de células con mucina intracitoplasmática que desplaza al núcleo hacia la periferia, confiriéndole la morfología típica en "anillo de sello"[41]. Aunque su prevalencia es baja, en torno al 1%, es más habitual en el colon derecho[91]. Suelen diagnosticarse en estadios avanzados, ser de alto grado, y presentan un patrón de diseminación diferente al adenocarcinoma convencional[91–93]. Aunque suele presentar una elevada incidencia de MSI, su comportamiento clínico es desfavorable independientemente del perfil molecular[93]. Comparado con el adenocarcinoma convencional (NOS), en una cohorte de más de 170.000 pacientes con CCR, este subtipo mostró una mayor tasa de metástasis (39,1% vs 19,1%) y una SG inferior, especialmente en los casos con metástasis peritoneales, cuya mediana de supervivencia fue de tan solo 9 meses[94].

Por su parte, el carcinoma neuroendocrino de alto grado de tipo célula pequeña es un subtipo histológico infrecuente pero extremadamente agresivo[41]. Histológicamente presenta una morfología indiferenciada, alto índice proliferativo (Ki-67 elevado) y expresión de marcadores neuroendocrinos[41]. Su pronóstico es infausto incluso en estadios iniciales. Se ha descrito que hasta un 60% presentan metástasis al diagnóstico, con una SG en torno a 8 meses en este contexto[95]. Algunas series describen una supervivencia a 3 años prácticamente nula[96], y medianas de SG en torno a los 15 meses, con respuesta limitada a los tratamientos sistémicos[95,97].

Respecto al grado de diferenciación celular, los tumores pobremente diferenciados e indiferenciados (alto grado)[96] muestran mayor agresividad, asociándose a estadios más avanzados, mayor probabilidad de afectación ganglionar y de metástasis a distancia. Esta correlación es especialmente relevante en tumores T2 y T3, donde el riesgo de afectación ganglionar puede alcanzar hasta el 60-80% en tumores de alto grado[98], y su pronóstico es desfavorable incluso ajustando por estadio[69].

1.9.1.3. Estadio tumoral

El estadio tumoral, definido por la clasificación TNM[42], continúa siendo el principal factor pronóstico en CC, tanto para SG como para el riesgo de recidiva. En un estudio danés con cerca de 35.000 pacientes, la SG a 5 años descendió del 90% en estadio I a menos del 10% en estadio IV con enfermedad metastásica no resecable[50,69]. En estadio II, las tasas oscilan entre el 70 y el 85% según la subcategoría T, mientras que en estadio III, pueden variar del 90% al 27%, dependiendo de la combinación T/N[50].

Tanto la profundidad de invasión tumoral (T) como la afectación ganglionar (N) poseen valor pronóstico independiente. En estadio II, los tumores T4 —especialmente los T4b— presentan una mayor tasa de recurrencia local y sistémica, así como una supervivencia específica por CCR significativamente reducida. Desolneux et al. observaron que los tumores T4N0 (estadio IIb-IIc) tenían casi seis veces más riesgo de muerte en comparación con T1N0, con supervivencias a 5 años similares o incluso inferiores a las de algunos subgrupos del estadio III[99]. De forma concordante, O'Connell et al, en una cohorte de más de 100.000 pacientes, reportaron peor supervivencia para T4N0 (72,2%) frente a T1-2N1 (83,4%; $p < 0,001$)[69]. Recientemente, Nors et al., documentaron una supervivencia específica por CCR a 5 años del 64% para T4bN0, en comparación con el 90% en T1N1a[50].

La presencia y el número de metástasis ganglionares (N) también condicionan el pronóstico de forma independiente. El impacto pronóstico del componente N depende de la carga tumoral y su combinación con la T. La supervivencia disminuye conforme aumenta el número de ganglios afectados, siendo superior en N1a respecto al resto de grupos. Así, en la cohorte de Nors et al., las tasas de supervivencia específica por CCR a 5 años fueron del 90% para T1N1a, 70% para T3N2a, y 27% para T4bN2b[50].

Una observación clínica recurrente y señalada por muchos estudios, es la llamada "paradoja pronóstica", en la que los pacientes con tumores T4N0 (IIb y IIc) tienen peor pronóstico que aquellos con tumores T1-T2N1 (estadio IIIa), a pesar de que la clasificación TNM sitúa el estadio III como más avanzado. Tanto los hallazgos de O'Connell[69] como los del registro danés confirman dicha paradoja, con una supervivencia a 5 años de hasta el 90% en estadio IIIa frente al 72% y 64% en IIb y IIc, respectivamente[50]. Esta discrepancia podría deberse a una biología más agresiva en

los tumores T4, al infradiagnóstico de micrometástasis, o a la menor indicación de quimioterapia adyuvante en estadio II. Estos hallazgos refuerzan la idea de considerar a los tumores T4N0 como de alto riesgo con indicación de quimioterapia adyuvante, al tiempo que ponen en cuestión la utilidad clínica de una clasificación TNM que agrupa subgrupos de comportamiento tan diverso bajo una misma categoría.

La octava edición de la clasificación TNM incorporó la categoría N1c, que contempla la presencia de depósitos tumorales en la grasa pericólica sin afectación ganglionar[42]. Sin embargo, estos depósitos se asocian a mal pronóstico incluso cuando coexisten con ganglios positivos, sin que modifiquen la categoría N[100]. En un metaanálisis con más de 19.000 pacientes, Lord et al. observaron que los depósitos tumorales incrementan el riesgo de recurrencia y mortalidad independientemente de la afectación ganglionar: *hazard ratio* (HR) 1,63 (IC 95%: 1,44-1,61; $p < 0,001$) para SG y 1,77 (IC 95%: 1,37-2,11; $p < 0,001$) para supervivencia libre de enfermedad (SLE)[100]. Por ello, se recomienda su reporte sistemático, independientemente del estado nodal[101].

1.9.1.4. Invasión linfática, venosa y perineural

La presencia de invasión linfática, vascular y perineural constituye un conjunto de factores histopatológicos de alto valor pronóstico en el CC, asociados de forma independiente a un mayor riesgo de recurrencia y peor SG y su evaluación sistemática debe constar en el informe anatomopatológico[102]. En estadios II, la presencia de cualquiera de estos factores puede justificar el uso de tratamiento adyuvante[3,103].

La invasión linfática, presente en alrededor del 30% de los casos[104], implica la presencia de células tumorales en los vasos linfáticos. Es un factor de riesgo morfológico para la presencia de ganglios positivos, incluso en carcinomas pT1[105], por lo que justifica una indicación quirúrgica incluso en tumores extirpados mediante técnicas endoscópicas[106]. Su impacto pronóstico negativo se ha documentado también en pacientes sin metástasis ganglionares: en un estudio retrospectivo, Desolneux et al. demostraron que la invasión linfática se asoció a una disminución significativa de la SG de forma independiente (HR 2,126; IC 95%: 1,058-4,269; $p = 0,034$)[99].

La invasión vascular se clasifica, en función de su localización, en intramural (en la submucosa o muscular propia) o extramural (más allá de la muscularis propia)[41].

Ambas tienen un peor pronóstico, con peor SG (HR 1,959; IC 95%: 1,186-3,236; p = 0,009)[99], si bien el impacto negativo es más evidente en la invasión extramural[104], asociándose a mayor riesgo de diseminación hematógena y metástasis hepáticas[107].

En muchos estudios, la invasión linfática y vascular se analizan conjuntamente bajo el término de invasión linfovascular, dificultando su análisis individual. Aun así, su papel predictivo en conjunto sigue siendo claro: un metaanálisis con 9.881 pacientes en estadios I y II evidenció que la presencia de invasión linfovascular se asoció a una reducción significativa de la SG (HR 2,15; IC 95%: 1,72-2,68; p < 0,01) y de la SLE (HR 1,73; IC 95%: 1,50-1,99; p < 0,01)[108].

La invasión perineural se define como la presencia de células tumorales que rodean, invaden o siguen trayectos nerviosos[41,109]. En un metaanálisis que incluyó 22.900 pacientes con CCR, se realizó un subanálisis específico de 4.637 pacientes con CC, en el que se reportó una incidencia de invasión perineural del 14,1%, observándose un incremento progresivo en función del estadio y del grado histológico[110]. En cuanto a su impacto clínico, se ha asociado a un aumento significativo del riesgo de recurrencia local (RR 3,22; IC 95%: 2,33-4,44), así como a una peor SLE a 5 años (RR 2,35; IC 95%: 1,66-3,31)[110], siendo también un factor pronóstico independiente para la SG (HR 2,17; IC 95%: 1,10-4,28; p = 0,025)[99].

1.9.1.5. Budding tumoral

El *budding tumoral* (brotación tumoral) se define como la presencia de células tumorales aisladas o agrupaciones de hasta cuatro células en el margen invasivo del tumor[111]. Estas células ya no forman estructuras glandulares y se consideran la manifestación morfológica de la transición epitelio-mesenquimal, reflejando un fenotipo más invasivo y migratorio[112]. Se evalúa en la zona de máxima densidad de *budding* y se clasifica en tres grados: bajo (0-4 focos), intermedio (5-9 focos) y alto (≥10 focos)[111].

Se ha asociado con un mayor riesgo de metástasis ganglionares, recurrencia y a una peor supervivencia específica por CCR a 5 años[113]. Tiene especial interés en pT1, dónde se considera un factor pronóstico independiente de metástasis ganglionares. En particular, los grados intermedio y alto se han relacionado con un riesgo de afectación ganglionar hasta siete veces superior, lo que puede influir en la decisión de realizar

cirugía radical tras resecciones locales[106,111,113]. Asimismo, en tumores estadio II, el *budding* intermedio o alto se ha asociado a un mayor riesgo de recurrencia y a una mayor mortalidad específica por cáncer[111,113,114].

1.9.1.6. Inestabilidad de microsatélites

La MSI es uno de los mecanismos moleculares de carcinogénesis en el CC[115]. Resulta de la pérdida de función del sistema de reparación de errores de apareamiento de bases del ADN (*mismatch repair system*, MMR), y puede ocurrir por mutaciones germinales —como pasa en el síndrome de Lynch[116]— o por hipermetilación somática de los promotores de MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2[115]. Esta alteración genera un fenotipo hipermutador, con errores acumulativos en regiones del genoma con secuencias repetitivas cortas (microsatélites). En función del grado de inestabilidad, se clasifica a los tumores como MSI alta (MSI-H*, high*), cuando más del 30-40% de los loci están afectados; MSI baja (MSI-L, *low*), cuando la afectación es menor; o estables (MSS, *stable*), en ausencia de inestabilidad detectable.

Se estima que aproximadamente el 15% de los tumores esporádicos son MSI-H[117]. Los pacientes con MSI-H tienden a ser más jóvenes, se localizan preferentemente en el colon derecho y suelen estar asociados a lesiones precursoras del tipo adenoma sésil serrado[26,118,119]. Las características histológicas asociadas incluyen tumores productores de mucina, diferenciación de células en anillo de sello, carcinoma medular y aumento de TILs[118,119].

La relevancia clínica del estatus MSI/MMR se manifiesta en diversos niveles. En primer lugar, permite identificar posibles síndromes hereditarios, como el síndrome de Lynch, con implicaciones directas en la toma de decisiones quirúrgicas y el seguimiento familiar[116]. En segundo lugar, constituye un marcador pronóstico bien establecido: varios estudios y metaanálisis han demostrado que los pacientes con tumores MSI-H presentan un pronóstico favorable, especialmente en estadios tempranos. En un metaanálisis con 1.277 pacientes MSI-H que incluía todos los estadios, Popat et al. observaron una reducción del 35% en el riesgo de muerte (HR 0,65; IC 95% 0,59-0,71) y una reducción del 38% en el riesgo de recidiva (HR 0,62; IC 95%: 0,53-0,72) en comparación con tumores MSS[120]. En un metaanálisis con más de 12.000 pacientes, Guastadisegni et al. observaron unos resultados similares en cuanto a SG y a SLE[121].

En contraste, en enfermedad metastásica, la influencia de MSI-H está menos establecida, con algunos estudios demostrando un peor pronóstico en estos casos[122,123], especialmente en pacientes con mutación de *BRAF* V600E[117].

Además, MSI-H predice menor beneficio de la quimioterapia adyuvante con fluoropirimidinas en estadio II, pudiendo incluso ser perjudicial[71,124], por lo que se desaconseja su administración a menos que presenten factores de alto riesgo de recurrencia[3]. En estadio III, la indicación tratamiento no varía[125], si bien algunos estudios sugieren que los pacientes MSI-H podrían tener un beneficio inferior[126].

Finalmente, en enfermedad avanzada MSI-H, la elevada inmunogenicidad de estos tumores ha abierto la puerta a la inmunoterapia. Diversos ensayos clínicos han demostrado una elevada tasa de respuesta con inhibidores de PD-1/PD-L1, como pembrolizumab, actualmente aprobado como tratamiento de primera línea en pacientes con CCR metastásico MSI-H[127].

1.9.1.7. Respuesta inmunitaria

La respuesta inmunitaria local frente al tumor, principalmente mediada por linfocitos T, se asocia globalmente a un mejor pronóstico[128]. Esta infiltración se puede clasificar, simplificadamente, en dos patrones: intratumoral y peritumoral.

Los TILs son linfocitos T localizados entre las propias células tumorales[85]. En un estudio poblacional israelí con más de 2.000 pacientes, Rozek et al. observaron que una densidad de TILs≥2 por campo de gran aumento se asoció a una mejora significativa de la SG (HR 0,76; IC 95%: 0,64–0,89; $p < 0,001$) y supervivencia por CCR (HR 0,66; IC 95%: 0,52–0,84; $p < 0,001$), incluso en tumores con fenotipo MSS[85].

Por otro lado, la infiltración peritumoral incluye tanto la presencia difusa de linfocitos T CD3+CD8+ en el frente de invasión[128], como la presencia de estructuras linfoides organizadas en forma de agregados, conocidas como reacción linfoide tipo Crohn (*Crohn's-like lymphoid reaction*, CLR), que reflejan una respuesta inmunitaria estructurada y persistente frente al tumor[85]. En el mismo estudio, Rozek et al. constataron que una CLR prominente (≥3 agregados) se asoció con una mayor

supervivencia específica por CCR (HR 0,65; IC 95%: 0,54-0,78; p < 0,001) y global (HR 0,71; IC 95%: 0,62-0,80; p < 0,001)[85].

Estas formas de infiltración son más frecuentes en tumores MSI-H, ya que presentan una mayor carga mutacional con la consiguiente generación de un mayor número de neoantígenos[129]. Sin embargo, el factor protector de la respuesta inmunitaria parece ser independiente al estado de los genes reparadores[85,128,130].

1.9.2. Factores pronósticos de recurrencia dependientes del cirujano y de la agresión quirúrgica

La cirugía sigue siendo el pilar fundamental para el tratamiento de los pacientes con tumores localizados. Pese a los avances continuos en las técnicas quirúrgicas, con la adopción prácticamente sistemática de la cirugía mínimamente invasiva, la implementación de programas de recuperación intensificada (ERAS) y los programas de prehabilitación, la intervención representa una agresión mayor que desencadena una cascada de respuestas fisiológicas complejas. Entre ellas, destacan la inflamación y la activación de mecanismos angiogénicos, que podrían tener implicaciones en la evolución oncológica. Por su relevancia en el contexto de esta tesis doctoral, se abordarán con mayor detalle en el apartado 1.10. Angiogénesis.

1.9.2.1. Calidad de la cirugía

La calidad de la cirugía impacta directamente en el pronóstico oncológico. Aspectos técnicos directamente dependientes del cirujano como la disección por planos embriológicos, la obtención de márgenes quirúrgicos libres y la calidad de la linfadenectomía tienen una repercusión en los resultados clínicos a largo plazo.

La disección siguiendo los planos embriológicos y respetando la integridad de la fascia mesocólica, al igual que fue descrito por Heald en el recto[131], ha demostrado tener un impacto significativo en los resultados oncológicos. En un estudio retrospectivo publicado en *The Lancet Oncology*, West et al. analizaron 399 especímenes quirúrgicos y observaron una mejoría del 15% en la SG en aquellos casos en los que se había respetado la fascia embriológica. Este beneficio fue especialmente evidente en

pacientes en estadio III, manteniéndose como un factor protector en el análisis multivariado (HR 0,57; IC 95%: 0,24-0,85; p = 0,014)[61].

La escisión completa del mesocolon (ECM), propuesto por Hohenberger et al.[132], combina la disección por el plano embriológico con la ligadura vascular central y márgenes de resección longitudinales amplios de al menos 10 cm respecto al tumor. Los datos publicados por el equipo de Hohenberger son positivos, con una reducción de la recurrencia local del 6,5% al 3,6% y una mejora de la SLE del 82,1% al 89,1%[132]. Posteriormente, Bertelsen et al. confirmaron que la ECM fue un factor independiente asociado a una mayor SLE en su cohorte, con una mejoría a 4 años del 75,9% al 85,8%, efecto que se mantuvo tras ajustar por estadio tumoral[133].

La calidad de la linfadenectomía es esencial en la cirugía oncológica del CC. El número de ganglios resecados es un factor pronóstico independiente, incluso cuando los ganglios son negativos[134–136]. La mayoría de los consensos actuales establecen como estándar la evaluación de al menos 12 ganglios linfáticos para garantizar una estadificación adecuada[3,41,42,137]. Un número de ganglios inferior se asocia a peores resultados oncológicos y se considera un factor de riesgo que puede justificar la indicación de tratamiento adyuvante[3]. Una de las explicaciones clásicas de esta asociación es la mayor detección de ganglios positivos conforme aumenta el número de ganglios analizados[138]. Sin embargo, la proporción de pacientes en estadio III parece permanecer estable a lo largo del tiempo[50,139,140], lo que sugiere que existen otros factores implicados. Entre ellos, se ha propuesto que una linfadenectomía más amplia podría favorecer la eliminación de enfermedad residual mínima[141], o bien reflejar una mayor respuesta inmunitaria del huésped frente al tumor[142].

La extensión de la linfadenectomía es, actualmente, un punto de debate. Se ha descrito que la afectación de los ganglios centrales o apicales ocurre en aproximadamente un 4-19% de los casos, siendo más frecuente en tumores T3/4[143,144]. Este hallazgo ha sido utilizado como argumento a favor de una linfadenectomía más extensa. Sin embargo, la interpretación clínica de estas metástasis sigue siendo motivo de debate: algunos autores las consideran metástasis regionales[145,146], mientras que otros las clasifican como sistémicas, ya que en algunos casos están asociadas con un pronóstico similar al del estadio IV[147]. Esta disparidad conceptual contribuye directamente a la controversia en torno a la indicación sistemática de la linfadenectomía D3 frente a la D2. Mientras que la resección D2 —que incluye los ganglios linfáticos pericólicos e

intermedios— es ampliamente aceptada como procedimiento estándar, la indicación rutinaria de D3, que además incorpora la resección de los ganglios apicales, continúa siendo cuestionada. A pesar de que algunos estudios han demostrado beneficios oncológicos con la linfadenectomía D3, se trata de una técnica más exigente y con mayor riesgo quirúrgico. La evidencia clínica sigue siendo limitada y heterogénea y muchos estudios mezclan conceptos como la ECM, la linfadenectomía D3 y la ligadura vascular central, lo que dificulta la interpretación de los resultados. Además, los ensayos clínicos aleatorizados son escasos. Recientemente se han publicado los resultados a corto plazo del ensayo COLD, un estudio multicéntrico aleatorizado que compara D2 versus D3, donde no encontraron diferencias en cuanto a la morbilidad postoperatoria[148]. De forma similar, el ensayo RELARC, que compara ECM frente a colectomía estándar con D2, reportó una mayor tasa de lesiones vasculares intraoperatorias en el grupo ECM, aunque sin aumento de la morbilidad postoperatoria global[149]. Sin embargo, los resultados oncológicos a largo plazo no consiguieron demostrar una superioridad de ECM, concluyendo que la linfadenectomía D2 debería seguir siendo el procedimiento de rutina[150], reservando la D3 para casos seleccionados.

Otro factor crítico es la obtención de unos márgenes quirúrgicos libres. En la cirugía del colon, a diferencia del recto, los márgenes longitudinales no suelen suponer un problema técnico y la mayoría de las guías recomiendan un margen de al menos 5-10 cm[7]. El margen radial o circunferencial, considerado afecto cuando es ≤1 mm[41], se ha asociado una mayor tasa de recurrencia locorregional y a una menor SG[151,152]. Además, se ha visto que el impacto pronóstico del margen radial depende del tipo de estructura involucrada, siendo más desfavorable cuando afecta directamente el tumor primario que cuando implica ganglios linfáticos o depósitos tumorales[153]. Estudios recientes han reportado tasas preocupantemente altas de afectación, superiores al 10% en algunas series, especialmente en tumores T4 y centros de bajo volumen[154,155].

1.9.2.2. Complicaciones de la cirugía

Las complicaciones postoperatorias, especialmente las complicaciones mayores o que requieren reintervención, impactan negativamente en la SLE y SG, independientemente del estadio del tumor[156].

Entre ellas, la dehiscencia anastomótica destaca por su gravedad. Su incidencia tras cirugía de colon oscila entre el 1% y el 8%, en función de la localización anatómica y definición que se utilice[157–161] y está asociada con una elevada morbilidad y mortalidad perioperatorias[159]. Además, varios estudios han apuntado a una relación con los resultados oncológicos a largo plazo[157,162–164], aunque otros no encuentran diferencias en la cirugía del colon, posiblemente por una menor potencia estadística, ya que es menos frecuente que en el recto[165].

En un metaanálisis que incluyó más de 20.000 pacientes con CCR, Mirnezami et al. observaron que la dehiscencia anastomótica se asociaba significativamente con una mayor recurrencia local OR 2,9 (IC 95% 1,78-4,71; p < 0,001), sin encontrar diferencias significativas en cuanto al riesgo de recurrencia a distancia. Además, identificaron una mortalidad específica por cáncer significativamente mayor (OR 1,75; IC 95%: 1,47-2,1; p = 0,0001)[166]. En un estudio retrospectivo de Law et al. que incluyó 1.580 pacientes, de los cuales 933 fueron sometidos a cirugía por CC, se observó que la supervivencia específica por cáncer a 5 años fue del 56,9% en pacientes con dehiscencia, frente al 75,9% sin dehiscencia. Asimismo, se observó un aumento de las tasas de recurrencia local (del 5,7% al 12,9%) y sistémica (del 22,6% al 48,4%)[164]. Walker et al. analizaron 1.722 pacientes con CCR, encontrando que la presencia de dehiscencia anastomótica se asociaba a un incremento del 60% en el riesgo de muerte global a cinco años y del 80% en el riesgo de muerte específica por cáncer, en comparación con los pacientes sin esta complicación[167]. Es interesante destacar que Nachiappan et al. solo observaron peores resultados en los pacientes en los que la dehiscencia se manejó con una reintervención quirúrgica, y no en el caso de un manejo conservador[168].

En el ámbito de la cirugía de colon exclusivamente, Kube et al. llevaron a cabo un estudio con 28.271 pacientes, y observaron una disminución de la SLE a 5 años del 74,6% al 63% en los pacientes que presentaron una dehiscencia[163]. Por su parte, Krarup et al. analizaron una cohorte con 9.333 pacientes, en la que no se observó una asociación entre dehiscencia y recurrencia local, pero sí se documentó un aumento del riesgo de recurrencia a distancia (HR 1,42; IC 95%: 1,13-1,78; p = 0,003) y de mortalidad a largo plazo (HR 1,20; IC 95%: 1,01-1,44; p = 0,042)[162]. En otro metaanálisis con casi 70.000 pacientes, Mohamed et al. no encontraron diferencias significativas en las tasas de recurrencia local ni sistémica, pero sí observaron una disminución significativa de la SG (RR 0,85; IC 95%: 0,77–0,94), de la SLE (RR 0,80; IC 95%: 0,72–0,89) y de la supervivencia específica por cáncer (RR 0,90; IC 95%: 0,83–0,97)[157].

Se han propuesto diversas teorías para explicar la asociación entre la dehiscencia y los peores resultados oncológicos. Entre ellas, se ha propuesto que la dehiscencia permite la implantación directa de células tumorales exfoliadas[169,170], que la sepsis secundaria puede inducir a un estado inmunosupresor caracterizado por linfopenia T y disfunción de células NK[167], que la dehiscencia puede conllevar la cancelación o el retraso del tratamiento adyuvante[162] y que la alteración del microbioma perianastomótico podría favorecer un microambiente inflamatorio, contribuyendo a la progresión de la enfermedad[171].

Por último, pero especialmente importante para esta tesis doctoral, es el aumento de la inflamación y de la angiogénesis tras la infección peritoneal. En nuestra línea de investigación, diversos trabajos de nuestro grupo han aportado evidencia consistente sobre el papel de la infección peritoneal postoperatoria como facilitadora de la recurrencia tumoral en el CCR, a través de mecanismos inflamatorios y angiogénicos. En un estudio prospectivo, Alonso et al. demostraron que los pacientes con dehiscencia anastomótica o absceso intraabdominal presentaban niveles significativamente más elevados de interleucina 6 (IL-6) y VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), tanto en suero como en líquido peritoneal, en el cuarto día postoperatorio (4DPO) y que estas concentraciones se asociaban con un mayor riesgo de recurrencia tumoral[172]. Posteriormente, en un estudio transcriptómico de leucocitos periféricos en pacientes con y sin infección, concluyeron que la infección intraabdominal postoperatoria induce una firma de expresión génica con características protumorales, asociada a invasión, angiogénesis, evasión inmune y supresión de la citotoxicidad[173]. En un modelo murino, Bohle et al. demostraron que la inducción experimental de infección intraabdominal tras resección tumoral incrementaba la angiogénesis local —medida por la densidad microvascular y niveles séricos de VEGF— y aceleraba la recurrencia tumoral[174]. Finalmente, en un estudio funcional *in vitro*, Salvans et al. evidenciaron que tanto el suero como el líquido peritoneal de pacientes con infección postoperatoria potenciaban significativamente la migración, invasión y proliferación de células tumorales, proporcionando una demostración mecanística directa del efecto del entorno inflamatorio sobre el comportamiento celular[175]. En conjunto, estos trabajos del grupo aportan evidencia robusta que apoya la hipótesis de que la respuesta inflamatoria y angiogénica inducida por la infección postquirúrgica puede alterar el microambiente tisular de forma significativa, favoreciendo la supervivencia y expansión de células tumorales residuales y, con ello, el riesgo de recidiva.

1.10. Angiogénesis

La formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes, fenómeno conocido como angiogénesis[176], constituye un proceso esencial para el desarrollo embrionario, la cicatrización de tejidos y la respuesta adaptativa frente a situaciones de hipoxia o inflamación persistente[176,177]. Esta capacidad de reorganización está regulada por una compleja red de señales moleculares que garantizan que la respuesta angiogénica sea precisa tanto en magnitud como en localización. La angiogénesis implica la cooperación de distintos tipos celulares —endotelio, pericitos, células mesenquimales, inmunes y del estroma— mediante señales solubles, receptores específicos y componentes[178]. Estas interacciones regulan etapas críticas del proceso, como la activación endotelial, degradación de la matriz, migración y proliferación celular, formación de túbulos y posterior maduración del nuevo vaso.

Entre las familias de proteínas que regulan estas etapas, se incluyen factores de crecimiento como VEGF, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y factor de crecimiento de hepatocitos (HGF); mediadores inflamatorios como IL-1β e IL-8; proteínas con efecto inhibitorio sobre la angiogénesis, como las trombospondinas y maspinas; y enzimas que facilitan la remodelación tisular, como el activador de plasminógeno tipo uroquinasa (uPA) o angiogenina. La actividad de estas moléculas no opera de forma aislada, sino en equilibrio dinámico, ajustándose a las demandas tisulares y al entorno microambiental[179].

1.10.1. Proceso angiogénico fisiológico

En la angiogénesis por gemación, como puede verse en la **Figura 9**, las células endoteliales se organizan funcionalmente en tres fenotipos principales: células punta (*tip cells*), células tallo (*stalk cells*) y células falange (*phalanx cells*)[180].

Las células punta son migratorias, polarizadas y se caracterizan por presentar unas largas filopodias que exploran el entorno en respuesta a señales quimiotácticas, guiando así el crecimiento del brote vascular hacia una determinada dirección. Tienen una alta expresión de VEGFR2, lo que las hace muy sensibles a VEGF, y presentan también altos niveles de delta-like 4 (Dll4), permitiendo activar Notch en las células vecinas[177]. Las células tallo, por su parte, siguen a la célula punta y se encargan de proliferar y

formar la luz del nuevo vaso[181]. Finalmente, una vez establecida la perfusión, las células falange estabilizan el vaso, frenando la proliferación y migración, y adoptando un estado quiescente[182,183].

La selección entre fenotipos celulares se regula a través de la vía VEGF-Notch, y más específicamente por la interacción de Dll4 con receptores Notch[184]. Aunque todas las células endoteliales perciben señales de VEGF, solo una célula se convierte en punta, inhibiendo a sus vecinas mediante un proceso de inhibición lateral[185].

El proceso culmina en la anastomosis, cuando dos células punta convergen y forman uniones intercelulares[186]. A continuación, algunas ramas vasculares se estabilizan mientras otras regresan, en un fenómeno regulado parcialmente por la presión de oxígeno[187]. Al completarse el vaso, las células endoteliales cesan su actividad migratoria y proliferativa, adoptando el fenotipo falange. En esta etapa, los pericitos desempeñan un papel clave en la maduración y consolidación de la red vascular. Aunque su presencia suele asociarse con la estabilización estructural y pérdida de plasticidad del endotelio, se ha observado que incluso vasos tumorales recubiertos por pericitos pueden involucionar tras inhibición del eje VEGF[188].

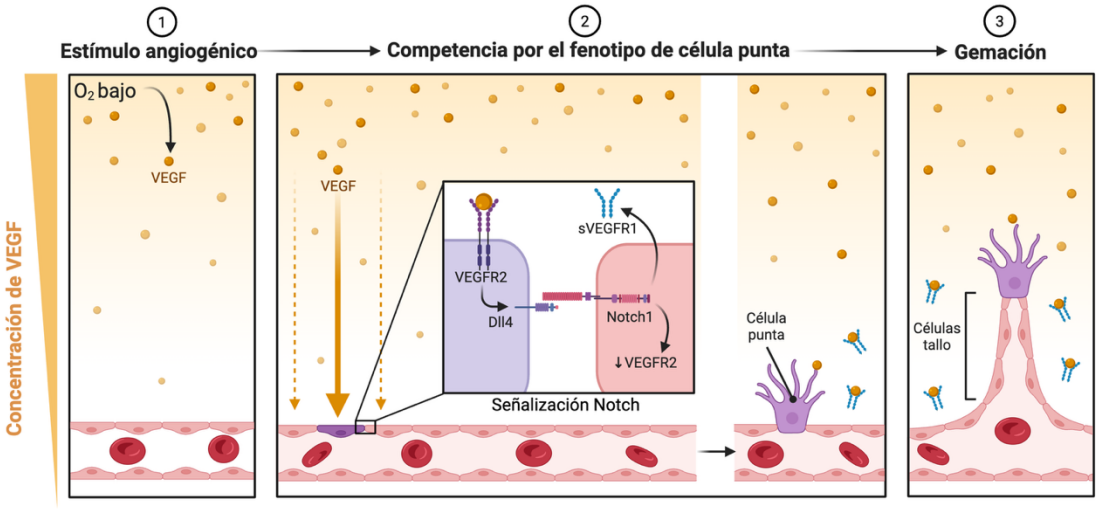


Figura 9. **Proceso de activación de la angiogénesis.** Se representa en tres etapas: (1) el estímulo hipóxico induce la expresión de VEGF, generando un gradiente; (2) se establece una competencia entre células endoteliales, regulada por la señalización VEGF/Notch, para adquirir el fenotipo de célula punta; y (3) la célula punta lidera la gemación angiogénica, mientras que las células tallo proliferan y forman el nuevo vaso. Imagen creada con BioRender.

1.10.1.1. Angiogénesis y respuesta inflamatoria a la cirugía

Tras la cirugía, se desencadena una respuesta inflamatoria fisiológica cuyo objetivo es iniciar y sostener la reparación del tejido. Tradicionalmente se ha dividido en cuatro fases superpuestas: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación**,** aunque en realidad conforman un continuo biológico en el que coexisten múltiples mediadores celulares y moleculares[189,190].

- **Hemostasia (inmediata):** Se inicia con la vasoconstricción de los vasos dañados, seguida por la activación y agregación plaquetaria[191]. Esto conduce a la generación de trombina y a la formación de un coágulo de fibrina, que actúa tanto como barrera hemostática como matriz provisional para la migración celular. El coágulo desempeña una función bioactiva esencial, liberando mediadores como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento trasformador beta (TGF-β)[192], que promueven el reclutamiento de leucocitos y la activación de fibroblastos y células endoteliales[189,190].
- **Inflamación (primeras 24-72 horas):** su objetivo principal es eliminar patógenos y restos celulares, creando un entorno óptimo para la regeneración tisular[189,193]. Se caracteriza por la infiltración secuencial de neutrófilos y monocitos. Los primeros, que constituyen la primera línea de defensa, migran rápidamente al foco lesional por señales de quimiotaxis, donde realizan funciones de fagocitosis y liberación de enzimas proteolíticas y citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), amplificando la respuesta inmunitaria[193]. Los monocitos se diferencian en macrófagos, que además de continuar con la limpieza celular, secretan factores como VEGF, FGF, TGF-β y PDGF[194], que promueven la activación de fibroblastos, la angiogénesis y la transición hacia la fase proliferativa.
- **Proliferación (aproximadamente días 3-14**): se caracteriza por una intensa actividad celular destinada a reconstruir el tejido dañado[189,190]. Los fibroblastos migran al lecho de la herida y sintetizan matriz extracelular provisional[194]. Paralelamente, se activa la angiogénesis, proceso dirigido por factores como VEGF y FGF[195], secretados por macrófagos, fibroblastos, plaquetas y células endoteliales. VEGF, a su vez, puede ser inducido por el óxido nítrico secretado por las células endoteliales en respuesta a la hipoxia[195]. Esta

red vascular es fundamental para oxigenar el tejido, permitir el aporte de nutrientes y facilitar la llegada de células reparadoras.

- **Remodelación (semanas-meses):** busca restaurar la arquitectura y función del tejido[189,190]. Se caracteriza por el remodelado de la matriz extracelular y la organización del colágeno en una red estructurada[194]. Paralelamente, los miofibroblastos contribuyen a la contracción de la herida[190], y la red vascular se estabiliza[195], mientras que otros capilares regresan por apoptosis.

1.10.2. VEGF como eje regulador de la angiogénesis

VEGF es una de las citoquinas más importantes implicadas en la angiogénesis, la vasculogénesis, y la linfagiogénesis, además de participar en la migración celular y la permeabilidad vascular[196–198]. Fue aislado y clonado en la década de 1980 por Napoleone Ferrara y su equipo[199], tras décadas de hipótesis sobre la existencia de un factor que promoviera la formación de nuevos vasos[196]. En la **Figura 10** se muestra una cronología histórica adaptada de Apte et al.[196], que recoge los hitos clave desde las primeras observaciones hasta la clonación del VEGF y el desarrollo de anticuerpos terapéuticos[196,197].

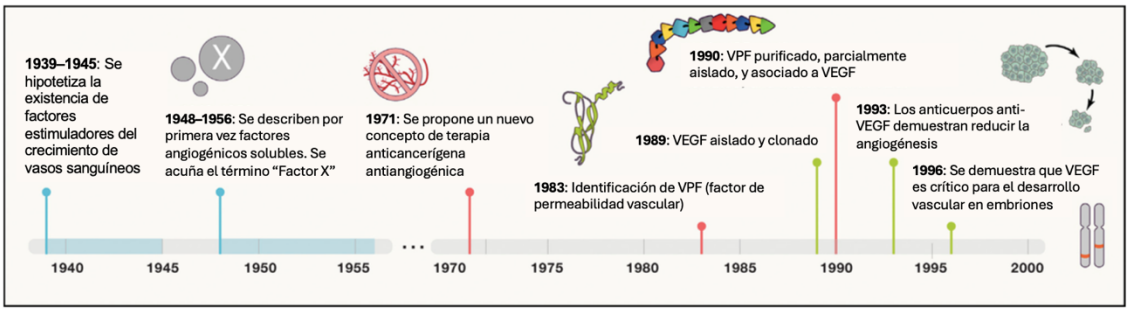


Figura 10. Cronología histórica del descubrimiento de VEGF. Se muestra la evolución del concepto desde la identificación de factores angiogénicos difusos en retinopatía diabética hasta el aislamiento, clonación y validación funcional de VEGF como regulador clave de la angiogénesis y diana terapéutica. Adaptada de Apte et al.[196].

VEGF pertenece a la familia de factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF). En humanos, se han descrito cinco miembros: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y factor de crecimiento (PlGF, del inglés *Placenta Growth Factor*)[196,200,201]. De todos ellos, VEGF-A es el más estudiado y el principal regulador de la angiogénesis fisiológica y patológica, motivo por el cual suele denominarse simplemente "VEGF" en muchas ocasiones[196,197]. Mediante *splicing* alternativo del gen *VEGFA,* se generan varias

isoformas: $VEGFA_{121}$, $VEGFA_{145}$, $VEGFA_{165}$, $VEGFA_{183}$, $VEGFA_{189}$ y $VEGFA_{206}$, que difieren en su afinidad por la heparina, lo que determina su capacidad de difusión y anclaje a la matriz extracelular[202]. Por su equilibrio entre estabilidad y disponibilidad funcional, $VEGFA_{165}$ es la isoforma más biológicamente activa, y el principal objetivo de estudios experimentales y terapias dirigidas[203].

Las proteínas VEGF se ensamblan como homodímeros antiparalelos con estructura de nudo de cisteína, estabilizados por puentes de disulfuro. Sus receptores (VEGFR-1, -2, -3) son tirosina quinasas transmembrana, con dominios tipo inmunoglobulina extracelulares, responsables de reconocer y transducir señales intracelulares[200]. Cada miembro de la familia VEGF tiene una afinidad específica por uno o varios receptores (VEGFR), lo que condiciona sus efectos biológicos[196] **(Figura 11).**

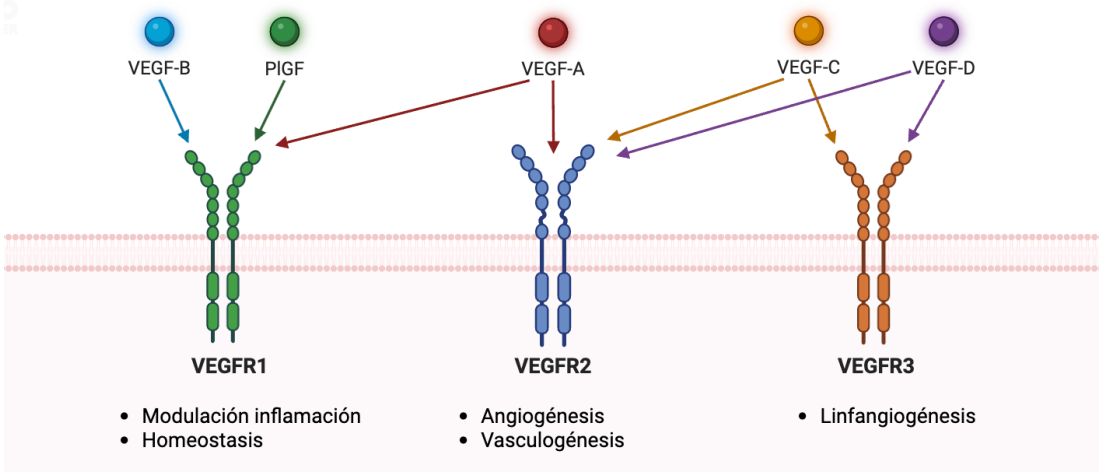


Figura 11. Representación esquemática de los miembros de la familia VEGF. Se ilustran sus principales funciones biológicas, así como sus afinidades relativas por los distintos receptores de la familia VEGFR. Imagen creada con BioRender.com.

VEGF-A se une principalmente a VEGFR-1 (Flt-1) y VEGFR-2 (KDR/Flk-1). VEGFR-2 es el principal mediador de la angiogénesis, estimulando la proliferación, migración y supervivencia de las células endoteliales, así como la formación de vasos sanguíneos. VEGFR-1, en cambio, actúa como modulador negativo, capturando VEGF para limitar su disponibilidad local y ayudando a afinar el gradiente de señalización[177]. VEGF-C y VEGF-D se unen principalmente a VEGFR-3, promoviendo la proliferación de células endoteliales linfáticas durante la linfangiogénesis[204].

VEGF-A ejerce su función principalmente a través del receptor tirosina quinasa VEGFR-2, cuya activación inicia una cascada intracelular compleja que implica múltiples rutas

convergentes responsables de la proliferación, migración, supervivencia y permeabilidad de las células endoteliales[205], como puede verse en la **Figura 12**.

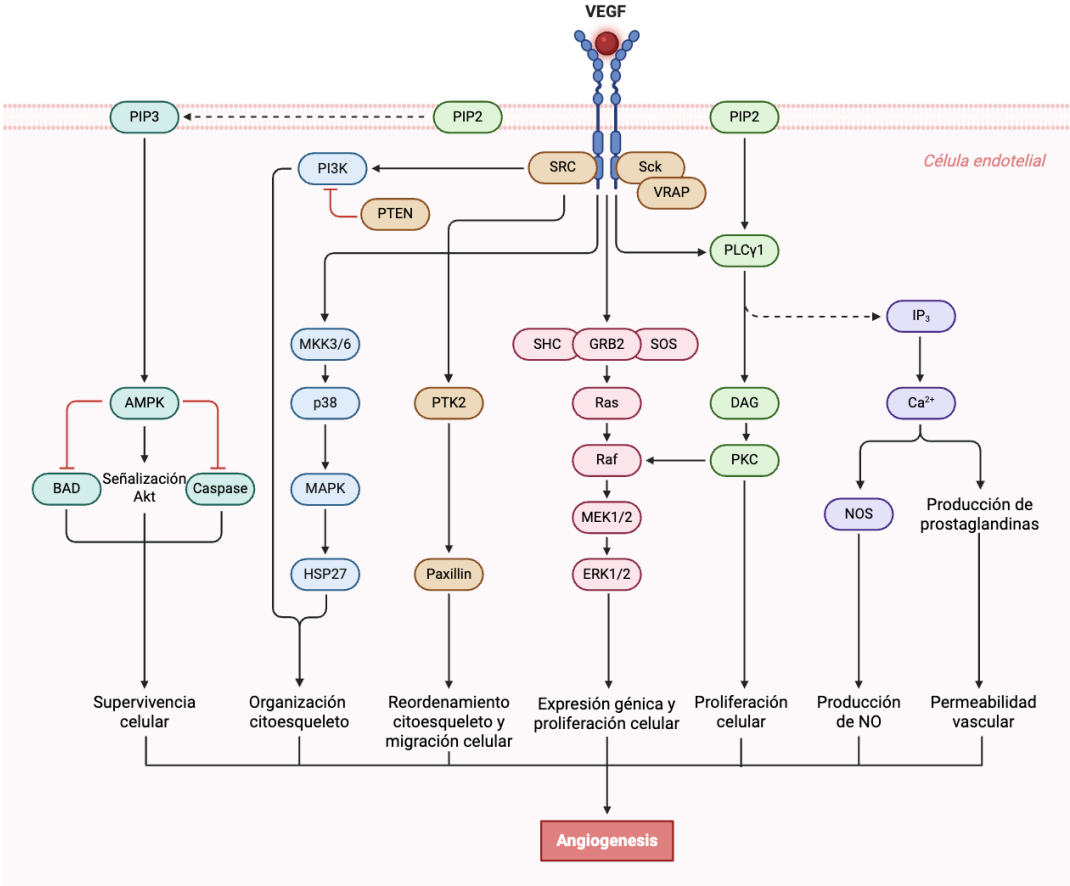


Figura 12. Vía canónica de VEGF-A/VEGFR-2. La unión de VEGF-A a su receptor VEGFR-2 desencadena su dimerización y autofosforilación, activando múltiples vías de señalización intracelular que inducen un fenotipo endotelial proangiogénico. Entre ellas, la vía fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), promueve la supervivencia celular mediante la inhibición de proteínas proapoptóticas como promotor de muerte asociado a Bcl-2 (BAD) y la caspasa-9, en un proceso regulado por la fosfatasa homóloga de tensina (PTEN)[206]. Paralelamente, la activación de la fosfolipasa C gamma 1 (PLCγ1), genera diacilglicerol (DAG) e inositol trisfosfato (IP3): DAG activa la proteína quinasa C beta (PKCβ), que converge en la vía de MAPK (Raf-MEK1/2-ERK1/2) y estimula la expresión génica proliferativa[207], mientras que IP3 promueve la liberación de calcio intracelular, activando la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y favoreciendo la producción de óxido nítrico (NO) y prostaglandinas, que aumentan la vasodilatación y permeabilidad vascular[208]. La migración endotelial se orquestra a través de FAK/paxillin[209] y la vía p38 MAPK, que mediante HSP27 reorganizan el citoesqueleto[210]. En conjunto, estas señales de supervivencia, proliferación, migración y permeabilidad sostienen la angiogénesis patológica. En CCR, esta neovascularización contribuye al crecimiento tumoral, la diseminación metastásica y la evasión inmunológica, lo que subraya el valor terapéutico de VEGF/VEGFR-2 como diana terapéutica. Imagen creada con BioRender.com.

1.10.2.1. VEGF y angiogénesis patológica

VEGF es una molécula clave tanto en la progresión y diseminación del cáncer, como en un amplio abanico de patologías no oncológicas. Su exceso o defecto pueden resultar

patológicos: la sobreexpresión promueve una neoangiogénesis desorganizada y un aumento de la permeabilidad vascular, mientras que su defecto puede conllevar isquemia tisular y a una reparación ineficaz[176,211–213].

En tumores sólidos, la falta de oxígeno y nutrientes limita el crecimiento y su capacidad de invasión y metástasis[214,215], lo que activa mecanismos adaptativos como la angiogénesis. La hipoxia estabiliza el factor transcripcional inducido por hipoxia 1 alfa (HIF-1α), promoviendo la expresión de VEGF, lo que estimula la activación, proliferación y migración de células endoteliales. Esta señalización proangiogénica se potencia por células tumorales y del estroma, y puede amplificarse por la activación de oncogenes como EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), incluso en normoxia. También intervienen otros factores como PDGF, FGF o TGF-α[211].

Aunque los mecanismos celulares implicados son similares a los de la angiogénesis fisiológica, el proceso tumoral se caracteriza por una señalización desregulada y persistente, que genera vasos inmaduros, desorganizados y altamente permeables[216]. Esta red vascular aberrante favorece el crecimiento tumoral, la evasión inmunológica y la diseminación hematógena. Asimismo, en el proceso metastásico, las células tumorales deberán ser capaces de activar los mecanismos angiogénicos en el órgano diana para conseguir el crecimiento del foco metastásico.

1.10.2.2. VEGF en el diagnóstico y pronóstico del CCR

Numerosos estudios han documentado una elevación de los niveles de VEGF en sangre periférica en pacientes con CCR antes de la cirugía, en comparación con individuos sanos[217–220]. Esta sobreexpresión, común en la mayoría de los tumores sólidos, se ha correlacionado con peor pronóstico en varios cánceres, incluyendo mama[221,222], pulmón[223] y próstata[224], entre otros.

En el caso del CCR, una de las evidencias que respalda su implicación en la progresión tumoral es su baja o nula expresión en adenomas colónicos, frente a su presencia incrementada en tumores invasivos y metastásicos[225]. Esta elevación basal se ha asociado con el estadio tumoral, la afectación ganglionar, la densidad vascular, las metástasis y la recurrencia de la enfermedad[218,219,225,226]. Varios metaanálisis han confirmado la asociación entre una mayor expresión de VEGF y peores resultados

oncológicos a largo plazo. Los pacientes con tumores que sobreexpresan VEGF presentan un mayor riesgo de recurrencia y menor SG[227,228], observándose incluso un riesgo cuatro veces mayor de metástasis a distancia[228]. No obstante, en algunos casos no se ha podido demostrar que sea un factor pronóstico independiente[225].

Aunque la mayoría de los estudios se han centrado en el análisis de VEGF-A, también existe evidencia que respalda el valor pronóstico de VEGF-D en el tejido tumoral, asociado a estadios más avanzados, mayor afectación ganglionar, metástasis hepáticas y peor SLE y SG[220,229].

Gran parte de la evidencia disponible se ha centrado en los niveles basales de VEGF en sangre periférica o tejido tumoral. Sin embargo, la implicación de VEGF en el periodo postoperatorio ha sido menos explorada, con variabilidad en cuanto al momento de realizar las determinaciones. Nuestro grupo ha contribuido en este ámbito. En un modelo murino, observamos que niveles más altos de VEGF tras la cirugía se correlacionaban con una mayor angiogénesis y crecimiento tumoral[230]. De forma consistente, en un estudio prospectivo, observamos que los pacientes con concentraciones elevades de VEGF en suero de sangre periférica al 4DPO (>370 pg/mL), presentaron un riesgo de recurrencia independiente cuatro veces mayor[231]. En línea con estos hallazgos, otro grupo español identificó que concentraciones séricas de VEGF superiores a 343 pg/mL a los 30 días de la cirugía se asociaban con mayor riesgo de recurrencia y peor SG[220].

1.10.2.3. VEGF y tratamiento en CRC

El eje VEGF es una diana terapéutica consolidada en el tratamiento del CCR metastásico. El primer agente aprobado en este contexto fue bevacizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado contra VEGF-A, que en combinación con quimioterapia demostró mejorar de forma significativa la SG (20,3 frente a 15,6 meses; HR 0,66; $p < 0,001$) y la supervivencia libre de progresión (10,6 frente a 6,2 meses; HR 0,54; $p < 0,001$)[232]. Además de inhibir la angiogénesis, contribuye a normalizar la arquitectura vascular tumoral, lo que facilita una mejor distribución intratumoral de agentes citotóxicos[233].

La búsqueda de nuevas estrategias tras la progresión a bevacizumab condujo al desarrollo de otros inhibidores del eje VEGF con mecanismos complementarios o alternativos. Entre ellos destacan aflibercept, una proteína de fusión que actúa como

receptor trampa para VEGF-A, VEGF-B y PlGF[234]; regorafenib, un inhibidor multiquinasa oral; ramucirumab, un anticuerpo contra VEGFR-2[235]; y fruquintinib, un inhibidor oral de alta selectividad para VEGFR1-3[236]. Aunque con diferencias en su eficacia y perfil de toxicidad, todos estos agentes han contribuido a consolidar la vía VEGF como una estrategia validada en el manejo de la enfermedad metastásica.

1.10.3. Mediadores alternativos de la angiogénesis

En esta tesis se ha utilizado una plataforma proteómica capaz de cuantificar simultáneamente 55 proteínas implicadas en este entramado angiogénico, ofreciendo una visión funcional más amplia[237]. Para facilitar su análisis, estos marcadores han sido clasificados en cinco categorías funcionales: factores proangiogénicos, inhibidores angiogénicos, factores de crecimiento, mediadores de degradación de matriz extracelular y proteínas inflamatorias[238].

1.10.3.1. Inductores de la respuesta angiogénica

Además de VEGF-A, existen otras proteínas con un papel decisivo en la activación y propagación del programa angiogénico. Estas moléculas participan en la formación de nuevos vasos en respuesta a estímulos como la hipoxia, la inflamación crónica o la demanda metabólica en ciertos tejidos, como ocurre en el entorno tumoral.

Entre ellos, destaca VEGF-C, cuya acción no se limita a la linfangiogénesis. Aunque su receptor principal es VEGFR-3, también puede activar VEGFR-2 en determinadas condiciones[239]. Su sobreexpresión se ha vinculado con progresión tumoral, metástasis a ganglios linfáticos y mayor densidad de vasos en múltiples tipos de cáncer, incluyendo el CCR[240–242]. Por otra parte, Endoglin (CD105), una glicoproteína expresada en células endoteliales activadas, actúa como modulador de la señalización del TGF-β, equilibrando tanto el crecimiento como la diferenciación vascular[243]. Su sobreexpresión en tumores se ha correlacionado con mayor densidad de vasos y con una respuesta angiogénica intensa, especialmente en fases avanzadas de la progresión tumoral[244]. Por su parte, DPPIV (CD26), una ectopeptidasa con funciones inmunológicas y metabólicas, puede modificar los gradientes de señalización quimiotáctica degradando diversas quimioquinas y péptidos reguladores, facilitando así

la migración de células endoteliales y progenitoras hacia zonas de neovascularización activa[245].

1.10.3.2. Inhibidores endógenos y mecanismos antiangiogénicos

El crecimiento de nuevos vasos sanguíneos está sujeto a mecanismos de control que impiden una expansión vascular desordenada o ineficaz. Este equilibrio se mantiene gracias a la acción de diversas proteínas con función antiangiogénica. La pérdida o inhibición funcional de estos factores puede favorecer una expansión vascular caótica e ineficiente.

Entre estas proteínas destaca thrombospondin-2 (TSP-2), una glicoproteína de la matriz extracelular que limita la proliferación y migración de células endoteliales[246]. TSP-2 ejerce su efecto interfiriendo con rutas de señalización clave como las activadas por FGF o VEGF. Además, participa en la estabilización de la matriz y dificulta la degradación proteolítica, dificultando así el avance de brotes vasculares en crecimiento[247]. Otra molécula a tener en cuenta es Serpin B5, también conocida como maspina. Aunque su mecanismo de acción exacto no está completamente dilucidado, diversos estudios han mostrado que su expresión en células tumorales puede reducir la capacidad de inducir angiogénesis, probablemente mediante efectos indirectos sobre la adhesión celular, la matriz extracelular o la expresión de factores angiogénicos secundarios[248]. En varios tipos de cáncer, su pérdida se ha asociado con mayor agresividad biológica y angiogénesis descontrolada[249]. Por su parte, ADAMTS1 combina actividad degradadora con propiedades antiangiogénicas específicas[250]. ADAMTS1 puede inactivar factores proangiogénicos y también influir en la disponibilidad de sitios de anclaje en la matriz extracelular para células endoteliales[251]. Su actividad, aunque más sutil que la de otros inhibidores clásicos, contribuye a limitar la extensión de los vasos recién formados y a preservar la arquitectura vascular[252]. Por último, en este grupo se incluye GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), una citoquina involucrada en la reparación tisular. Se han descrito efectos proangiogénicos, en microambientes inflamatorios crónicos puede inducir una respuesta antiangiogénica al reprogramar a los macrófagos hacia un fenotipo menos inductivo y reducir la producción de VEGF y otras citoquinas proangiogénicas[253–256].

1.10.3.3. Factores de crecimiento y control de la angiogénesis

La angiogénesis depende de una secuencia finamente regulada de eventos celulares, en cuyo centro se encuentran los factores de crecimiento. Estas proteínas actúan como señales específicas que inducen cambios funcionales y fenotípicos en las células endoteliales, promoviendo su activación, proliferación, migración y organización en estructuras capilares. Muchos de estos factores modulan también el comportamiento de células del microambiente, como fibroblastos, pericitos o células inmunes, amplificando así su influencia angiogénica[257].

Uno de los miembros en este grupo es el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), que actúa a través de receptores FGFR activando las vías MAPK/ERK y PI3K/AKT, esenciales en la proliferación y supervivencia celular[258]. A diferencia de VEGF-A, FGF-2 promueve redes vasculares más estables y menos permeables, facilitando una angiogénesis organizada[259], además de participar en el reclutamiento de pericitos y en la síntesis de matriz extracelular. Otros miembros como FGF-4 y FGF-7 tienen efectos más contextuales: FGF-4 ha sido vinculado a procesos neoplásicos por su activación indirecta de rutas proliferativas y angiogénicas[260], mientras que FGF-7, actúa sobre células epiteliales[261], favoreciendo un entorno vascularizado en tejidos regenerativos o tumores con alto componente estromal[262]. Por otro lado, HGF (*hepatocyte growth factor*) activa el receptor c-Met induciendo migración endotelial, formación de estructuras vasculares e incremento de permeabilidad[263]. Ha demostrado inducir angiogénesis incluso en ausencia de VEGF y se asocia a mecanismos de resistencia frente a terapias antiangiogénicas en tumores sólidos[264]. Finalmente, EGF (*epidermal growth factor*), aunque principalmente asociado a la proliferación epitelial, puede influir en la angiogénesis de forma indirecta al inducir VEGF y metaloproteinasas en células del estroma, y modula el perfil secretor de células inmunes y tumorales, reforzando así el componente vascular del microambiente[265].

La coexistencia de múltiples factores de crecimiento con efectos parcialmente solapados confiere plasticidad a la respuesta angiogénica, dificultando su control en enfermedades. La inhibición de un solo eje —por ejemplo, VEGF— puede ser contrarrestada por la activación de rutas alternativas como FGF o HGF[266]. Por ello, analizar un perfil proteómico amplio permite valorar con mayor precisión el potencial angiogénico de un tejido.

1.10.3.4. Enzimas remodeladoras de matriz extracelular en la angiogénesis

La degradación organizada de la matriz extracelular (MEC) es un paso esencial en la angiogénesis. Este proceso permite el avance físico de células endoteliales e inmunes, la liberación de factores anclados a la MEC y la activación de vías proangiogénica[267].

Uno de los principales mediadores de esta degradación es uPA (*urokinase-type plasminogen activator*), que convierte el plasminógeno en plasmina[268], una proteasa que degrada componentes estructurales como fibrina, fibronectina y laminina, y activa a su vez metaloproteinasas de matriz (MMPs). Este proceso facilita el avance celular hacia regiones de neovascularización o invasión[269]. Otro componente fundamental es la angiogenina, una ribonucleasa secretada que favorece indirectamente la remodelación tisular[270]. Estimula la producción de proteasas por células endoteliales y favorece un entorno permisivo para la reorganización tisular. Además, en regiones hipóxicas, actúa promoviendo la neovascularización y la supervivencia celular a través de vías no canónicas[271].

En condiciones fisiológicas, la actividad de estas enzimas está finamente regulada por inhibidores endógenos, como las TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*), que limitan la degradación excesiva y preservan la integridad del tejido[272]. En el microambiente tumoral, este equilibrio suele alterarse, ya sea por un aumento de las proteasas o una disminución de sus inhibidores, lo que da lugar a una matriz desestructurada, hipoxia persistente y mayor capacidad invasiva.

1.10.3.5. Inflamación y señalización angiogénica

La inflamación y la angiogénesis no solo coexisten espacialmente, sino que mantienen una interacción funcional que, en contextos patológicos, se transforma en una verdadera interdependencia. Numerosas proteínas que tradicionalmente se asocian a la activación inmune, contribuyen activamente a la formación de nuevos vasos, actuando de forma directa sobre el endotelio o modulando el microambiente local[273].

IL-1β es una citoquina proinflamatoria que puede inducir la expresión de VEGF, FGF2 y diversas metaloproteinasas, además de aumentar la permeabilidad vascular[274]. En modelos tumorales, su presencia se ha vinculado con una angiogénesis caótica, vasos

mal estructurados y una progresión más agresiva[275,276]. Asimismo, IL-8 (CXCL8) originalmente caracterizada como quimioquina para neutrófilos, también actúa sobre células endoteliales, estimulando su migración, la formación de estructuras tubulares y la resistencia a la apoptosis[277,278]. Su sobreexpresión en tumores se ha asociado con mayor densidad vascular, metástasis y menor respuesta a terapias antiangiogénicas[279]. Por otro lado, Pentraxina 3 (PTX3), una proteína de fase aguda que presenta un perfil complejo. Aunque en determinados modelos animales ha mostrado una acción inhibitoria de la angiogénesis, en tejidos inflamados de forma crónica, su expresión elevada puede reflejar un intento fallido de controlar una respuesta angiogénica ya desbordada[280,281].

En conjunto, los grupos funcionales descritos reflejan la complejidad del proceso angiogénico. La caracterización simultánea en muestras clínicas puede ayudarnos a capturar una visión más integrada y cercana a la dinámica biológica real.

HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

2. HIPÓTESIS

La hipótesis del presente estudio propone que la respuesta angiogénica inducida por la agresión quirúrgica, evaluada principalmente mediante los niveles séricos de VEGF en el 4PDO, se asocia de forma independiente con un mayor riesgo de recurrencia tumoral en pacientes con CC sometidos a cirugía con intención curativa.

2.1. Justificación

El CC es un problema de sanidad pública global. A pesar de la implementación de programas de cribado poblacional dirigidos a disminuir la incidencia y a detectar neoplasias en estadios iniciales, la creciente adopción mundial de estilos de vida occidentales ha provocado que la incidencia de CC continúe aumentando.

Aunque las mejoras multidisciplinares en el tratamiento han conseguido reducir la tasa de recurrencias, esta sigue siendo un desafío clínico. Las herramientas actuales para estratificar el riesgo individual presentan limitaciones a la hora de personalizar la toma de decisiones terapéuticas y el seguimiento de los pacientes. Esta situación justifica la búsqueda continua de estrategias individualizadas que mejoren la precisión pronóstica y guíen el tratamiento de forma personalizada.

En este contexto, la respuesta angiogénica tras la agresión quirúrgica y su posible relación con la recurrencia tumoral representan una línea de investigación prometedora. En 2017, en un estudio unicéntrico, nuestro grupo evidenció que los niveles séricos de VEGF superiores a 370 pg/mL en el 4DPO se asociaban a un riesgo cuatro veces mayor de recurrencia de forma independiente[231].

La intención fundamental de este proyecto es validar prospectivamente estos resultados en una cohorte multicéntrica, buscando consolidar el papel de biomarcadores angiogénicos tempranos como herramienta predictiva en CC.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

Evaluar si la respuesta angiogénica postquirúrgica, medida mediante los niveles séricos de VEGF en el 4DPO, se asocia de manera independiente con el riesgo de recurrencia tumoral en pacientes con CC intervenidos con intención curativa.

3.2. Objetivos secundarios

- Caracterizar la respuesta angiogénica postquirúrgica mediante la cuantificación de VEGF en suero en el 4DPO.

- Analizar la asociación entre los niveles de VEGF postquirúrgico y el riesgo de recurrencia tumoral, y estimar su valor como marcador predictivo independiente mediante modelos de regresión multivariante.

- Validar los hallazgos de un estudio unicéntrico previo[231] en una cohorte independiente, confirmando el valor predictivo de VEGF postoperatorio como biomarcador de recurrencia.

- Caracterizar el perfil de otras proteínas angiogénicas medidas en el 4DPO y explorar su relación con la recurrencia tumoral.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Estudio de validación de VEGF como biomarcador predictivo

4.1.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo multicéntrico, registrado en ClinicalTrials.gov (NCT04851054). La inclusión de pacientes se llevó a cabo entre 2016 y 2020 en siete centros hospitalarios de España. El seguimiento oncológico se completó en 2023, garantizando un tiempo mínimo de monitorización de 24 meses.

4.1.2. Sujetos del estudio

4.1.2.1. Criterios de inclusión:

Pacientes con CC tributarios de una resección quirúrgica programada con intención potencialmente curativa.

4.1.2.2. Criterios de exclusión:

- Diagnóstico sincrónico de otro tumor primario (ya sea en colon o en otras localizaciones).
- Antecedentes de neoplasia metacrónica de colon en los cinco años previos.
- Presencia de enfermedad metastásica al diagnóstico.
- Pacientes en los que no se consigue una resección quirúrgica completa (R0).
- Cirugía realizada de forma urgente.
- Rechazo expreso del paciente a participar en el estudio.

4.1.3. Entorno del estudio

El estudio se desarrolló con la participación de siete instituciones hospitalarias españolas: Althaia Xarxa Assistencial Universitaria de Manresa (Manresa), Hospital Clínico San Carlos (Madrid), Hospital General de Granollers (Granollers), Hospital Universitario La Fe (Valencia), Hospital Joan XXIII (Tarragona), Hospital Germans Trias

i Pujol (Badalona) y Hospital del Mar (Barcelona). La **Tabla 2** muestra las principales características de los centros participantes. La inclusión de hospitales de distintos niveles asistenciales y volúmenes quirúrgicos contribuye a reforzar la validez externa de los resultados.

Tabla 2. Características asistenciales de los hospitales participantes en el estudio.

Hospital	Ciudad	Nº camas aprox.	Cirugías colon/año (estim.)*	Unidad acreditada AECP	Tipo de acreditación AECP
Althaia Xarxa Assistencial Universitària de Manresa	Manresa	~400	~70-80	No	-
Hospital Clínico San Carlos	Madrid	~1000	~150-200	Sí	Avanzada
Hospital General de Granollers	Granollers	~300	~70-90	No	-
Hospital Universitario La Fe	Valencia	~1000	~150-200	Sí	Avanzada
Hospital Universitari Joan XXIII	Tarragona	~500	~90-100	No/En proceso	-
Hospital Germans Trias i Pujol	Badalona	~600	~100-150	Sí	Avanzada
Hospital del Mar	Barcelona	~400	~70-80	Sí	Avanzada

AECP: Asociación Española de Coloproctología.*Fuente: según datos aportados por los investigadores colaboradores de cada centro y según los datos del registro de *Vigilància de les Infeccions Relacionades amb l'Atenció Sanitària a Catalunya* (VINCat) de 2024.

4.1.4. Variables y recogida de datos

De cada paciente incluido en el estudio se registraron las siguientes variables clínicas, quirúrgicas, anatomopatológicas, analíticas y de seguimiento:

1. Características demográficas y clínicas:
    - Edad
    - Sexo

- Centro hospitalario de procedencia

2. Datos relacionados con la intervención quirúrgica:
    - Fecha de la intervención
    - Tipo de abordaje quirúrgico (abierto o mínimamente invasivo)
    - Procedimiento realizado (hemicolectomía derecha, hemicolectomía izquierda o sigmoidectomía)
    - Estancia hospitalaria (en días)
    - Clasificación de complicaciones según Clavien-Dindo[282]
    - Morbilidad postoperatoria, especificando:
        - Íleo paralítico
        - Dehiscencia de sutura
        - Infección intraabdominal (absceso, peritonitis)
        - Infección de herida quirúrgica
        - Otros (especificados por los investigadores colaboradores)
    - Reintervención por cualquier causa (dentro de los 30 días postoperatorios)
    - Mortalidad (dentro de los 90 días postoperatorios)

3. Estudio histopatológico de la pieza quirúrgica
    - Tipo histológico del tumor
    - Grado de diferenciación (alto o bajo)
    - Presencia de perforación tumoral
    - Presencia de invasión vascular, linfática y perineural
    - Número total de ganglios resecados
    - Número de ganglios con afectación metastásica
    - Estado de los márgenes de resección (R0, R1 o R2)
    - Clasificación TNM y estadio tumoral (Según AJCC/UICC)[42]

4. Datos analíticos
    - Nivel sérico de VEGF (pg/mL) en el 4DPO

5. Seguimiento oncológico
    - Administración de tratamiento adyuvante (sí/no)
    - Recurrencia tumoral (sí/no)
    - Fecha de la recurrencia tumoral (si aplica)

- Tipo de recurrencia (local, sistémica o local y sistémica)
- Mortalidad relacionada o no con el cáncer (fecha)
- Fecha del último seguimiento

4.1.5. Definiciones

La recidiva local se definió como la reaparición del tumor en la zona de resección quirúrgica o en sus proximidades, incluyendo la anastomosis, el lecho tumoral o el mesenterio adyacente, confirmada mediante evaluación radiológica y/o examen histológico. Se consideró recurrencia sistémica a la aparición de metástasis a distancia más allá del campo quirúrgico, afectando a otros órganos como el hígado, los pulmones o el peritoneo. Se consideró recurrencia local y sistémica cuando se presentó una combinación de ambas.

La supervivencia libre de enfermedad (SLE) se definió como el intervalo desde la cirugía hasta la recidiva del cáncer o muerte, cualquiera que sucediera antes. La supervivencia general (SG) se definió como el tiempo transcurrido desde la cirugía hasta el fallecimiento por cualquier causa.

4.1.6. Obtención de las muestras

Se obtuvo al menos una muestra de 10mL de sangre venosa periférica a cada paciente en el 4DPO. Las muestras fueron recogidas en tubos sin anticoagulante con activador de la coagulación (tubos secos) y posteriormente, fueron centrifugadas de forma inmediata a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos a 4ºC. El suero obtenido fue fraccionado en alícuotas y conservado a −80 °C. Este procesamiento fue protocolizado y realizado en los centros de origen. Las muestras fueron trasladadas al Hospital del Mar Research Institute en medios con nieve carbónica y almacenados a -80ºC hasta el momento de su análisis.

Por motivos de consistencia metodológica, se empleó el mismo protocolo de obtención, procesamiento y almacenaje que en el estudio unicéntrico previo[231].

4.1.7. Determinación de VEGF en suero

La concentración sérica del factor angiogénico VEGF se determinó mediante un ensayo inmunoenzimático tipo ELISA (del inglés, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), utilizando el kit comercial Quantikine® ELISA Human VEGF Immunoassay (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, Cat. No. DVE00). Este kit permite la cuantificación específica de la isoforma de $VEGFA_{165}$, considerada la variante biológicamente más activa y predominante en los tejidos[196].

Se empleó un protocolo de ELISA cuantitativo tipo sándwich, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante[283]. Cada pocillo de la microplaca suministrada por el kit estaba recubierto con un anticuerpo monoclonal específico para VEGF humano. Inicialmente, se añadieron 100 µL del diluyente del ensayo (*Assay Diluent RD1W*) a cada pocillo, seguidos de 100 µL de muestra, estándar o control. La placa se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente, permitiendo que cualquier VEGF presente en la muestra se uniera al anticuerpo de captura. Tras la incubación, se realizaron un total de tres lavados con el tampón de lavado (*Wash Buffer*), con el fin de eliminar material no unido. A continuación, se añadieron 200 µL del conjugado de VEGF humano (*VEGF conjugate*), un anticuerpo policlonal específico conjugado con enzima, y se incubó nuevamente durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de un segundo lavado, se añadieron 200 µL de la solución sustrato (*Substrate Solution*), incubando durante 25 minutos a temperatura ambiente para permitir la generación de la señal colorimétrica, proporcional a la cantidad de VEGF presente en la muestra. La reacción se detuvo mediante la adición de 50µL de la solución de parada (*Stop Solution*). La intensidad del color se midió de inmediato en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm. En la **Figura 13** podemos ver una representación esquemática del ensayo.

Para la cuantificación, se preparó una curva estándar mediante diluciones seriadas de una proteína recombinante de VEGF de concentración conocida. Las concentraciones de VEGF en las muestras analizadas se determinaron por interpolación en dicha curva, expresándose los resultados en picogramos por mililitro (pg/mL). En los casos en que fue necesario, se aplicó un factor de corrección correspondiente a la dilución realizada.

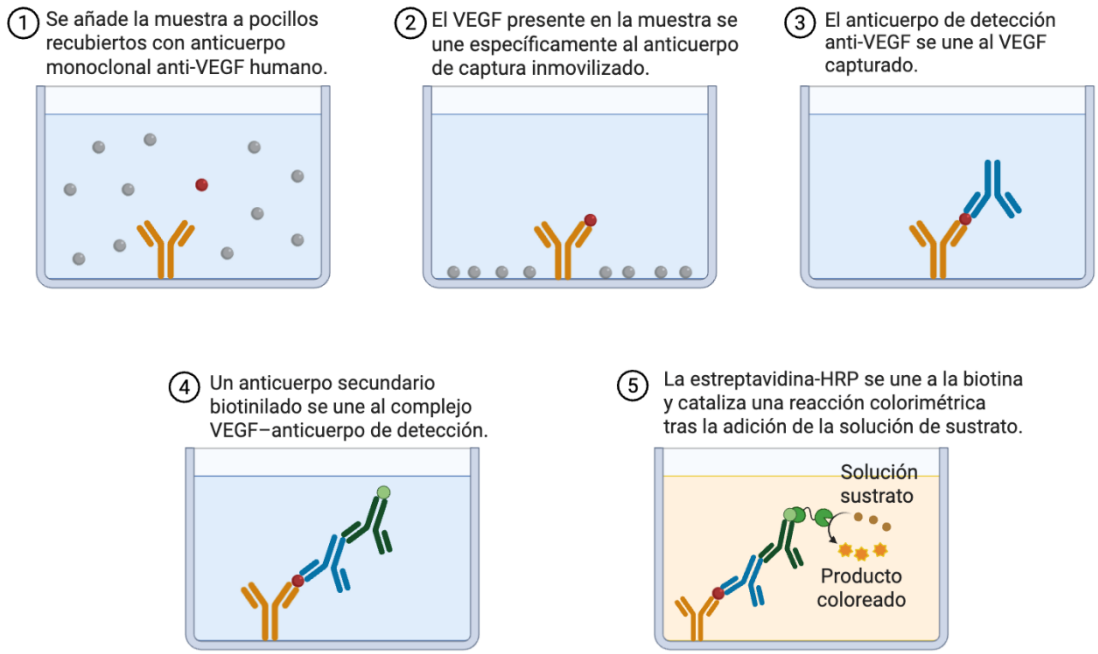


Figura 13. Representación esquemática del ensayo ELISA tipo *sándwich.* Técnica utilizada para la cuantificación sérica de VEGF. Imagen creada con BioRender.com.

4.1.8. Tratamiento adyuvante y seguimiento oncológico

La indicación de tratamiento adyuvante se basó en el estadio tumoral, conforme a los protocolos institucionales y siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO)[3]. Los pacientes con tumores en estadio III recibieron quimioterapia de forma sistemática, salvo contraindicación médica o decisión informada del paciente. En el caso de los pacientes con tumores en estadio II, la administración de quimioterapia adyuvante se reservó para aquellos pacientes con factores de riesgo[3]. En todo momento se respetaron las preferencias del paciente y del oncólogo tratante.

El seguimiento oncológico se realizó de acuerdo con las directrices de la ESMO[3] e incluyó evaluaciones clínicas periódicas con determinación de antígeno carcinoembrionario (CEA) en suero cada tres meses, y tomografía computarizada (TC) torácica y abdominal cada seis meses. En los casos con elevación del CEA o sospecha clínica de recurrencia, las pruebas de imagen se adelantaron o se ampliaron según criterio médico. Para este estudio, se estableció un seguimiento mínimo de 24 meses, dado que el riesgo de recurrencia es mayor durante los dos primeros años tras la cirugía[3,69].

En la **Figura 14** se puede ver un resumen gráfico del diseño del estudio.

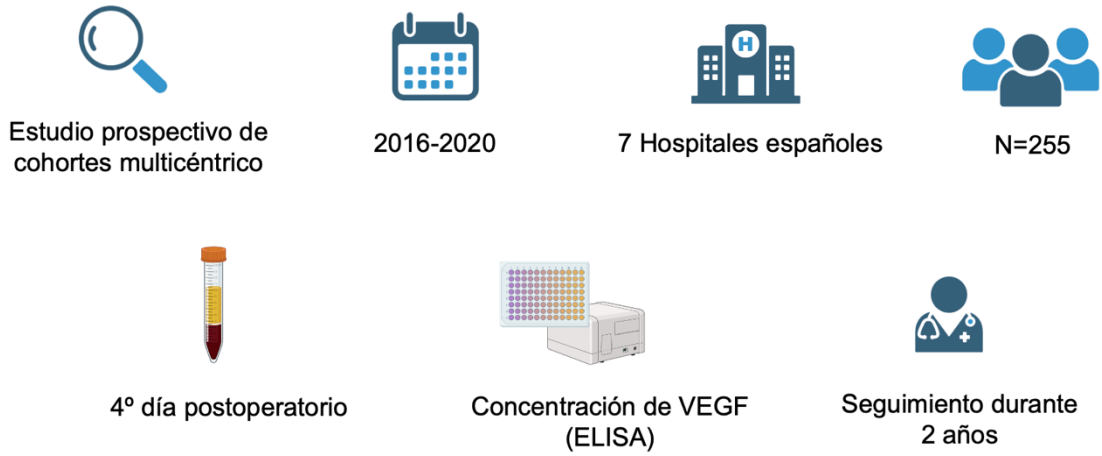


Figura 14. Resumen gráfico del diseño y metodología del estudio.

4.1.9. Análisis estadístico

4.1.9.1. Cálculo del tamaño muestral

El cálculo del tamaño muestral se basó en los resultados de nuestro estudio previo, que analizaba las diferencias en recurrencia según los niveles séricos de VEGF, empleando un punto de corte de 370 pg/mL[231]. Según estos datos, se estimó que aproximadamente el 50% de los pacientes presentarían niveles de VEGF superiores a este umbral, con una tasa de recurrencia a dos años del 30% en ese grupo[69].

Con el objetivo de detectar una diferencia del 15% en la tasa de recurrencia entre ambos grupos (es decir, una tasa del 15% en el grupo con VEGF <370 pg/mL), se determinó que serían necesarios 280 pacientes (140 por grupo) asumiendo una potencia estadística del 80%, un error alfa de 0,05 y una tasa máxima de pérdidas durante el seguimiento del 15%.

4.1.9.2. Métodos estadísticos aplicados

Las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y porcentajes, y las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera. Las variables continuas se resumieron como media ± desviación estándar (DE) o mediana y rango intercuartílico (RIQ), según la distribución observada. La normalidad se evaluó mediante el test de Shapiro-Wilk complementado con inspección visual de histogramas. En función de la distribución, se utilizó la prueba t de Student o la prueba U de Mann-Whitney.

Los análisis de supervivencia, incluyendo la SLE y la SG, se llevaron a cabo mediante el método de Kaplan-Meier, y las diferencias entre grupos se evaluaron con la prueba de log-rank. La mediana de seguimiento se calculó mediante el método de Kaplan-Meier inverso. Todos los análisis se realizaron según el principio de intención de tratar, incluyendo a todos los pacientes asignados al estudio, independientemente del tiempo final de seguimiento. En los análisis de supervivencia, los pacientes que no alcanzaron los 24 meses de seguimiento por pérdida o finalización anticipada fueron considerados censurados en el último punto de contacto disponible.

Con el objetivo de validar prospectivamente los hallazgos previamente publicados[231], se realizó una comparación sistemática entre las características basales de los pacientes de la cohorte actual y las del estudio original. Durante este proceso, se revisaron exhaustivamente las variables de la cohorte previa, identificándose algunas discrepancias menores en la codificación de variables —como la clasificación de ciertas complicaciones postoperatorias— y la ausencia de valores de VEGF en ocho pacientes. Estas diferencias se atribuyeron al uso de versiones anteriores de los criterios de recogida y clasificación. Para garantizar la validez y reproducibilidad del análisis comparativo, se procedió a actualizar la base de datos histórica utilizando exclusivamente los registros disponibles y verificables, aplicando además los criterios actualmente vigentes empleados en la cohorte prospectiva. Todos los análisis se realizaron con los datos corregidos.

Dado que se observaron diferencias clínicas y patológicas relevantes entre ambas poblaciones, se llevó a cabo un emparejamiento por puntuación de propensión (*propensity score matching*, PSM) para minimizar el sesgo de confusión. El

emparejamiento se realizó en una proporción 1:1 utilizando el método del vecino más próximo (*nearest neighbor*) sin reemplazo, aplicando un calibre de 0,2 desviaciones estándar del logit de la puntuación de propensión. Las covariables incluidas en el modelo fueron: edad, sexo, estadio tumoral, invasión linfática, vascular y perineural, tratamiento adyuvante, abordaje quirúrgico y la clasificación de complicaciones según Clavien-Dindo. El equilibrio de covariables antes y después del emparejamiento se evaluó mediante el cálculo de diferencias estandarizadas, considerando adecuado un desequilibrio inferior a 0,1 en valor absoluto. Este procedimiento permitió equilibrar las principales covariables de confusión y generar dos cohortes clínicamente comparables, lo que facilitó una validación robusta del valor pronóstico del VEGF sérico medido en el 4DPO.

Se realizaron análisis de regresión de Cox univariantes y multivariantes para identificar los factores asociados a la SLE. Para el modelo multivariante se incluyeron las variables con una $p < 0,10$ en el análisis univariante, así como aquellas de relevancia clínica predefinida. Los resultados se expresaron como cocientes de riesgos instantáneos con sus correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95%. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa informático R (versión 4.4.2).

4.2. Análisis exploratorio del perfil angiogénico mediante cuantificación multiplexada de proteínas. Estudio preliminar

Dado que los resultados del estudio de validación de VEGF no confirmaron su valor predictivo en esta cohorte, se planteó la necesidad de explorar otros mediadores involucrados en la angiogénesis tumoral. Con este propósito, se diseñó un análisis preliminar y descriptivo que permitiera evaluar la expresión de un panel más amplio de proteínas angiogénicas en pacientes con y sin recurrencia tras cirugía curativa de cáncer de colon.

Este análisis complementario se llevó a cabo utilizando la misma cohorte de pacientes incluida en la fase inicial del estudio. Para ello, se emplearon arrays comerciales de membrana con detección por quimioluminiscencia, que permiten la cuantificación semicuantitativa y simultánea de diversas proteínas relacionadas con la regulación de la angiogénesis tumoral. Esta estrategia buscó identificar perfiles expresivos

diferenciales entre pacientes con y sin recurrencia, que pudieran contribuir a una mejor comprensión de los mecanismos implicados en la recaída postoperatoria.

4.2.1. Selección de las muestras

Se seleccionaron 60 pacientes de la cohorte de validación de VEGF, diferenciando entre individuos con y sin recurrencia tumoral. Dado que 40 pacientes de la cohorte inicial presentaron una recurrencia durante el seguimiento, se seleccionaron aleatoriamente 30 de ellos mediante muestreo aleatorio simple sin reemplazo, con el fin de garantizar una selección no sesgada del grupo con recurrencia.

Posteriormente, se seleccionó una cohorte comparable de 30 pacientes sin recurrencia, mediante un emparejamiento por puntuación de propensión (PSM) en proporción 1:1 y sin reemplazo, con el objetivo de equilibrar las principales variables de confusión entre los grupos. Las variables en el emparejamiento fueron: sexo, edad, localización tumoral, abordaje quirúrgico, clasificación de Clavien-Dindo y estadio tumoral. Se empleó el método del vecino más próximo con una amplitud de calibre de 0,2 desviaciones estándar del logit de la puntuación de propensión.

4.2.2. Determinación de proteínas angiogénicas mediante arrays comerciales

Para el análisis del perfil angiogénico en los pacientes seleccionados, se utilizó el kit comercial Proteome Profiler Human Angiogenesis Array Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA; código ARY007), que permite la detección cualitativa y semicuantitativa de 55 proteínas angiogénicas. En la **Tabla 3** se detallan las proteínas evaluadas, junto con su gen correspondiente y principal función biológica.

Tabla 3. Clasificación funcional de las proteínas analizadas mediante el array angiogénico.

Grupo funcional	Proteína	Gen (ID)
Inductores de la respuesta angiogénica	Activina A	3624
	Angiogenina	283
	Angiopoyetina-1	284
	Angiopoyetina-2	285
	DPPIV (CD26)	1803
	Endoglina (CD105)	2022
	Endotelina-1	1906
	Factor de coagulación III	2152
	IGFBP-1	3484
	IGFBP-2	3485
	IGFBP-3	3486
	LAP (TGF-β1)	7040
	VEGF-A	7422
	VEGF-C	7424
Inhibidores endógenos y mecanismos antiangiogénicos	ADAMTS-1	9510
	Angiostatina	5340
	Endostatina	80781
	Factor plaquetario 4 (PF4)	5196
	GM-CSF	1437
	Maspina (Serpin B5)	5268
	PEDF (Serpin F1)	5176
	Pentraxina 3	5806
	Prolactina	5617
	Trombospondina-1	7057
	Trombospondina-2	7058
	Vasohibina-1	22846
Factores de crecimiento y control de la angiogénesis	Amfiregulina	374
	Artemina	9048
	EGF	1950
	EG-VEGF	84432
	FGF-1	2246
	FGF-2	2263
	FGF-4	2249
	FGF-7	2252
	GDNF	2668
	HB-EGF	1839
	HGF	3082
	NRG1-β1	3084
	PD-ECGF	1890
	PDGF-AA	5154
	PDGF-AB/BB	5155
	PlGF	5228

Grupo funcional	Proteína	Gen (ID)
Enzimas remodeladoras de matriz extracelular en la angiogénesis	MMP-8	4317
	MMP-9	4318
	PAI-1 (Serpin E1)	5054
	TIMP-1	7076
	TIMP-4	7079
	uPA	5328
Inflamación y señalización angiogénica	CCL2/MCP-1	6347
	CCL3/MIP-1α	6348
	CXCL16	58191
	IL-1β	3553
	IL-8	3576
	Leptina	3952

Basada en la clasificación de Bensal et al.[238].

El ensayo se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante[237]. Inicialmente, las membranas fueron incubadas con 2 mL de tampón de incubación (*Array Buffer 7*) durante una hora. Paralelamente, se prepararon las muestras añadiendo 0,5 mL de tampón de dilución (*Array Buffer 4*) a 1 mL de suero, seguido de la incorporación de 15 μL del cóctel de anticuerpos de detección (*Detection Antibody Cocktail).* Esta mezcla se incubó a temperatura ambiente durante una hora.

Finalizado este paso, se eliminó el tampón de incubación de las membranas y se añadió la mezcla de muestra con anticuerpos. Las membranas se incubaron durante toda la noche a 2-8ºC bajo agitación continua.

Al día siguiente, se realizaron tres lavados sucesivos de las membranas con tampón de lavado (*Wash Buffer*) durante 10 minutos cada uno. Posteriormente, se añadió 2 mL de estreptavidina conjugada con peroxidasa (*Streptavidina-HRP*), previamente diluida según las recomendaciones del fabricante, y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente en agitación. Tras un nuevo lavado, las membranas se secaron cuidadosamente y se colocaron en fundas plásticas especiales para el revelado. Finalmente, se añadió 1 mL de la mezcla de revelado químico (*Chemi Reagent Mix*) sobre cada membrana, se cubrieron con la funda protectora y se incubaron durante un minuto a temperatura ambiente. La adquisición de imágenes se realizó mediante el sistema Fusion FX (Vilber Lourmat, modelo IM 4118), equipado con cámara CCD de

alta sensibilidad para detección por quimioluminiscencia. Las imágenes fueron obtenidas con tiempos de exposición estandarizados (entre 1 y 10 minutos), utilizando el software Fusion-Capt.

El análisis semicuantitativo de las señales se realizó mediante el software QuickSpot versión 25.6.4.2 (Ideal Eyes Systems Inc., Bountiful, UT, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante y utilizando los archivos de referencia proporcionados por R&D Systems para el kit ARY007. Este software permite la cuantificación por densitometría de la intensidad de señal emitida por cada punto correspondiente a una proteína específica, expresando los resultados en unidades de intensidad media de píxel (*mean pixel intensity*). Cada membrana fue sometida a una sustracción de fondo (*background subtraction*) y normalizada respecto a la media de los puntos de control positivos presentes en cada array (*positive control spots*), de acuerdo con los estándares del análisis. La normalización de las señales se efectuó mediante los puntos de control internos presentes en cada membrana, lo que permitió minimizar la variabilidad técnica y comparar de forma fiable las intensidades relativas entre muestras.

En la **Figura 15** se muestra un ejemplo representativo de una membrana ya revelada, con la distribución de las señales específicas según la coordenada predefinida de detección.

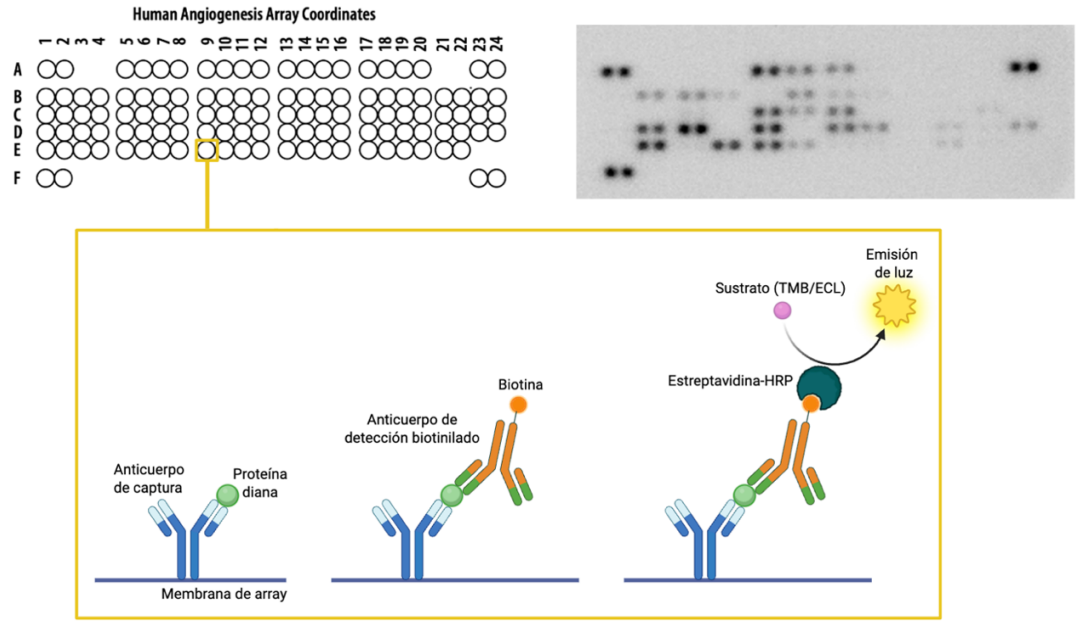


Figura 15. **Representación esquemática del funcionamiento del array y ejemplo de una membrana ya revelada.** La parte inferior ilustra el principio de detección, y en la parte superior, la disposición de las coordenadas de detección junto con una imagen representativa de una membrana ya revelada, donde la intensidad de cada punto refleja la concentración relativa de la proteína correspondiente. Imagen creada con BioRender.com.

4.2.3. Métodos estadísticos aplicados

Las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y porcentajes, y las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera. Las variables continuas se resumieron como media ± DE o mediana y RIQ, según la distribución observada. La normalidad se evaluó mediante el test de Shapiro-Wilk complementado con la inspección visual de histogramas. En función de dicha distribución, se utilizó la prueba t de Student o la prueba U de Mann-Whitney.

El análisis estadístico se estructuró en diferentes etapas. En primer lugar, se compararon los niveles de las 55 proteínas angiogénicas entre pacientes con y sin recurrencia utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Estas comparaciones se realizaron sobre los datos sin transformar, es decir, empleando las intensidades de señal crudas obtenidas de los arrays, con el fin de preservar la información original y evaluar diferencias absolutas de expresión entre grupos. Para evitar errores tipo I derivados del análisis múltiple de proteínas, se aplicó una corrección por comparaciones múltiples basada en la estimación del q-valor mediante el método de Benjamini-Hochberg, con el objetivo de controlar la tasa de falsos descubrimientos (*False Discovery Rate*, FDR). Solo se consideraron significativas aquellas proteínas con $q < 0,05$.

Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación de Spearman entre las concentraciones séricas de VEGF, determinadas mediante ELISA (pg/mL), y los niveles relativos de VEGF obtenidos por array (medidos como intensidad media de píxel). Este análisis tuvo como objetivo evaluar el grado de concordancia entre ambas técnicas de medición y explorar la posibilidad de extrapolar cuantitativamente los valores derivados del array a concentraciones séricas absolutas.

Posteriormente, para el análisis multivariante, las intensidades de señal se normalizaron mediante el cálculo del Z-score. Esta transformación convirtió cada valor proteico en una puntuación estándar en relación con la media y la desviación estándar de la cohorte, permitiendo una comparación estandarizada entre variables con escalas diferentes, y mejorando la estabilidad numérica e interpretación de los modelos estadísticos. Se construyó un mapa de calor (heatmap) utilizando el paquete *ComplexHeatmap* de R, representando la expresión relativa de las proteínas más relevantes en relación con la recurrencia tumoral.

Para aquellas proteínas que mostraron una concentración diferencial entre grupos, se realizó un análisis adicional mediante ANOVA estratificado por administración de quimioterapia adyuvante, con el fin de confirmar que las diferencias observadas en su expresión eran independientes de dicho tratamiento.

Posteriormente, se identificó el punto de corte óptimo para la proteína con mayor valor pronóstico mediante la herramienta exploratoria *ClinicoPath*, una aplicación desarrollada en R que permite determinar umbrales óptimos de variables continuas en función de la supervivencia. Esta herramienta utiliza funciones de los paquetes *survival*, *survminer* y *finalfit*, y calcula el punto de corte que mejor discrimina entre pacientes con y sin evento (recurrencia), optimizando la separación de las curvas de Kaplan-Meier mediante el estadístico log-rank

El modelo de regresión de Cox multivariante para la SLE fue ajustado por covariables clínicas relevantes como edad, sexo, tratamiento adyuvante y ganglios positivos. Los resultados se expresaron como HR con sus respectivos intervalos de confianza al 95 %.

Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$ en todos los análisis. El procesamiento de datos y los análisis estadísticos se llevaron a cabo en R, versión 4.4.2.

4.3. Gestión de muestras biológicas

Una vez procesadas las muestras biológicas, el excedente de suero fue almacenado en el Parque de Investigación Biomédica de Barcelona (PRBB), en condiciones controladas de congelación a -80ºC. Transcurridos seis años, las muestras serán donadas al Biobanco del Hospital del Mar Research Institute para su conservación en una seroteca pública, siguiendo los procedimientos establecidos por dicho biobanco y de acuerdo con la normativa vigente en investigación biomédica.

4.4. Aspectos éticos

Los estudios descritos se han llevado a cabo conforme a las directrices nacionales e internacionales en investigación clínica, incluyendo el Código Deontológico Médico, la

Declaración de Helsinki, y la legislación vigente en materia de protección de datos personales (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, LOPD).

El protocolo del primer estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética del centro coordinador (**Anexo 1**) y por los comités éticos de todos los centros participantes. Todos los pacientes recibieron información detallada, oral y escrita, sobre los objetivos y procedimientos del estudio (**Anexo 2: hoja de información al paciente**), y firmaron el consentimiento informado antes de su inclusión (**Anexo 3**). Asimismo, fueron informados de su derecho de acceso, rectificación y cancelación de datos, así como de su derecho a retirarse del estudio en cualquier momento sin que ello afectase a su atención médica.

Para la realización del segundo análisis (centrado en la caracterización ampliada de proteínas angiogénicas mediante arrays), se obtuvo una nueva aprobación por parte del Comité de Ética del centro coordinador (**Anexo 4)**. Dado que las muestras estaban ya anonimizadas y no era posible volver a contactar con los pacientes, se justificó que el nuevo análisis se enmarcaba dentro del mismo objetivo principal del estudio original: caracterizar la respuesta angiogénica y su asociación con la recurrencia tumoral. Por tanto, no se alteró la finalidad inicial del proyecto ni se comprometieron los principios éticos aplicables.

4.5. Aspectos de financiación

La primera parte del presente estudio se ha realizado con la ayuda de una beca de la Asociación Española de Coloproctología (AECP) concedida en 2016, con importe de 6000€. La segunda parte del estudio se ha desarrollado con el apoyo de dos becas adicionales: una de la Asociación Española de Coloproctología (AECP) (número de registro 14564) y otra de la Societat Catalana de Cirurgia (SCC) (número de registro 15002), ambas concedidas en 2021, con importe de 6000€.

Ninguna de las entidades financiadoras intervino en el diseño, ejecución, análisis de los datos o interpretación de los resultados del estudio.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Resultados del estudio de validación de VEGF

5.1.1. Reclutamiento e inclusión de pacientes

Un total de 292 pacientes fueron inicialmente valorados para su elegibilidad, de los cuales 37 fueron excluidos del análisis final. La mayoría de las exclusiones se debieron al incumplimiento de los criterios de inclusión, mientras que dos pacientes fueron excluidos por errores técnicos en la determinación del valor sérico de VEGF, sin posibilidad de repetir la medición por falta de muestra disponible. El diagrama de flujo de pacientes incluidos y excluidos se muestra en la **Figura 16.**

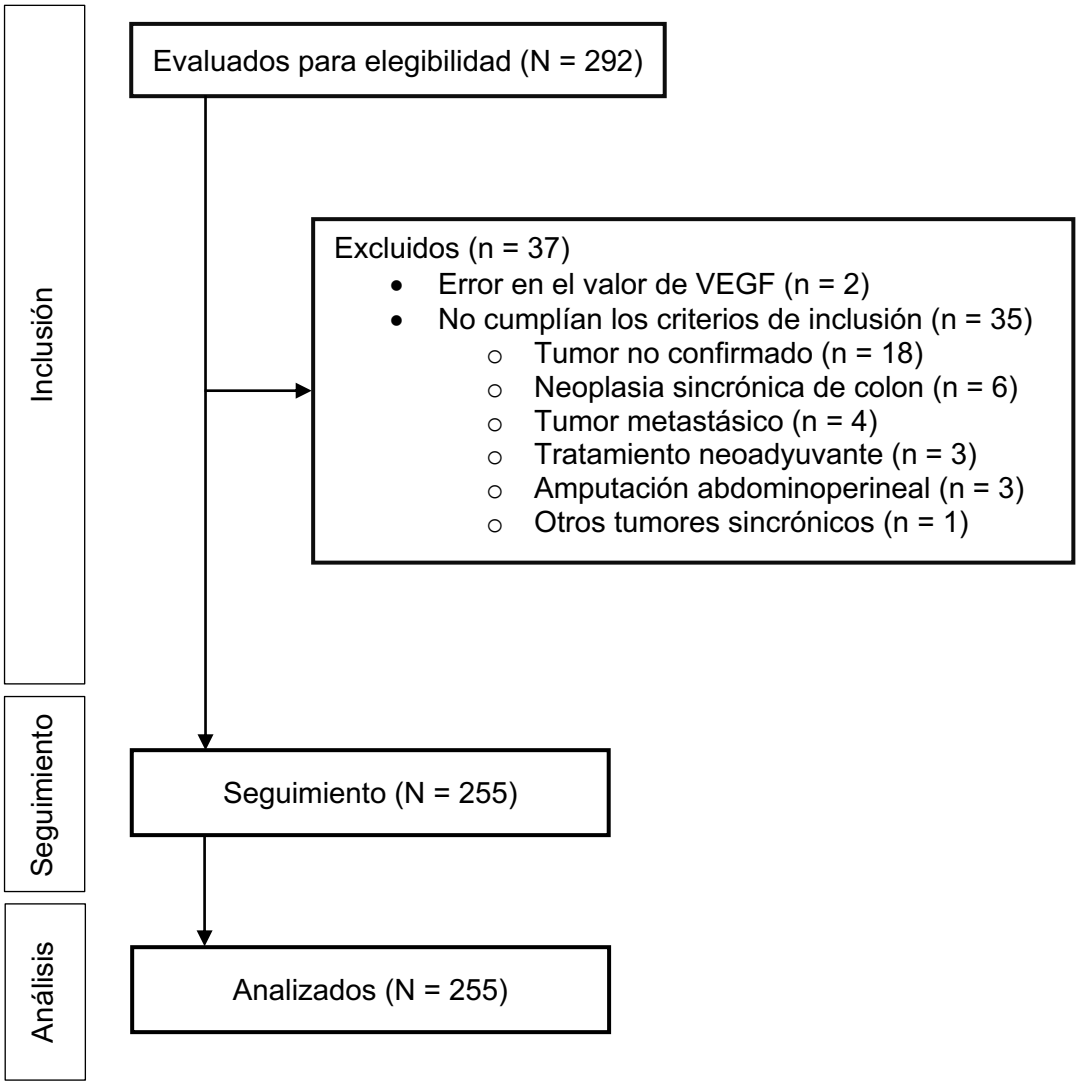


Figura 16. Diagrama de flujo de los pacientes participantes en el estudio.

Finalmente, se analizaron 255 pacientes. Cabe destacar que el cálculo muestral inicial estimaba un total de 280 pacientes, previendo una pérdida aproximada del 15% (equivalente a 42 pacientes), por lo que la muestra final analizada cumple con los requisitos establecidos en el cálculo inicial. En la **Tabla 4** se puede ver el número de pacientes aportados por cada centro.

Tabla 4. Centros de origen de los pacientes incluidos en el estudio.

Centro	n	% total
Hospital del Mar	59	23.1%
Althaia Xarxa Assistencial Universitaria de Manresa	47	18.4%
Hospital General de Granollers	35	13.7%
Hospital Clínico San Carlos	34	13.3%
Hospital La Fe de Valencia	28	11.0%
Hospital Universitari Joan XXIII	34	13.3%
Hospital Germans Trias i Pujol	18	7.1%

5.1.2. Características demográficas de los pacientes, del tumor y resultados perioperatorios

La mediana de edad de la cohorte fue de 71 años, con un ligero predominio de varones (57,3%). El procedimiento quirúrgico más frecuente fue la hemicolectomía derecha (48,6%), seguida de la sigmoidectomía (39,2%). El abordaje mínimamente invasivo, incluyendo el laparoscópico y robótico, fue el más utilizado (76,5%), y la estancia hospitalaria mediana fue de 5 días. Las características demográficas, clínicas y perioperatorias de la cohorte se resumen en la **Tabla 5**.

El 31% de los pacientes presentaron alguna complicación postoperatoria, siendo en su mayoría leves, clasificadas como Clavien-Dindo I (8,6%) o II (11,8%). De forma específica, se documentaron complicaciones médicas en 38 pacientes (14,9%) e íleo paralítico en 12 casos (4,7%). Entre las complicaciones infecciosas, se identificaron 15 casos de dehiscencia anastomótica (5,9%), 7 abscesos intraabdominales (2,7%) y 7 infecciones de herida quirúrgica (2,7%). Un total de 16 pacientes (6,3%) requirieron una reintervención, y se registró un fallecimiento relacionado con una dehiscencia anastomótica.

El análisis histopatológico mostró que 78 pacientes (30,6%) presentaron tumores estadio I, 100 pacientes (39,2%) estadio II, y 77 (30,2%) estadio III. Las características histológicas desfavorables, como la invasión linfática, la invasión vascular y la invasión perineural, se identificaron en el 19,6%, el 11,8% y el 17,3% de los casos, respectivamente.

Respecto al tratamiento adyuvante, 29 pacientes con tumores en estadio II (29,0%) recibieron quimioterapia adyuvante, mientras que en los casos con tumores en estadio III, la quimioterapia se administró en 61 pacientes (79,2%), en consonancia con las recomendaciones terapéuticas vigentes.

Tabla 5. Características demográficas, clínicas y patológicas de la cohorte estudiada.

	N (%)
Pacientes	255
Edad (años)	71 (63-79)
Sexo (H/M)	146 (57,3)/109 (42,7)
Abordaje quirúrgico	
Abierto	60 (23,5)
Mínimamente invasivo	195 (76,5)
Procedimiento quirúrgico	
Hemicolectomía derecha	124 (48,6)
Hemicolectomía izquierda	31 (12,2)
Sigmoidectomía	100 (39,2)
Estancia hospitalaria (días)	5 (4-7)*
Morbilidad global	79 (31,0)
Complicaciones médicas	38 (14,9)
Dehiscencia anastomótica	15 (5,9)
Íleo paralítico	12 (4,7)
Absceso intraabdominal	7 (2,7)
Infección de herida	7 (2,7)
Clavien-Dindo (n = 79)	
I	22 (8,6)
II	30 (11,8)
IIIa	8 (3,1)

IIIb	12 (4,7)
IVa	5 (2,0)
IVb	1 (0,4)
V	1 (0,4)
Estadio tumoral	
I	78 (30,6)
II	100 (39,2)
III	77 (30,2)
Invasión linfática	50 (19,6)
Invasión vascular	30 (11,8)
Invasión perineural	44 (17,3)
Quimioterapia por estadio	
II	29 (29,0)
III	61 (79,2)

Datos categóricos expresados como valores absolutos y porcentaje. Variables numéricas continuas expresadas como mediana y rango intercuartílico. Los porcentajes de la clasificación de Clavien-Dindo se calculan a partir de la población total del estudio, incluidos los pacientes sin complicaciones. Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42]. *Variable sin datos disponibles para tres pacientes de la cohorte.

5.1.3. Resultados oncológicos a largo plazo

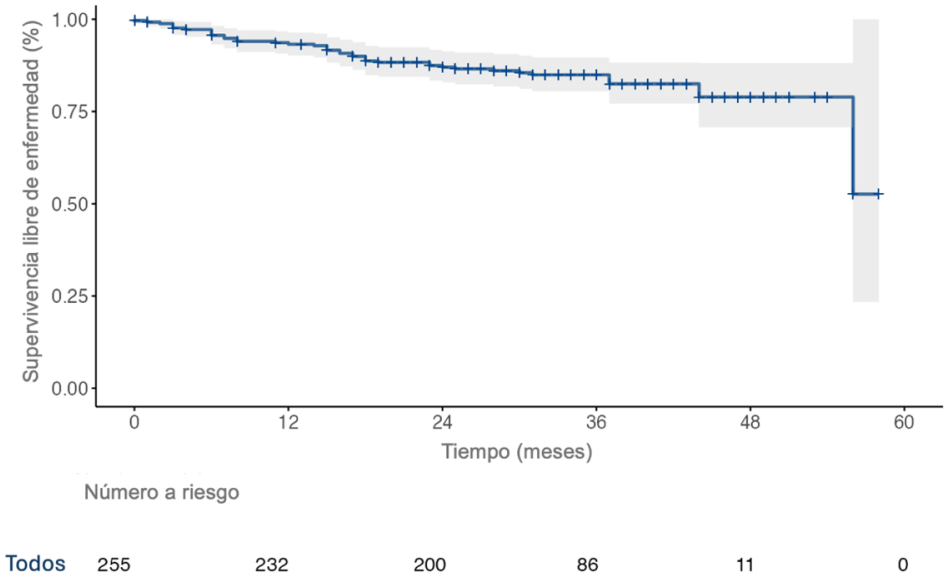
Tras una mediana de seguimiento de 34 meses (IC 95% 33,0-35,0), se documentó una recurrencia tumoral en 40 pacientes (15,7%). La mayoría de las recurrencias fueron de carácter sistémico (n = 27; 67,5%), con metástasis que afectaban predominantemente al hígado, los pulmones o el peritoneo. La recurrencia local se documentó en 6 pacientes (15,0%), mientras que 7 pacientes (17,5%) presentaron un patrón mixto, con afectación tanto local como sistémica.

Las tasas de recurrencia específicas por estadio fueron del 2,6% (n = 2) en estadio I, del 17,0% (n = 17) en los tumores estadio II y del 27,3% (n = 21) en los tumores estadio III.

Las tasas estimadas de SLE y SG a 2 años para toda la cohorte fueron del 87,0% (IC 95%: 82,9-91,3) y 93,5% (IC 95%: 90,5-96,6) respectivamente. Aunque el estudio fue diseñado con un seguimiento oncológico mínimo de 24 meses, algunos pacientes

incluidos en fases iniciales del reclutamiento alcanzaron tiempos de seguimiento superiores, lo que se refleja en las curvas de Kaplan-Meier y en el número decreciente de pacientes en riesgo al final del periodo de observación **(Figura 17)**.

A)



B)

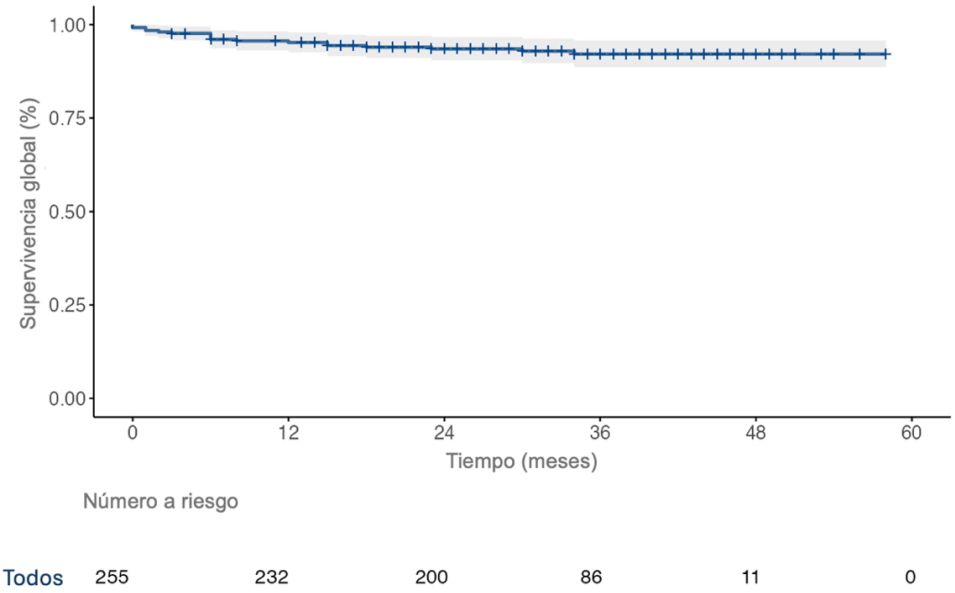


Figura 17. Análisis de supervivencia para la cohorte completa (N = 255). A) Supervivencia libre de enfermedad (SLE). B) Supervivencia global (SG). Las cruces (+) indican pacientes censurados. Las bandas grises corresponden al intervalo de confianza del 95%.

5.1.4. Respuesta angiogénica postoperatoria según los valores de VEGF

Los niveles de VEGF en suero al 4DPO no seguían una distribución normal, con una mediana global de 508 pg/mL (RIC: 266-852). Al analizar los valores de VEGF según la presencia de recurrencia tumoral, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin recurrencia ($p = 0,637$). Tampoco se identificaron diferencias en relación con el estadio tumoral ($p = 0,787$).

Por el contrario, se observó una diferencia significativa en relación con el abordaje quirúrgico, siendo los valores de VEGF superiores en los pacientes intervenidos mediante cirugía abierta en comparación con aquellos intervenidos mediante un abordaje mínimamente invasivo ($p = 0,013$).

Respecto a las complicaciones postoperatorias, los pacientes que presentaron alguna complicación mostraron concentraciones significativamente más elevadas de VEGF ($p < 0,001$). Sin embargo, al evaluar la gravedad de las complicaciones mediante la clasificación de Clavien-Dindo, no se encontró una correlación significativa entre esta y los niveles de VEGF ($\rho = 0,090$; $p = 0,432$; prueba de correlación de Spearman). Cabe destacar que este análisis podría estar limitado por una baja potencia estadística, ya que en las categorías IVb y V únicamente se incluyó un paciente por grupo, lo que reduce la capacidad de detectar asociaciones significativas de forma robusta.

En el análisis específico de la dehiscencia anastomótica, se observaron concentraciones de VEGF notablemente más elevadas en los pacientes que presentaron esta complicación, con una tendencia clara hacia la significación estadística ($p = 0,062$). La baja frecuencia de este evento ($n = 15$) limita la potencia del análisis y debe ser considerada al interpretar estos resultados. No obstante, dada la implicación conocida de VEGF en los procesos inflamatorios y de reparación tisular, y la relevancia clínica de la fuga como complicación grave, este hallazgo podría reflejar una respuesta angiogénica exacerbada en este contexto. Los resultados detallados se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Concentraciones séricas de VEGF en el 4DPO según variables clínicas y quirúrgicas.

	N	VEGF (pg/mL)	p-valor
Según recurrencia			0,637
Sí	40	420 (206-990)	
No	215	517 (272-831)	
Estadio tumoral			0,787
I	78	506 (258-742)	
II	100	528 (278-870)	
III	77	369 (268-990)	
Abordaje			0,013
Abierto	60	682 (347-1107)	
Mínimamente invasivo	195	493 (224-799)	
Complicaciones			< 0,001
Sí	79	677 (382-1019)	
No	176	429 (214-708)	
Clavien-Dindo			0,432
I	22	692 (463-994)	
II	30	539 (326-804)	
IIIa	8	802 (467-1133)	
IIIb	12	852 (481-983)	
IVa	5	396 (282-1767)	
IVb	1	1877 (NA)	
V	1	786 (NA)	
Dehiscencia anastomótica			0,062
Sí	15	843 (402-1225)	
No	240	505 (244-826)	

Los valores de VEGF se expresan como mediana (rango intercuartílico). Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42]. NA: no aplica. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

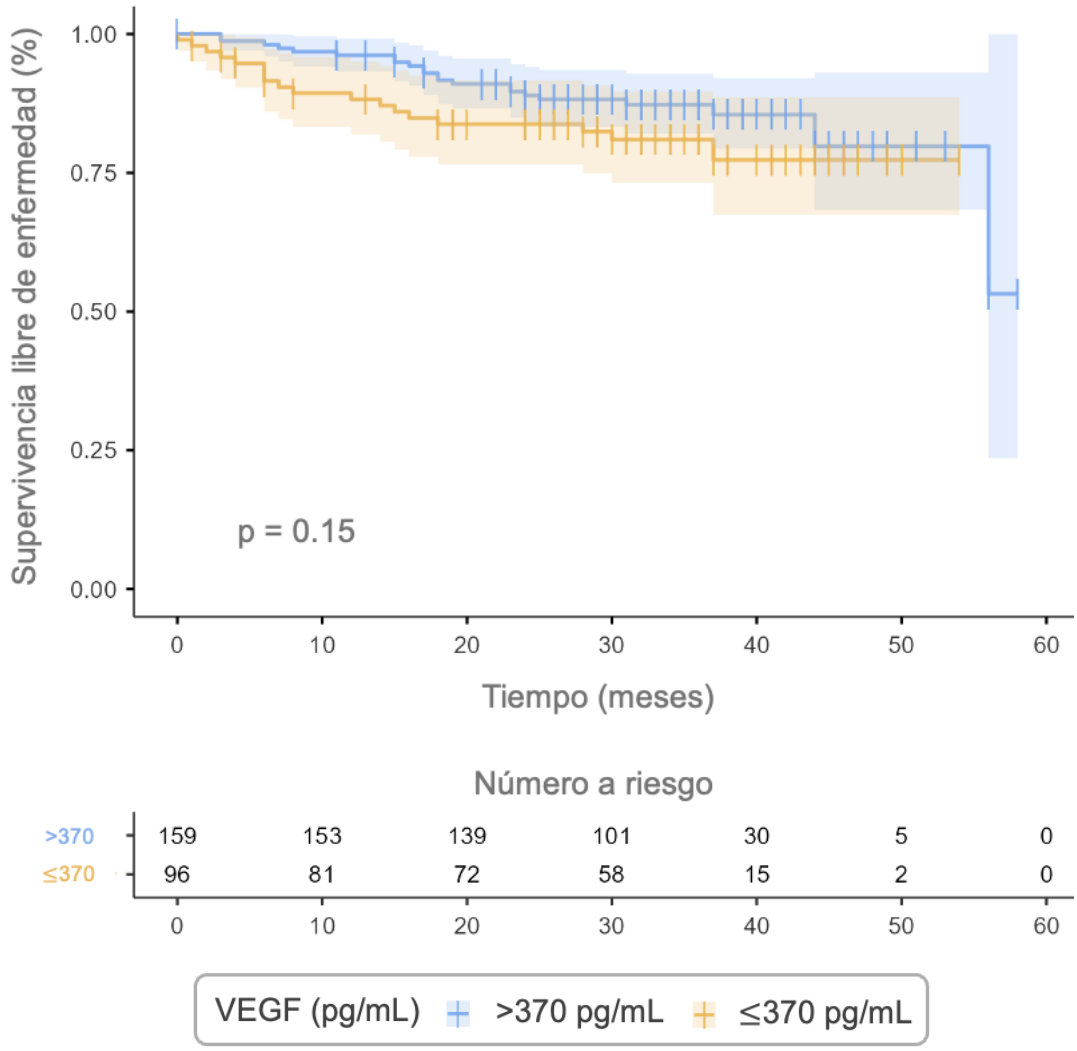
5.1.5. Recurrencia y VEGF

El análisis realizado en nuestra cohorte no confirmó el valor predictivo del punto de corte de 370 pg/mL previamente propuesto en el estudio unicéntrico de 2017[231].

Contrariamente a lo observado en aquel trabajo, los niveles postoperatorios de VEGF no fueron capaces de estratificar significativamente el riesgo de recurrencia en esta cohorte (p = 0,15).

Tal como se muestra en la **Figura 18A**, los pacientes con concentraciones más elevadas de VEGF presentaron, de hecho, una tendencia hacia una mejor SLE. En el análisis de SG, sí se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p = 0,026), aunque nuevamente con un patrón inverso al inicialmente descrito: los pacientes con niveles más bajos de VEGF mostraron una peor supervivencia **(Figura 18B)**. Es importante señalar que, pese a la significación estadística, el número de eventos fue bajo en ambos grupos (7 frente a 11), lo que limita la robustez del análisis e impide extraer conclusiones definitivas sobre su valor predictivo.

A)



B)

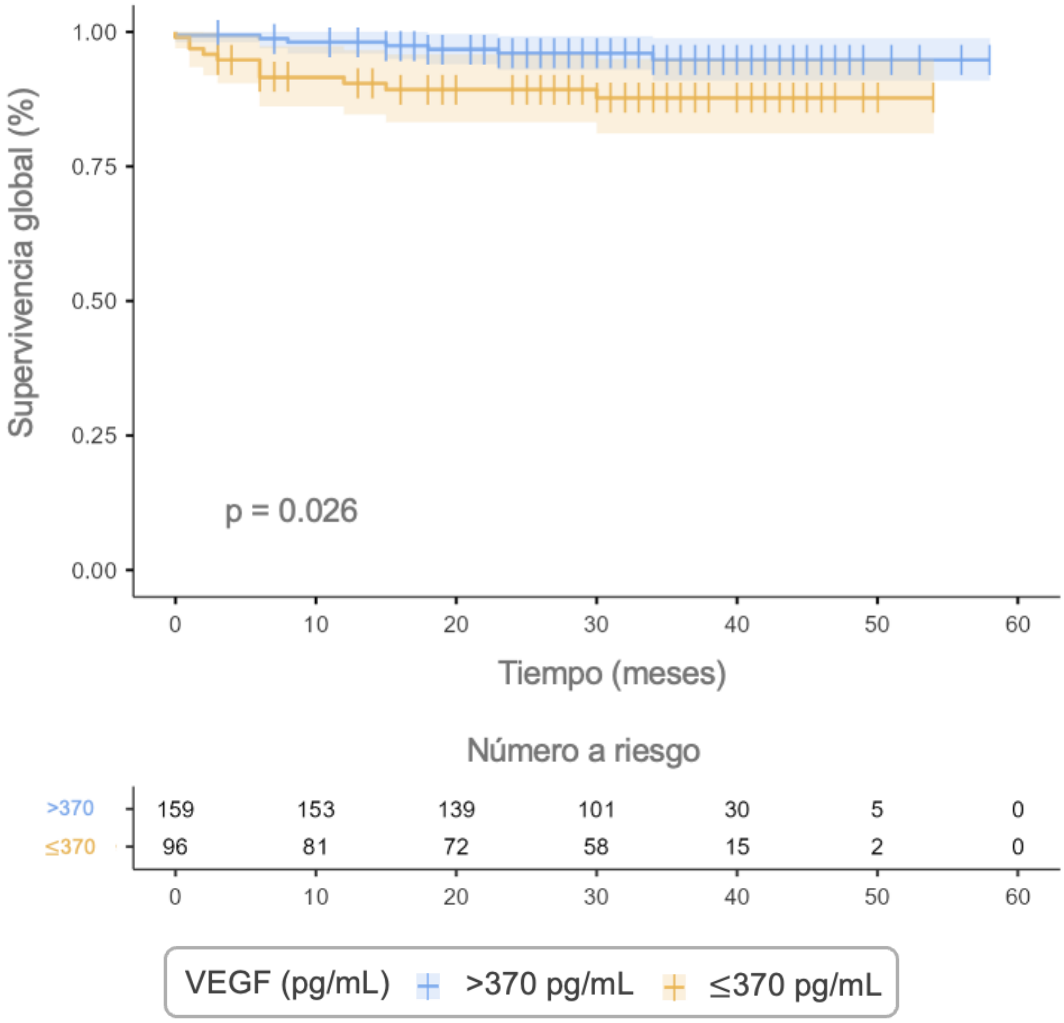


Figura 18. Análisis de supervivencia según los niveles séricos de VEGF en el 4DPO. A) Supervivencia libre de enfermedad. B) Supervivencia global. Las cruces (+) indican pacientes censurados. Las bandas coloreadas representan el intervalo de confianza del 95%.

5.1.6. Análisis univariado y multivariado

El análisis univariante de regresión de Cox puso de manifiesto asociaciones significativas entre la SLE y diversos factores, entre ellos la presencia de ganglios linfáticos positivos ($p < 0,001$), la invasión perineural ($p = 0,040$), los tumores en estadio II y III ($p = 0,007$ y $p = 0,001$, respectivamente), y la administración de tratamiento adyuvante ($p < 0,001$) **(Tabla 7)**. Los niveles de VEGF superiores a 370 pg/mL no fueron estadísticamente significativos ($p = 0,157$).

En el análisis multivariante, el tratamiento adyuvante (HR 2,95; IC 95%: 1,30-6,68; p < 0,001) y la presencia de ganglios positivos (HR 1,19; IC 95%: 1,08-1,31; p < 0,001) se identificaron como los únicos factores independientes asociados significativamente con una peor SLE **(Tabla 7)**.

Tabla 7. Análisis univariado y multivariado de los factores clínico-patológicos asociados a la supervivencia libre de enfermedad.

	Univariado HR (IC 95%)	p-valor	Multivariado HR (IC 95%)	p-valor
Edad	1,02 (0,99-1,05)	0,144	1,03 (1,08-1,31)	0,060
Sexo (mujer)	1,40 (0,75-2,60)	0,292	1,31 (0,70-2,46)	0,400
Abordaje (abierto)	1,13 (0,55-2,31)	0,747	-	
Clavien-Dindo				
I-II	0,82 (0,36-1,88)	0,646	-	
≥III	0,98 (0,34-2,78)	0,962	-	
Estadio tumoral				
II	7,51 (1,72-32,71)	0,007	4,37 (0,95-20,20)	0,059
III	12,90 (3,02-55,10)	0,001	2,57 (0,48-13,63)	0,267
Ganglios positivos	1,22 (1,13-1,30)	<0,001	1,19 (1,08-1,31)	<0,001
Invasión linfática	1,71 (0,85-3,44)	0,130	-	
Invasión vascular	1,40 (0,59-3,35)	0,445	-	
Invasión perineural	2,08 (1,04-4,19)	0,040	1,10 (0,54-2,26)	0,787
VEGF>370pg/mL	0,63 (0,34-1,19)	0,157	-	
Quimioterapia adyuvante	4,73 (2,40-9,33)	<0,001	2,95 (1,30-6,68)	<0,001

HR: *hazard ratio*. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular. Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42].

5.1.7. Comparación con la cohorte previa

Con el objetivo de interpretar los resultados obtenidos en el contexto de la evidencia previa, se procedió a comparar la cohorte actual con la población del estudio unicéntrico realizado en 2017[231]. Las principales diferencias entre ambas cohortes se resumen en la **Tabla 8**.

En primer lugar, se observó una mayor proporción de procedimientos mediante cirugía mínimamente invasiva en la cohorte actual (76,5% frente a 48,9%, p < 0,001), lo que se tradujo en una estancia hospitalaria más corta (mediana de 5 frente a 7 días, p < 0,001) y en una menor tasa de complicaciones postoperatorias, incluyendo las infecciones de herida (2,7% frente a 8,5%, p = 0,032) y el íleo paralítico (4,7% frente a 13,8%, p < 0,001).

En relación con las características oncológicas, se observaron diferencias significativas en la distribución por estadios tumorales, con una mayor prevalencia de tumores en estadio II en la cohorte actual (39,2% frente a 25,5%) y una menor proporción de estadios III (30,2% frente a 40,5%).

Respecto al tratamiento adyuvante, su uso fue más frecuente en ambos estadios en la cohorte actual, alcanzando la significación estadística en el estadio II (29,0% frente a 8,3%; p = 0,036). La tasa de recurrencia en pacientes con estadio II fue similar en ambas cohortes; sin embargo, en estadio III se observó una reducción significativa de la recurrencia en la cohorte actual en comparación con la original (27,3% frente a 44,7%, p = 0,036).

Por último, los niveles séricos de VEGF en el 4DPO fueron más elevados en la cohorte actual en comparación con el estudio previo, sin diferencias significativas (mediana de 508 pg/mL frente a 371 pg/mL; p = 0,063). Asimismo, la distribución de pacientes por encima y por debajo del punto de corte de 370 pg/mL mostró diferencias que no alcanzaron la significación estadística (p = 0,057).

Tabla 8. **Comparación de las características demográficas y clínicas entre la cohorte histórica y la cohorte actual.**

	2024 (N = 255) N(%)	**2017 (N = 94) N(%)**	**p-valor**
Pacientes	255	94	
Edad (años)	71 (63-79)	71 (63-78)	0,787
Sexo (H/M)	146/109	48/46	0,183
Abordaje quirúrgico			<0,001
Abierto	60 (23,5)	48 (51,1)	
Mínimamente invasivo	195 (76,5)	46 (48,9)	
Procedimiento quirúrgico			0,340

Hemicolectomía derecha	124 (48,6)	40 (42,5)	
Hemicolectomía izquierda	31 (12,2)	9 (9,6)	
Sigmoidectomía	100 (39,2)	45 (47,9)	
Estancia hospitalaria (días)*	5 (4-7)	7 (6-11,5)	<0,001
Morbilidad global	79 (31,0)	36 (38,3)	0,202
Complicaciones médicas	38 (14,9)	21 (21,3)	0,109
Dehiscencia anastomótica	15 (5,9)	4 (4,3)	0,791
Absceso intraabdominal	7 (2,7)	3 (3,2)	0,733
Infección de herida	7 (2,7)	8 (8,5)	0,032
Íleo paralítico	12 (4,7)	13 (13,8)	<0,001
Clavien-Dindo			0,290
I	16 (6,3)	15 (16,0)	
II	29 (11,4)	9 (9,6)	
IIIa	8 (3,1)	4 (4,3)	
IIIb	12 (4,7)	6 (6,4)	
Iva	5 (2,0)	0 (0)	
IVb	1 (0,4)	0 (0)	
V	1 (0,4)	2 (2,1)	
Estadio tumoral			0,045
I	78 (30,6)	32 (34,0)	
II	100 (39,2)	24 (25,5)	
III	77 (30,2)	38 (40,5)	
Quimioterapia adyuvante por estadio			
II	29 (29,0)	2 (8,3)	0,036
III	61 (79,2)	25 (65,8)	0,119
Recurrencia por estadio			
II	17 (17,0)	4 (16,7)	0,960
III	21 (27,3)	17 (44,7)	0,036
4DPO VEGF (pg/mL)	507,5 (265,6-857,3)	371,5 (213,7-685,6)†	0,063
Valor de corte 370 pg/mL			0,057
<370	96 (37,6)	43 (50,0)†	
≥370	159 (62,4)	43 (50,0)†	

Datos categóricos expresados como valores absolutos y porcentaje. Variables numéricas continuas expresadas como mediana y rango intercuartílico. Los porcentajes de la clasificación

de Clavien-Dindo se calculan a partir de la población total de la cohorte, incluidos los pacientes sin complicaciones. Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42]. *Variable sin datos disponibles para tres pacientes de cada cohorte. †Datos ausentes en 8 pacientes. 4DPO: cuarto día postoperatorio. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

5.1.8. Emparejamiento por puntuación de propensión (*propensity score matching*)

Dadas las diferencias observadas entre ambas cohortes, se realizó un emparejamiento por puntuación de propensión (PSM), con el objetivo de minimizar el sesgo por confusión derivado de las diferencias basales. Las covariables incluidas en el modelo de emparejamiento fueron: edad, sexo, estadio tumoral, ganglios positivos, invasión linfática, invasión vascular, invasión perineural, tratamiento adyuvante, abordaje quirúrgico y grado de complicación de Clavien-Dindo.

El procedimiento de emparejamiento generó un total de 69 pares comparables entre ambas cohortes. El análisis posterior al emparejamiento confirmó un adecuado equilibrio entre las covariables seleccionadas **(Tabla 9)**.

Tabla 9. Comparación de variables clínicas tras el emparejamiento por puntuación de propensión.

	2024 (N = 69) N (%)	**2017 (N = 69) N (%)**	**p-valor**
Edad (años)	71,0 (63,7-79,3)	72,0 (62,0-78,3)	0,917
Sexo			0,50
Hombre	37 (53,6)	33 (47,8)	
Mujer	32 (46,4)	36 (52,2)	
Abordaje			0,86
Abierto	39 (56,5)	38 (55,1)	
Laparoscópico	30 (43,5)	31 (44,9)	
Clavien-Dindo			0,23
0	46 (66,7)	47 (68,1)	
I-II	11 (15,9)	16 (23,2)	
≥III	12 (17,4)	6 (8,7)	
Estadio tumoral			0,979

I	26 (37,7)	27 (39,1)	
II	21 (30,4)	21 (30,4)	
III	22 (31,9)	21 (30,4)	
Ganglios positivos	1,00 (1,00-1,3)	1,00 (1,00-2,00)	0,37
Invasión linfática			1
No	68 (98,6)	68 (98,6)	
Sí	1 (1,45)	1 (1,45)	
Invasión vascular			0,23
No	65 (94,2)	61 (88,4)	
Sí	4 (5,80)	8 (11,6)	
Invasión perineural			0,17
No	59 (85,5)	64 (92,8)	
Sí	10 (14,5)	5 (7,2)	
VEGF 4DPO	346,3 (182,7-692,3)	343,1 (197,0-622,7)	0,81
Valor de corte 370pg/mL			1
<370	38 (55,1)	38 (55,1)	
≥370	31 (44,9)	31 (44,9)	
Quimioterapia adyuvante			1
No	54 (78,3)	54 (78,3)	
Sí	15 (21,7)	15 (21,7)	

Datos categóricos expresados como valores absolutos y porcentaje. Variables numéricas contínuas expresadas como mediana y rango intercuartílico. Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42]. 4DPO: cuarto día postoperatorio. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

Tras el PSM y con una población clínicamente comparable a la del estudio previo, los niveles de VEGF se igualaron. Asimismo, la asociación entre el punto de corte de VEGF de 370 pg/mL y la SLE no fue estadísticamente significativa (HR 0,78; IC del 95%: 0,13-4,64; p = 0,781).

5.2. Resultados del análisis exploratorio del perfil angiogénico mediante cuantificación multiplexada de proteínas

5.2.1. Selección de la muestra

Inicialmente se planificó la inclusión de 60 pacientes, distribuidos en dos grupos equilibrados según la presencia o ausencia de recurrencia tumoral (30 pacientes por grupo). Esta selección se basó en la información clínica disponible tras un seguimiento mínimo de 24 meses. Sin embargo, durante la actualización del seguimiento clínico —que no fue homogéneo en toda la cohorte— se documentó una recidiva tardía en dos pacientes inicialmente clasificados como libres de enfermedad. Como resultado, la cohorte final quedó constituida por 32 pacientes con recurrencia y 28 sin recurrencia. Este ajuste refleja la naturaleza longitudinal del seguimiento clínico oncológico, y no compromete el diseño ni la validez del análisis. En la **Figura 19** se muestra el diagrama de flujo del proceso de selección.

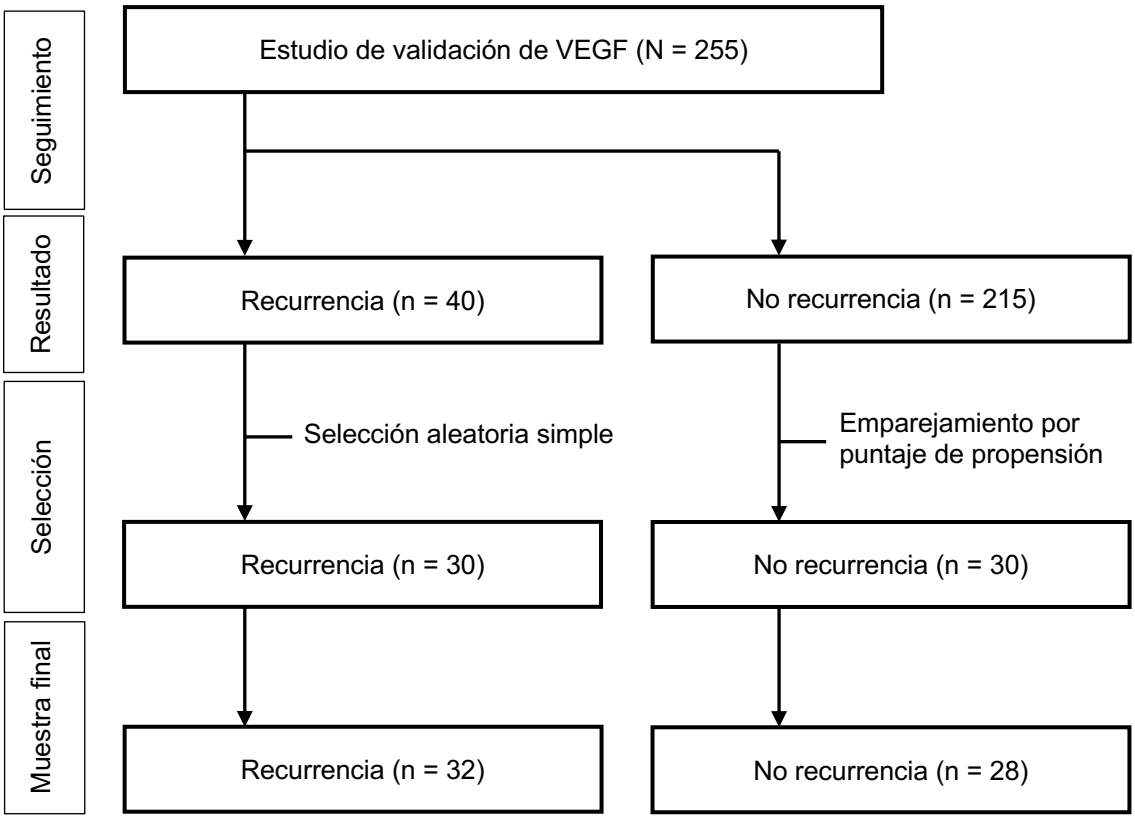


Figura 19. Diagrama de flujo de la selección de pacientes. La muestra final incluye 2 pacientes con recurrencia tardía.

Para asegurar la validez del diseño retrospectivo tras la reclasificación de dos pacientes, se realizó una evaluación de comparabilidad entre grupos. Tal como se muestra en la **Tabla 10**, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las características clínicas y quirúrgicas basales, salvo por la mayor frecuencia de quimioterapia adyuvante en el grupo con recurrencia. Esta variable no fue controlada en el diseño inicial del estudio y se considera una posible fuente de sesgo.

Tabla 10. Características clínicas y demográficas de los sujetos incluidos en el análisis exploratorio de biomarcadores angiogénicos.

	No recurrencia. (n = 28) N (%)	**Recurrencia (n = 32) N (%)**	**p-valor**
Edad (años)	74,5 (64,8-84,2)	74,5 (65,7-82,6)	0,836
Sexo			0,55
Hombre	11 (39,3)	15 (46,9)	
Mujer	17 (60,7)	17 (53,1)	
Abordaje			0,45
Abierto	4 (14,3)	7 (21,9)	
Mínimamente invasivo	24 (85,7)	25 (78,1)	
Procedimiento			0,81
Hemicolectomía derecha	18 (64,3)	21 (65,6)	
Hemicolectomía izquierda	3 (10,7)	2 (6,3)	
Sigmoidectomía	7 (25,0)	9 (28,1)	
Estancia hospitalaria (días)	5,0 (4,4-7,0)	5,0 (5,0-6,8)	0,62
Morbilidad global	8 (28,6)	12 (37,5)	0,46
Clavien-Dindo			0,64
I-II	5 (17,9)	9 (28,1)	
>III	3 (10,7)	3 (9,4)	
Reintervención	1 (3,6)	2 (6,3)	0,63
Estadio tumoral			0,57
I	4 (14,3)	2 (6,3)	
II	8 (28,6)	11 (34,4)	
III	16 (57,1)	19 (59,4)	

Ganglios positivos	0,5 (0,0-2,6)	1,0 (0,0-5,6)	0,33
Invasión vascular	2 (7,1)	6 (18,7)	0,19
Invasión linfática	8 (28,6)	10 (31,3)	0,82
Invasión perineural	4 (14,3)	8 (25,0)	0,30
VEGF 4DPO	558,2 (236,7-828,7)	360,5 (200,0-990,8)	0,79
Quimioterapia adyuvante			0,02
No	17 (60,7)	10 (31,3)	
Sí	11 (39,3)	22 (68,7)	

Datos categóricos expresados como valores absolutos y porcentaje. Variables numéricas contínuas expresadas como mediana y rango intercuartílico. Los porcentajes de la clasificación de Clavien-Dindo se calculan a partir de la población total de cada grupo, incluidos los pacientes sin complicaciones. Estadio tumoral (UICC/AJCC)[42]. 4DPO: cuarto día postoperatorio. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

5.2.2. Correlación entre los niveles séricos de VEGF y la intensidad de señal en el array multiplexado

Con el objetivo de valorar si la intensidad de señal obtenida para VEGF mediante el array de proteínas podría utilizarse como estimación indirecta de su concentración sérica absoluta, se realizó un análisis de correlación entre ambas mediciones. Para ello, se compararon los niveles de VEGF cuantificados por ELISA en suero con la intensidad de señal correspondiente al mismo factor en el array, analizando un total de 60 muestras.

El análisis de correlación de Spearman mostró una correlación positiva moderada ($\rho = 0,403$; $p < 0,001$), lo que sugiere una asociación entre ambas variables **(Figura 20)**. Sin embargo, la dispersión de los datos fue considerable, y la correlación observada no fue lo suficientemente robusta como para permitir la extrapolación fiable de las concentraciones séricas del resto de las 54 proteínas incluidas en el panel a partir de sus señales en el array. Por tanto, se descartó la posibilidad de utilizar un ratio de compresión entre VEGF-ELISA y VEGF-array como método de normalización o inferencia cuantitativa para el resto de los mediadores angiogénicos.

Esta decisión se fundamenta en la necesidad de una relación lineal fuerte y consistente para poder aplicar un modelo de estimación con suficiente confianza analítica. En

ausencia de una correlación más estrecha, se consideró más prudente mantener la naturaleza semicuantitativa del análisis basado en el array, centrando la interpretación en diferencias relativas de expresión entre grupos clínicos.

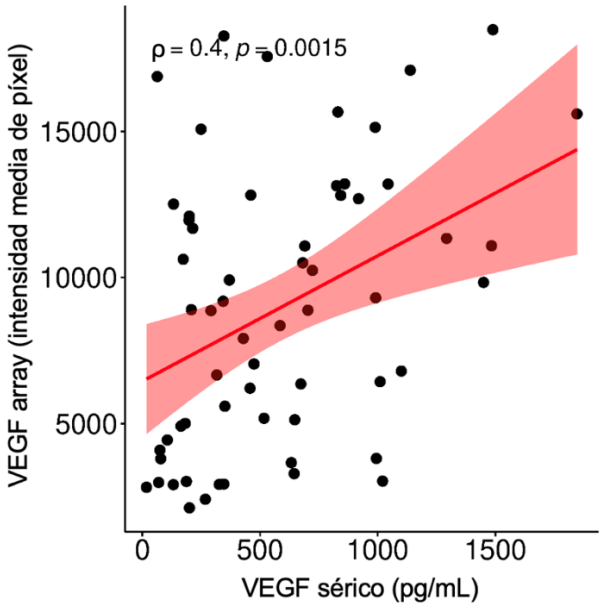


Figura 20. Correlación entre la concentración sérica de VEGF y la señal relativa obtenida mediante el array multiplexado. Representación gráfica de la correlación entre los niveles de VEGF en suero medidos por ELISA (pg/mL) y la intensidad de señal correspondiente en el array proteico (intensidad media de píxel).

5.2.3. Análisis del panel de proteínas

Se analizaron las concentraciones séricas de las 55 proteínas angiogénicas incluidas en el panel, comparándolas entre pacientes con y sin recurrencia tumoral. Los resultados se presentan en la **Tabla 11**. En una primera aproximación, diez proteínas mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, con un p-valor < 0,05. No obstante, dado el elevado número de comparaciones realizadas, se aplicó una corrección por comparaciones múltiples mediante el cálculo del q-valor, con el objetivo de controlar la FDR. Solo se consideraron significativas aquellas asociaciones con un q < 0,05. Tras esta corrección, únicamente Serpin B5 mantuvo una asociación significativa con la recurrencia (p < 0,001; q = 0,033). Aunque ADAMTS1 y GM-CSF presentaron p-valores bajos, no alcanzaron la significación tras el ajuste (ambas con q = 0,082).

Tabla 11. Comparación de niveles séricos de 55 proteínas angiogénicas según la presencia o ausencia de recurrencia tumoral.

Proteína	No recurrencia (n = 28)	Recurrencia (n = 32)	p-valor	q-valor
Activin A	205,0 (95,0 – 723,0)	183,0 (0,0 – 704,5)	0,357	0,565
ADAMTS-1	**312,0 (212,8 – 552,0)**	**106,5 (0,0 – 392,2)**	**0,006**	**0,082**
Angiogenin	21935,5 (15620,8 – 30521,0)	21568,0 (18071,8 – 28169,8)	0,988	0,852
Angiopoietin-1	14792,0 (10415,8 – 17437,0)	15722,5 (11672,0 – 22765,0)	0,286	0,560
Angiopoietin-2	5959,0 (2140,0 – 7942,0)	7773,5 (5552,0 – 11073,5)	0,060	0,277
Angiostatin/ Plasminogen	580,0 (240,8 – 2378,0)	490,0 (252,0 – 1236,0)	0,454	0,720
Amphiregulin	131,0 (5,5 – 1855,2)	176,0 (11,2 – 613,0)	0,911	0,939
Artemin	212,0 (66,2 – 1494,5)	251,0 (67,8 – 566,0)	0,755	0,852
Tissue Factor/Factor III	1039,0 (613,8 – 3086,0)	788,5 (470,8 – 1375,8)	0,131	0,413
CXCL16	4773,0 (3268,5 – 7228,0)	4720,5 (2423,0 – 8698,8)	0,982	0,939
DPPIV/CD26	4897,0 (2454,0 – 7861,2)	3972,0 (2306,0 – 7497,0)	0,604	0,847
EGF	12258,5 (5737,0 – 18364,0)	5857,5 (907,0 – 12402,8)	0,007	0,113
EG-VEGF	1591,5 (1133,8 – 3248,2)	1345,5 (585,5 – 2165,8)	0,123	0,413
Endoglin/CD105	13311,0 (8861,8 – 19332,2)	9579,5 (3511,5 – 14151,8)	0,050	0,264
Endostatin/Collagen XVIII	6639,5 (4359,0 – 10905,2)	4296,0 (313,0 – 7491,8)	0,022	0,156
Endothelin-1	973,0 (394,5 – 2070,8)	1511,5 (601,8 – 2270,8)	0,358	0,565
FGF acidic	100,5 (22,5 – 1064,5)	185,5 (14,5 – 534,5)	0,688	0,850
FGF basic	139,0 (21,5 – 257,2)	84,0 (0,0 – 278,2)	0,301	0,550
FGF-4	1045,5 (521,2 – 1887,2)	654,5 (258,0 – 1163,5)	0,023	0,117
FGF-7/KGF	556,0 (398,2 – 1122,5)	446,5 (214,2 – 818,2)	0,116	0,336
GDNF	238,0 (152,5 – 1667,0)	135,5 (0,0 – 406,8)	0,022	0,149
GM-CSF	**692,0 (560,2 – 1375,0)**	**464,0 (0,0 – 812,5)**	**0,007**	**0,082**
HB-EGF	2514,0 (1180,0 – 4520,8)	2397,0 (1609,8 – 4466,8)	0,767	0,853

HGF	1420,0 (779,5 – 2264,2)	509,5 (0,0 – 2115,2)	0,019	0,117
IGFBP-1	17197,5 (10429,5 – 21806,8)	17610,5 (13694,0 – 22586,0)	0,657	0,838
IGFBP-2	6856,0 (4409,5 – 12454,2)	6101,0 (3981,5 – 9474,8)	0,328	0,565
IGFBP-3	19850,5 (16475,0 – 29330,5)	15973,5 (11882,8 – 21418,8)	0,071	0,398
IL-1β	1268,0 (824,5 – 2114,2)	991,5 (525,2 – 1581,2)	0,120	0,413
CXCL8/IL-8	183,0 (39,0 – 457,5)	102,5 (0,0 – 462,0)	0,228	0,455
LAP TGF-β1	710,0 (261,8 – 1487,2)	481,5 (123,0 – 1295,8)	0,328	0,550
Leptin	19880,5 (11760,5 – 32620,5)	13553,0 (6142,2 – 25234,5)	0,044	0,193
CCL2/MCP-1	795,5 (524,8 – 2289,8)	874,0 (376,8 – 1530,2)	0,415	0,565
CCL3/MIP-1α	324,0 (198,2 – 540,0)	192,5 (0,0 – 520,5)	0,149	0,413
MMP-8	11778,5 (6431,8 – 16796,2)	11911,5 (6350,2 – 15640,5)	0,965	0,939
MMP-9	12534,5 (8721,8 – 18366,5)	16040,0 (10016,0 – 25309,2)	0,307	0,560
NRG1-β1	523,5 (340,0 – 1055,2)	431,5 (129,5 – 968,2)	0,219	0,477
Pentraxin 3	15313,0 (13527,2 – 27350,8)	16490,5 (11734,2 – 23280,2)	0,700	0,852
PD-ECGF	1355,5 (934,8 – 2350,0)	1099,0 (481,0 – 1953,2)	0,136	0,433
PDGF-AA	23214,0 (15289,2 – 27778,5)	20666,5 (14708,2 – 25638,2)	0,424	0,720
PDGF-AB-PDFG-BB	13606,5 (10685,5 – 16746,5)	12734,0 (9531,0 – 17868,8)	0,733	0,853
Persephin	209,5 (82,2 – 1109,8)	324,0 (63,8 – 768,0)	0,722	0,852
CXCL4/PF4	2602,5 (1074,8 – 4331,2)	1973,0 (689,8 – 4899,8)	0,573	0,792
PlGF	1804,5 (919,0 – 3088,8)	2211,0 (941,0 – 3775,5)	0,813	0,939
Prolactin	8319,5 (3969,8 – 10743,5)	6888,0 (5130,0 – 9847,8)	0,505	0,792
Serpina B5/Maspin	**664,0 (465,8 – 952,5)**	**285,5 (0,0 – 630,0)**	**0,001**	**0,033**
Serpina E1/PAI-1	11508,0 (7081,0 – 15819,0)	12430,5 (7849,5 – 19822,0)	0,625	0,830
Serpina F1/PEDF	1747,5 (664,5 – 3216,8)	1539,5 (460,0 – 4236,8)	0,836	0,852

TIMP-1	4590,5 (2455,2 – 9229,2)	7114,5 (2082,2 – 17496,8)	0,328	0,582
TIMP-4	12790,0 (9107,5 – 18756,2)	15381,5 (10968,2 – 19897,5)	0,208	0,526
Thrombospondin-1	3664,0 (2003,2 – 7184,0)	2306,0 (1036,2 – 5943,0)	0,213	0,550
Thrombospondin-2	1368,5 (907,0 – 1780,8)	948,0 (300,5 – 1777,2)	0,142	0,433
uPA	3258,5 (1503,5 – 5133,0)	2824,0 (1676,5 – 3866,0)	0,689	0,852
Vasohibin	147,0 (42,0 – 299,5)	93,0 (0,0 – 354,0)	0,285	0,560
VEGF	7479,5 (4024,0 – 12145,5)	9570,5 (6058,0 – 12589,0)	0,407	0,714
VEGF-C	246,5 (117,5 – 630,2)	241,5 (120,8 – 453,0)	0,773	0,852

Unidades de medida: intensidad media de pixel *(mean pixel intensity)*.
Los valores se expresan como mediana (rango intercuartílico).
ADAMTS-1: metaloproteinasa con trombospondina tipo 1; Tissue Factor/Factor III: factor tisular, factor III; CXCL16: quimiocina C-X-C ligando 16; DPPIV/CD26: dipeptidil peptidasa IV/CD26; EGF: factor de crecimiento epidérmico; EG-VEGF: factor de crecimiento derivado de glándulas endocrinas/prokineticina-1; FGF acidic: factor de crecimiento de fibroblastos ácido; FGF basic: factor de crecimiento de fibroblastos básico; FGF-4: factor de crecimiento de fibroblastos 4; FGF-7/KGF: factor de crecimiento de fibroblastos 7/factor de crecimiento de queratinocitos; GDNF: factor neurotrófico derivado de la glía; GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; HB-EGF: factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina; HGF: factor de crecimiento de hepatocitos; IGFBP-1: proteína 1 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina; IGFBP-2: proteína 2 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina; IGFBP-3: proteína 3 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina; IL-1β: interleucina-1 beta; CXCL8/IL-8: quimiocina C-X-C ligando/Interleucina-8; LAP (TGF-β1): proteína asociada a latencia del factor de crecimiento transformante beta 1; CCL2/MCP-1: quimiocina C-C ligando 2/Proteína quimioatrayente de monocitos 1; CCL3/MIP-1α: quimiocina C-C ligando 3/Proteína inflamatoria macrófaga 1 alfa; MMP-8: metaloproteinasa de matriz-8; MMP-9: metaloproteinasa de matriz-9; NRG1-β1: neuregulina 1 beta 1; PD-ECGF: factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas; PDGF-AA: factor de crecimiento derivado de plaquetas AA; PDGF-AB/PDGF-BB: factor de crecimiento derivado de plaquetas AB/BB; CXCL4/PF4: quimiocina C-X-C ligando 4/factor 4 derivado de plaquetas; PlGF: factor placentario de crecimiento; Serpin E1/PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; Serpin F1/PEDF: factor derivado de la pigmentación epitelial; TIMP-1: inhibidor tisular de metaloproteinasas 1; TIMP-4: inhibidor tisular de metaloproteinasas 4; uPA: uroquinasa plasminógeno activadora; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; VEGF-C: factor de crecimiento endotelial vascular C.

5.2.4. Análisis de las proteínas significativas en función de la recurrencia

En la **Figura 21** se representa un mapa de calor (*heatmap)* que muestra la expresión relativa de las tres proteínas que presentaron una mayor asociación con la recurrencia tumoral: Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF. En el mapa se observa que los pacientes

con recurrencia presentan, de forma predominante, niveles más bajos de estas proteínas en comparación con aquellos sin recurrencia.

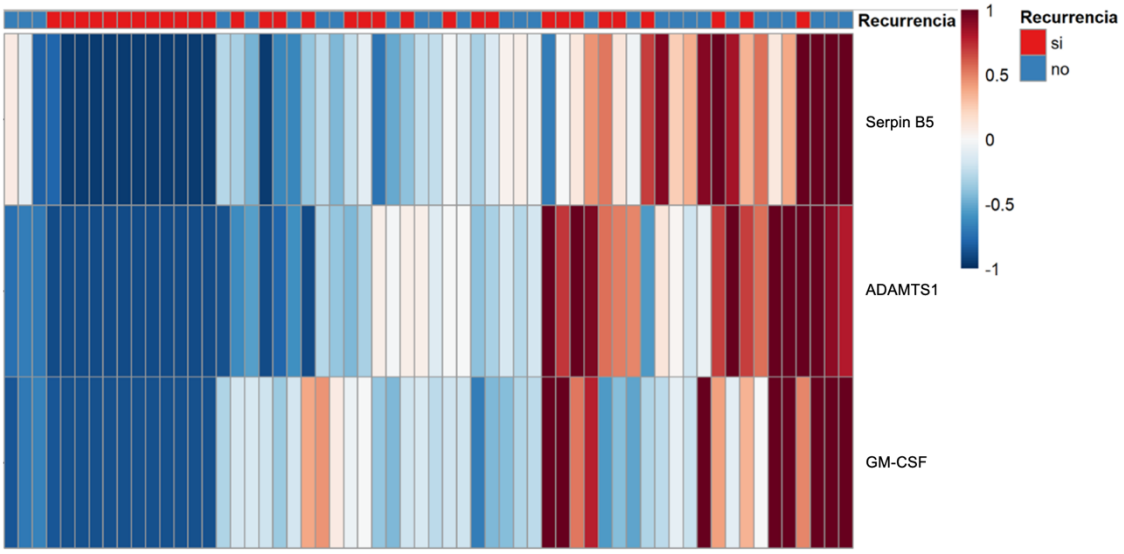


Figura 21. *Heatmap* de intensidad relativa de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF en función de la presencia o ausencia de recurrencia tumoral. Cada columna representa una muestra individual, clasificada según la presencia o ausencia de recurrencia (barra superior), mientras que cada fila representa una de las proteínas analizadas. La escala cromática indica la intensidad de expresión: azul para valores bajos, blanco para valores medios y rojo para valores elevados.

5.2.5. Análisis de las proteínas significativas en función del estadio tumoral

En el análisis exploratorio del perfil angiogénico según el estadio tumoral, observamos que los niveles de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF variaron en función de la extensión de la enfermedad. Aunque las proteínas analizadas no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos estadios, destaca la tendencia descendente en los niveles de Serpin B5 conforme aumenta el estadio tumoral. Esta disminución progresiva de Serpin B5, aunque no alcanzó la significación estadística convencional ($p = 0,09$), sugiere una posible pérdida de esta proteína en etapas más avanzadas del CC, lo que podría estar relacionado con mecanismos de progresión tumoral o escape angiogénico **(Tabla 12)**.

Tabla 12. Distribución de los niveles de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 según estadio tumoral.

	Estadio I (n = 6)	Estadio II (n = 19)	Estadio III (n = 35)	p-valor
ADAMTS1	393,5 (48,6-676,9)	223,0 (0,0-368,3)	222,0 (38,0-567,2)	0,69
GM-CSF	745,5 (22,5-1496,0)	549,0 (0,0-775,8)	649,0 (348,8-1243,7)	0,44
Serpin B5	943,0 (644,8-2646,4)	554,0 (0,0-955,5)	462,0 (218,7-653,2)	0,09

Unidades de medida: intensidad media de pixel *(mean pixel intensity)*. Los valores se expresan como mediana (rango intercuartílico)**.** ADAMTS1: metaloproteinasa con trombospondina tipo 1; GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; Serpin B5: Serpin B5/Maspina.

5.2.6. Análisis de las proteínas en función de la quimioterapia

Adicionalmente, y para evaluar la posible influencia de la quimioterapia adyuvante en los resultados, se realizó un análisis estratificado que incluyó la comparación de los niveles séricos de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 según la presencia o ausencia de recurrencia, ajustando por la administración de tratamiento adyuvante. Aunque se había producido un desequilibrio en la proporción de pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante tras el emparejamiento, este análisis permitió observar que, independientemente de la administración de tratamiento, los pacientes que desarrollaron recurrencia presentaban concentraciones más bajas de estas proteínas en el 4DPO. Estos hallazgos, que se detallan en la **Tabla 13** y la **Figura 22**, refuerzan la hipótesis de que una menor respuesta angiogénica inhibitoria inmediata, medida mediante niveles bajos de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF, podría asociarse a un mayor riesgo de recaída, más allá de la influencia del tratamiento oncológico recibido.

Tabla 13. Valores p del análisis de los niveles de intensidad relativa de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 según recurrencia tumoral y tratamiento adyuvante con quimioterapia.

	Serpin B5	ADAMST1	GM-CSF
Quimioterapia adyuvante	0,631	0,399	0,421
Recurrencia	0,020	0,021	0,005
Quimioterapia ✻ Recurrencia	0,422	0,839	0,479

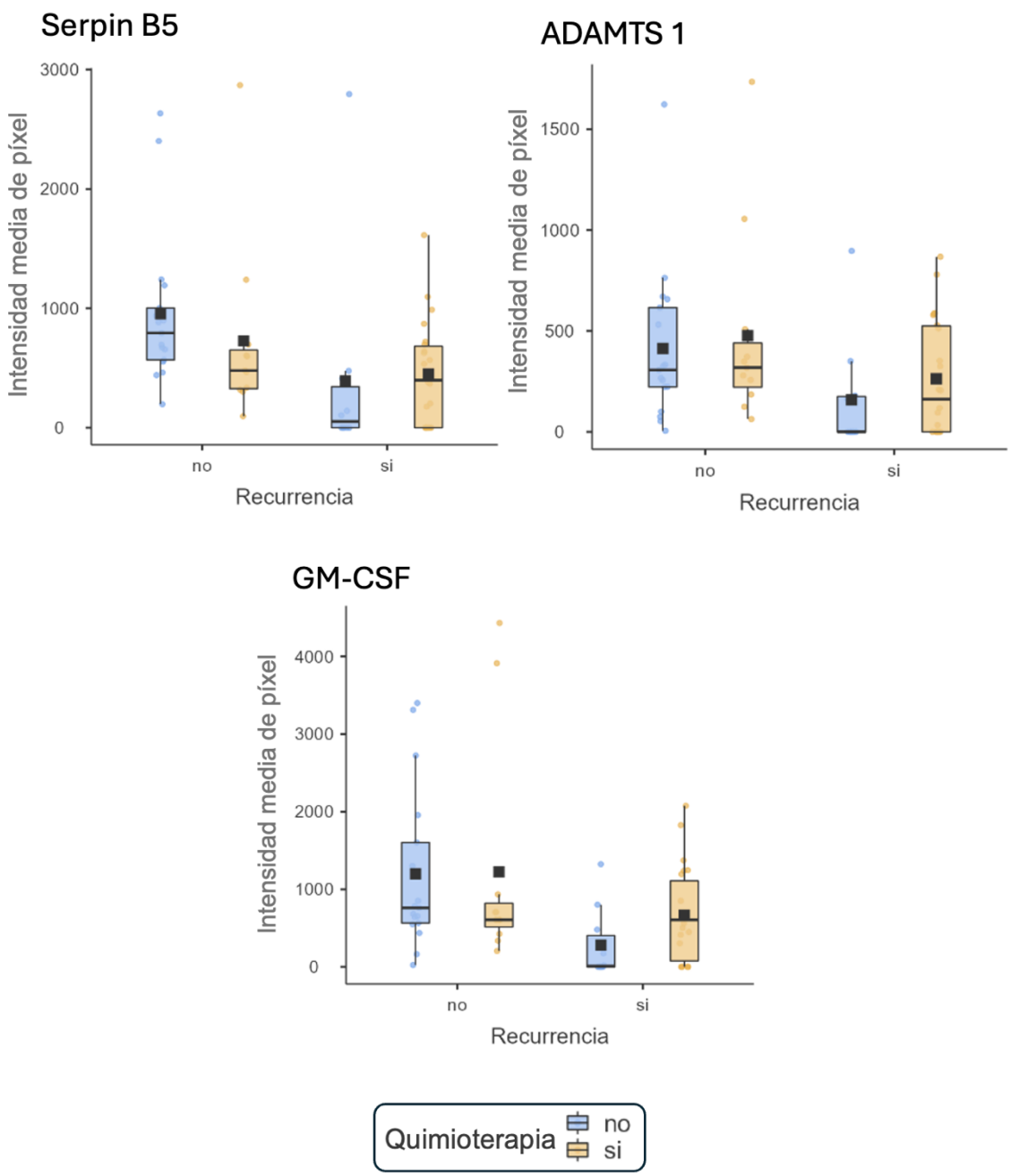


Figura 22. Distribución de la intensidad media de pixel de Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF en el 4DPO. Datos estratificados según recurrencia y tratamiento adyuvante.

5.2.7. Análisis univariado y multivariado

Se realizó un análisis univariado para evaluar la asociación entre los niveles de Serpin B5 en el 4DPO y el riesgo de recurrencia. Se determinó el punto de corte óptimo de intensidad media de píxel para esta proteína, identificando un umbral de 176 como el valor que mejor discriminaba entre pacientes con y sin recurrencia. La curva de SLE

obtenida mediante el método de Kaplan-Meier mostró que los pacientes con niveles elevados de Serpin B5 (intensidad >176) presentaban una SLE significativamente mayor (p = 0,011), lo que sugiere una posible función protectora de esta proteína en el contexto de la recurrencia tumoral **(Figura 23)**.

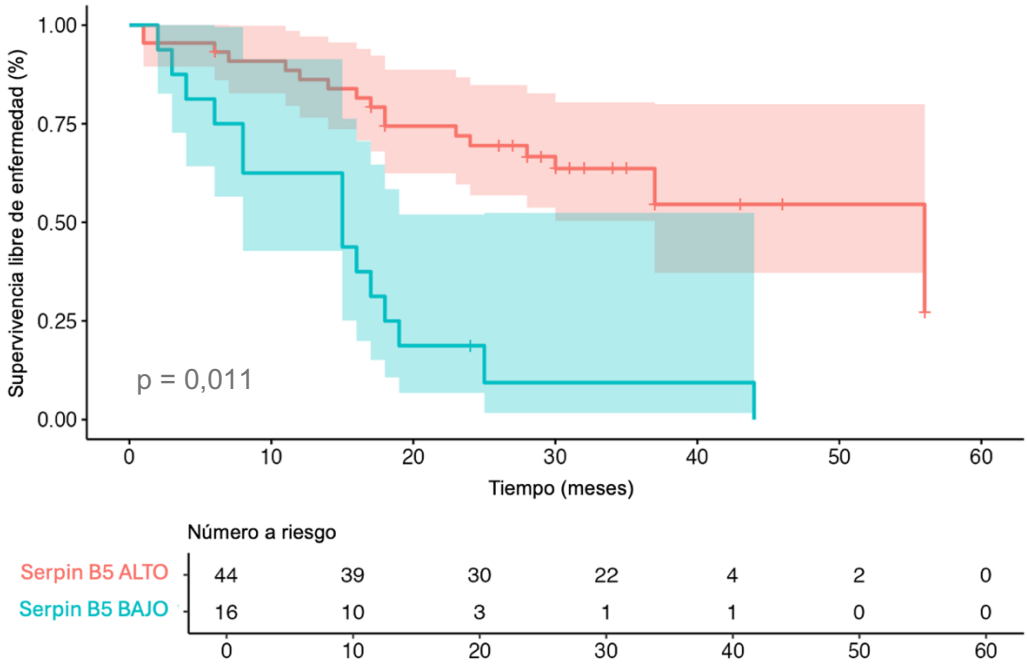


Figura 23. Análisis de supervivencia libre de enfermedad según los niveles de Serpin B5.

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis multivariado utilizando un modelo de regresión de Cox para ajustar por covariables clínicas relevantes. En este modelo, la expresión normalizada (Z-score) de Serpin B5 se mantuvo como un factor predictor independiente, asociándose con una reducción significativa del riesgo de recurrencia (HR: 0,46; IC 95%: 0,24–0,86; p = 0,015). Estos hallazgos refuerzan el valor potencial de Serpin B5 como biomarcador predictivo en pacientes con CC operado **(Figura 24)**.

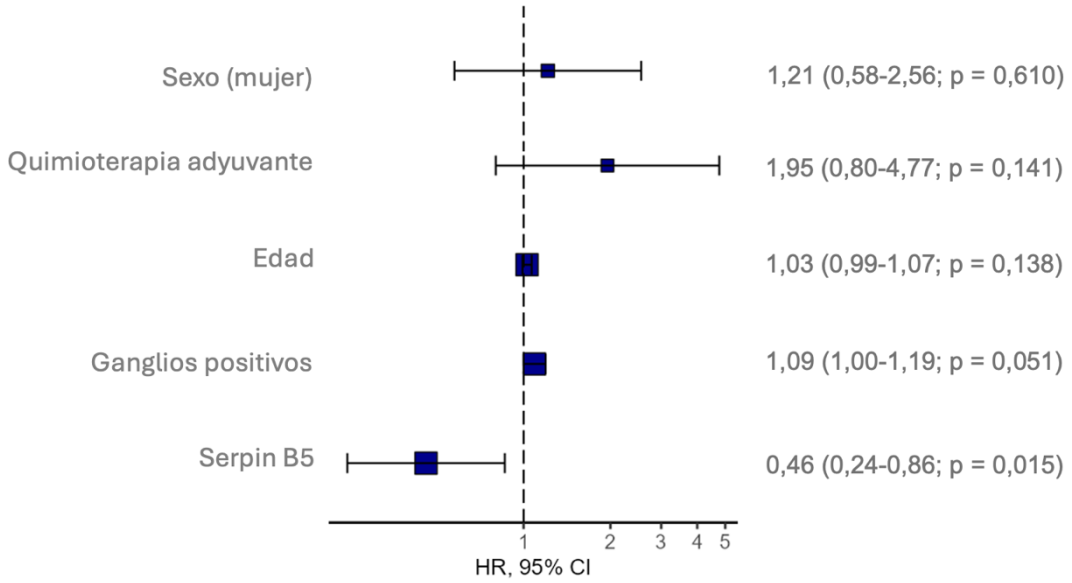


Figura 24. Análisis multivariado de riesgo de recurrencia tumoral incluyendo la expresión normalizada de Serpin B5.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

Esta tesis doctoral se enmarca en una de las líneas de investigación del Grupo de Investigación Clínica y Traslacional en Neoplasias Colorrectales del Hospital del Mar Research Institute, centrada en comprender los mecanismos implicados en la recidiva tumoral después de una exéresis quirúrgica con intención curativa en pacientes con CC.

El presente trabajo se diseñó bajo la hipótesis de que la agresión quirúrgica desencadena una respuesta angiogénica sistémica capaz de reactivar células tumorales y focos micrometastásicos residuales, facilitando la progresión tumoral y condicionando la probabilidad de recaída. En este contexto, planteamos que la cuantificación de biomarcadores angiogénicos séricos en el periodo postoperatorio temprano podría representar una herramienta útil para estratificar el riesgo de recurrencia más allá de los parámetros clínicopatológicos tradicionales.

El objetivo primario de esta tesis fue validar prospectivamente si la concentración sérica de VEGF en el 4DPO permite anticipar la recurrencia tumoral en pacientes sometidos a cirugía curativa de CC. En particular, pretendíamos evaluar si estas concentraciones de VEGF podrían servir como biomarcador predictivo robusto, con utilidad para optimizar las decisiones terapéuticas adyuvantes. Aunque nuestros hallazgos anteriores propusieron un valor límite de VEGF de 370 pg/mL como predictor independiente de la SLE[231], el presente estudio prospectivo multicéntrico no ha conseguido confirmar dicha asociación. Esta falta de validación constituye un hallazgo relevante, ya que delimita con mejor precisión el valor clínico real de VEGF en este contexto.

Como objetivo secundario, y reconociendo la complejidad inherente a la respuesta angiogénica, se exploró el perfil de expresión de otros factores angiogénicos mediante una plataforma multiplexada. Esta aproximación permitió explorar de forma más integrada la contribución de otros mediadores con posible valor predictivo, enriqueciendo el enfoque unidimensional centrado exclusivamente en VEGF y abriendo nuevas vías de futuros modelos predictivos.

La estrategia metodológica, basada en un diseño multicéntrico y en la recogida estandarizada de muestras, se orientó a minimizar sesgos de selección y variabilidad preanalítica, aspectos críticos en el desarrollo de biomarcadores clínicos fiables.

6.1. Análisis del papel de VEGF como biomarcador de recurrencia

La resección quirúrgica continúa siendo el pilar fundamental en el tratamiento del CC en estadios localizados[3]. Sin embargo, como se ha desarrollado a lo largo de la introducción de esta tesis, anticipar qué pacientes recaerán tras una cirugía R0 realizada bajo criterios oncológicos sigue siendo un reto clínico importante. Los sistemas de estadificación actuales —como el TNM— ofrecen una aproximación anatómica al riesgo de recurrencia, pero no capturan adecuadamente las complejas dinámicas biológicas que determinan la evolución a medio y largo plazo[284].

En los últimos años, múltiples avances han contribuido a mejorar el pronóstico global del CC, incluyendo la detección precoz mediante programas de cribado poblacional, la valoración multidisciplinar de los casos, la estandarización de la evaluación anatomopatológica y del seguimiento oncológico reglado, así como la adopción de protocolos ERAS y el perfeccionamiento de la técnica quirúrgica. Estos elementos han contribuido a una reducción significativa de las tasas de recurrencia, como reflejan los datos poblacionales de Nors et al. o Cardoso et al.[50,285]. A pesar de estos progresos, la recidiva tras cirugía curativa sigue siendo un fenómeno clínico difícil de anticipar y pone de relieve una necesidad no resuelta: mejorar la estratificación del riesgo más allá de los factores clinicopatológicos tradicionales. En un escenario clínico orientado hacia la medicina personalizada, la búsqueda de biomarcadores que permitan anticipar el riesgo de recurrencia de forma individualizada es una prioridad.

La recurrencia tumoral después de cirugía curativa se atribuye principalmente a células residuales que sobreviven a la intervención y proliferan bajo condiciones ambientales favorables. Es por esto que el riesgo de recurrencia no depende únicamente de características anatómicas, sino también de factores biológicos intrínsecos al tumor y de la respuesta del huésped, incluyendo fenómenos complejos como la respuesta inflamatoria, inmunológica y angiogénica inducida por la cirugía.

Desde la perspectiva quirúrgica, no debemos perder de vista que toda cirugía representa una agresión controlada al organismo, con implicaciones sistémicas que trascienden el gesto técnico. Este trauma desencadena una respuesta fisiológica compleja que, si bien es necesaria para la reparación tisular, también puede alterar el equilibrio del sistema inmunitario, vascular y tumoral. En este contexto, la angiogénesis postquirúrgica se ha postulado como un mecanismo clave que podría facilitar la reactivación de focos micrometastásicos latentes. Comprender la interacción entre intervención quirúrgica, respuesta sistémica y biología tumoral ha motivado en nuestro grupo una línea de investigación centrada en identificar biomarcadores que no solo relejen las propiedades del tumor primario, sino también las características dinámicas del entorno biológico en el que este progresa. La respuesta del huésped a la agresión quirúrgica podría ser, por tanto, un componente clave para mejorar la estratificación del riesgo y avanzar hacia estrategias personalizadas de monitorización y modulación de la recurrencia.

VEGF surge como un candidato atractivo en este contexto, dada su implicación central tanto en la angiogénesis tumoral como en la respuesta regenerativa al daño tisular. Sin un suficiente aporte sanguíneo, los tumores sólidos no son capaces de sostener su crecimiento ni diseminarse, lo que sustenta la hipótesis de que un entorno enriquecido en VEGF en el postoperatorio inmediato es un entorno transitoriamente favorable para la progresión de células tumorales residuales y micrometástasis ocultas. Las regiones hipóxicas y el proceso de cicatrización estimulan la liberación de VEGF, promoviendo la angiogénesis local y la formación de nuevas redes vasculares y, potencialmente, facilitando la progresión tumoral[196].

Numerosos estudios han demostrado que concentraciones elevadas de VEGF en tejido tumoral[225–228] o en suero preoperatorio[286] se asocian con un pronóstico desfavorable en el CCR con una mayor tasa de metástasis o menor SG. Sin embargo, existen escasos datos prospectivos que evalúen el papel del VEGF en el periodo postquirúrgico inmediato, cuando la biología tumoral puede estar influida por factores dinámicos como la inflamación, la hipoxia y la regeneración tisular. Esta ha sido precisamente una línea explorada por nuestro grupo. Pera et al.[230] demostraron en un modelo murino un aumento de la respuesta angiogénica sistémica y la progresión tumoral tras cirugía, comparando cirugía abierta y laparoscópica. Aunque no se observaron diferencias significativas en la incidencia de recurrencia tumoral entre grupos, los animales intervenidos mediante laparotomía presentaron una mayor carga

y peso tumoral, así como mayores niveles séricos de VEGF y aumento de la densidad microvascular en el día 12 postoperatorio. Además, se describió una correlación positiva entre los niveles de VEGF, la carga tumoral, el peso tumoral y la densidad microvascular, lo que refuerza la hipótesis de que la agresión quirúrgica puede inducir una respuesta sistémica capaz de favorecer la progresión tumoral.

En el estudio unicéntrico de Pascual et al.[231] se analizaron muestras séricas de VEGF de pacientes sometidos a cirugía curativa de CC en tres momentos: basal, a las 48h de la cirugía y en el 4DPO, coincidiendo con las analíticas extraídas por protocolo postquirúrgico institucional. No se observaron diferencias basales entre pacientes con y sin recurrencia, pero las concentraciones de VEGF fueron significativamente más elevadas en los pacientes que recayeron, tanto a las 48 horas como al 4DPO. En el análisis multivariado, únicamente la concentración de VEGF al 4DPO se mantuvo como factor independiente asociado a la recurrencia. A partir de estos datos, se propuso un punto de corte de 370 pg/mL, observando que los pacientes con niveles superiores a este umbral presentaban un riesgo 4,5 veces mayor de recurrencia (HR 4,49; IC 95%: 1,65-12,25; p = 0,004), junto con una disminución de la SLE a 5 años del 85% al 57,7%, y de la SG del 93% al 72%. Este umbral se estableció mediante una estrategia empírica, basada en la exploración de múltiples puntos de corte y en la selección de aquel que generaba la mayor separación estadística entre curvas de Kaplan-Meier, utilizando la prueba log-rank. Este enfoque, si bien útil para generar hipótesis, no parte de un punto de corte predefinido ni aplica técnicas de validación cruzada, lo que lo hace vulnerable al sobreajuste y a la sobreestimación del efecto predictivo si no se valida en cohortes independientes. La presente tesis proporciona precisamente esa evaluación prospectiva, revelando que dicho umbral no conserva valor predictivo en un contexto multicéntrico con recogida estandarizada de muestras.

En la cohorte del presente trabajo, los valores basales de VEGF fueron globalmente superiores a los del estudio previo, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin recurrencia (p = 0,637). Desde el punto de vista metodológico, ambos trabajos utilizaron el mismo kit comercial y procesamiento de muestras, lo que minimiza la variabilidad analítica. No obstante, no puede descartarse que posibles interrupciones en la cadena de frío durante los traslados interhospitalarios hayan podido afectar la cuantificación final.

Las diferencias entre ambos estudios podrían estar influidas, al menos en parte, por las características clínicas y quirúrgicas de las cohortes analizadas. Mientras que el estudio de Pascual et al. se desarrolló en un único centro con una muestra más homogénea, nuestra cohorte incluye pacientes procedentes de varios hospitales, reflejando con mayor fidelidad la variabilidad de la práctica clínica real. A pesar de que en la cohorte actual se realizaron más procedimientos mínimamente invasivos y se contabilizaron menos complicaciones, los niveles globales de VEGF fueron mayores, sin correlacionarse con la recurrencia. De hecho, los pacientes con niveles superiores a 370 pg/mL mostraron una mejor SG, lo que contrasta con los hallazgos previos.

Un aspecto relevante en la comparación es la distinta distribución por estadios y el uso del tratamiento adyuvante. Aunque la proporción de estadios I fue similar en ambas cohortes, en la actual se observó un mayor porcentaje de estadios II (39,9% frente a 25,5%) y menor de estadios III (30,2% frente a 40,5%). Esta diferencia probablemente refleja la madurez de los programas de cribado poblacional, que se encontraban en fase de implementación cuando se inició el estudio previo. Además, la indicación de quimioterapia adyuvante fue más frecuente en ambos estadios en la cohorte actual, con diferencias especialmente significativas en estadio II. Si bien las guías de la ESMO vigentes durante el estudio de Pascual et al. seguían criterios similares a los actuales[287], es previsible que las mejoras en los resultados postoperatorios a corto plazo, junto con la implementación de protocolos de optimización preoperatorios, hayan contribuido a que el estado funcional postquirúrgico de los pacientes sea mejor, contribuyendo a una mejor tolerancia al tratamiento adyuvante. Todos estos factores podrían haber influido en la menor tasa de recurrencia observada en este trabajo (15,7% frente a 22% en el estudio original), y por tanto, a una posible asociación más débil entre VEGF y el desenlace oncológico.

Para controlar estas diferencias, se realizó un análisis ajustado mediante PSM, seleccionando subgrupos clínicamente comparables (n = 69 por grupo). Tras el emparejamiento, las concentraciones de VEGF se igualaron entre ambas cohortes; sin embargo, el valor predictivo observado previamente no se pudo replicar, lo que sugiere que los hallazgos anteriores podrían estar condicionados por características específicas de aquella cohorte y no reflejar un valor predictivo generalizable.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio multicéntrico que evalúa de forma prospectiva el valor predictivo de las concentraciones séricas de VEGF en el periodo

postoperatorio inmediato tras cirugía curativa por CC. A pesar de haber observado diferencias significativas en los niveles de VEGF según el tipo de abordaje y la presencia de complicaciones —hallazgos que se han interpretado como reflejo de la magnitud de la agresión quirúrgica—, no se ha validado su asociación con la recurrencia tumoral ni el punto de corte propuesto previamente. Este resultado desafía nuestra hipótesis inicial y obliga a reconsiderar el valor de VEGF como posible candidato a potencial biomarcador de recurrencia. La inflamación sistémica, la hipoxia transitoria derivada del trauma quirúrgico, la regeneración tisular, las posibles infecciones o el soporte transfusional pueden alterar las concentraciones circulantes de VEGF de manera inespecífica. La medición única, sin análisis cinético, podría haber sido insuficiente para capturar una señal biológica con valor predictivo real.

Aunque el objetivo primario no se confirmó, el análisis detallado de los niveles de VEGF en relación con variables clínicas revela hallazgos fisiopatológicos de gran interés. En particular, se observaron concentraciones de VEGF significativamente más elevadas en los pacientes intervenidos mediante cirugía abierta, así como en aquellos que presentaron complicaciones postoperatorias. También se detectaron niveles más altos en los pacientes que sufrieron una dehiscencia anastomótica, aunque sin alcanzar la significación estadística ($p = 0,062$), probablemente debido a la limitada potencia del análisis al contabilizarse solamente 15 eventos. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que VEGF se comporta como un subrogado sistémico de la agresión quirúrgica, sensible al grado de inflamación y daño tisular inducidos por la intervención. Esta interpretación es coherente con observaciones previas de nuestro grupo, en las que se evidenció una mayor respuesta angiogénica en cirugía abierta frente a laparoscopia en un modelo murino[230]. Estos hallazgos se intentaron replicar en humanos en un estudio aleatorizado, donde a pesar de que se encontraron niveles más elevados de VEGF e IL-6 en pacientes intervenidos mediante cirugía abierta, estos resultados no fueron estadísticamente significativos[288].

En cuanto a las complicaciones infecciosas, Alonso et al. evidenciaron una asociación entre complicaciones intraabdominales —como la dehiscencia anastomótica o el absceso— y concentraciones elevadas de VEGF e IL-6, tanto en suero como en líquido peritoneal. Además, observaron un mayor riesgo de recurrencia a dos años en pacientes que desarrollaron una infección postoperatoria[172].La literatura experimental aporta una validación adicional a estos hallazgos. En un modelo murino, Bohle et al.[174] demostraron que la inducción de infección intraabdominal tras resección tumoral

incrementaba significativamente la densidad microvascular peritumoral y los niveles séricos de VEGF, acelerando la progresión tumoral. A nivel funcional, Salvans et al.[175] evidenciaron que el suero y el líquido peritoneal de pacientes con infección postoperatoria potenciaban de forma significativa la migración, invasividad y proliferación de células tumorales *in vitro*, sugiriendo un efecto directo del entorno inflamatorio en el comportamiento celular.

Así, esta tesis permite matizar el papel del VEGF en el contexto del CC operado: más que un biomarcador de recurrencia por sí solo, actúa como testigo biológico de la agresión quirúrgica y sus consecuencias inflamatorias. Su valor clínico depende, por tanto, del contexto en que se interprete: mientras que una elevación aislada podría formar parte de una respuesta regenerativa fisiológica, una elevación sostenida o exacerbada podría contribuir a generar un microambiente proangiogénico y protumoral.

Nuestros hallazgos, obtenidos en una cohorte prospectiva y multicéntrica, contribuyen a delimitar esta dualidad funcional del VEGF: como componente esperable de la respuesta regenerativa posquirúrgica y, al mismo tiempo, como posible marcador de un microambiente pro-tumoral en determinados contextos clínicos. Esta diferenciación resulta clave para futuras estrategias de estratificación del riesgo, especialmente en pacientes con factores añadidos que puedan intensificar la respuesta angiogénica. Desde esta perspectiva, la incorporación de VEGF en modelos multiparamétricos, combinándolo con otros marcadores inflamatorios, inmunológicos y clínicos, podría mejorar la capacidad predictiva de recurrencia tumoral y facilitar un seguimiento más personalizado tras la cirugía oncológica.

La confirmación en nuestro presente estudio de la relación de los valores de VEGF y factores clínicos relacionados con la magnitud de la agresión quirúrgica refuerzan su papel como mediador clave de la respuesta angiogénica postquirúrgica. Sin embargo, la ausencia de validación clínica de su capacidad predictiva en la recurrencia puede haber sido influenciada por diversas limitaciones metodológicas.

En primer lugar, la medición de VEGF se realizó en un único punto temporal: el 4DPO. Aunque esta elección se fundamentó en trabajos previos de nuestro grupo que señalaban dicho momento como el de mayor valor predictivo[231], esta estrategia limita la capacidad de capturar la cinética completa de la respuesta angiogénica. La angiogénesis postquirúrgica es un proceso dinámico y multifásico, influido por

fenómenos como la hipoxia transitoria, la inflamación y la cicatrización. En este contexto, una determinación puntual puede no reflejar adecuadamente ni la magnitud ni la duración de la señal biológica. De hecho, en el estudio unicéntrico original, los niveles de VEGF en los días 2 y 4 postoperatorios mostraron diferencias significativas entre pacientes con y sin recurrencia, pero los valores basales no fueron predictivos. Esta observación sugiere que la dinámica de elevación —y no su presencia aislada— podría ser clave para su interpretación. De hecho, los resultados de un estudio español con muestreo más tardío, observó elevaciones persistentes incluso en el día 30 postoperatorio[220]. La ausencia de mediciones seriadas en el estudio multicéntrico impide contrastar esta hipótesis.

En segundo lugar, el análisis se centró exclusivamente en las concentraciones séricas de VEGF por razones de continuidad metodológica y factibilidad logística[231]. No obstante, esta decisión conlleva limitaciones relevantes a la hora de interpretar los resultados, ya que las concentraciones de VEGF pueden estar significativamente influenciadas tanto por la fuente celular que lo libera como por el compartimento anatómico en que se mide[289].

Existen importantes diferencias metodológicas en la literatura respecto a la fuente utilizada para medir VEGF, empleándose suero, plasma o incluso sangre total, lo que dificulta la comparación entre estudios y la interpretación clínica de los resultados[290]. Esta variabilidad es especialmente relevante si se considera que las plaquetas y los neutrófilos contienen VEGF, y que su liberación durante la coagulación puede alterar artificialmente las concentraciones séricas[289]. En consecuencia, se ha cuestionado la fiabilidad del VEGF sérico como marcador aislado, ya que podría no reflejar con precisión las concentraciones realmente circulantes. Además de las diferencias secundarias al producto biológico analizado, el origen celular del VEGF medido en suero periférico es heterogéneo. En el contexto postoperatorio, las plaquetas activadas durante la coagulación, los leucocitos inflamatorios y el endotelio vascular dañado constituyen fuentes relevantes de VEGF, lo que introduce un componente inespecífico y reactivo en su concentración circulante. Esta mezcla de señales fisiológicas —más ligadas a la reparación tisular que a la biología tumoral residual— podría enmascarar su valor como marcador específico de recurrencia. Por contraste, la sobreexpresión de VEGF en el tejido tumoral refleja directamente una adaptación a la hipoxia tumoral y una estrategia de supervivencia clonal, lo que le confiere un significado biológico distinto y más estrechamente ligado a la progresión maligna.

Estudios como los de Min et al.[291] y Tien et al.[292] han mostrado que las concentraciones de VEGF en el drenaje venoso tumoral —particularmente en territorio portal o mesentérico— se asocian de forma independiente con mayor riesgo de recurrencia hepática y metástasis. Sin embargo, estos autores no encontraron diferencias en la recurrencia cuando la concentración fue medida en suero periférico. Este fenómeno podría explicarse por el metabolismo hepático y pulmonar que sufren las moléculas derivadas del tumor antes de alcanzar la circulación sistémica, lo que reduce su concentración detectable. Aunque nuestra cohorte no incluyó muestras del drenaje venoso tumoral ni del propio lecho quirúrgico —como el líquido de drenaje peritoneal—, la determinación periférica en el 4DPO conserva su valor como medida reproducible y comparable con estudios previos, incluida nuestra serie inicial[231]. No obstante, estas diferencias entre estudios subrayan la importancia de considerar el contexto clínico, el diseño metodológico y los factores preanalíticos al interpretar la utilidad pronóstica del VEGF periférico.

Además de las fuentes biológicas de VEGF y el tipo de muestra, existen múltiples factores sistémicos que pueden alterar sus concentraciones circulantes. Entre ellos destacan la respuesta inflamatoria, el estrés metabólico, el daño endotelial, las infecciones y la transfusión de productos sanguíneos[217,289]. En nuestra cohorte, no se recogieron datos específicos sobre transfusión sanguínea, a pesar de que esta intervención puede modificar sustancialmente los niveles circulantes de factores angiogénicos. Si bien en la cirugía programada de colon es poco frecuente gracias a los programas de prehabilitación y optimización prequirúrgica, la ausencia de esta variable representa una fuente potencial de confusión. Por otro lado, aunque sí se documentaron las complicaciones postoperatorias, no se registró con exactitud el día en que se produjeron, lo que limita nuestra capacidad de tener en cuenta estos posibles factores de confusión.

Una limitación adicional es la referente al tamaño muestral. El cálculo inicial del número de pacientes se realizó estimando una tasa de recurrencia superior al 30%, en línea con la literatura disponible en el momento del diseño del estudio[79]. Sin embargo, la incidencia observada en la cohorte fue del 15,7%, un dato que refleja la mejora progresiva de los resultados oncológicos en los últimos años y en línea con las tendencias actuales[50,285]. Esta menor frecuencia de eventos redujo la potencia estadística del análisis y puede haber contribuido a la ausencia de significación en algunas asociaciones exploradas. Este hecho subraya la necesidad de adaptar los

diseños de investigación a los cambios epidemiológicos reales, especialmente en contextos donde las tasas de recurrencia están en descenso.

Por último, conviene destacar que este trabajo se diseñó centrado en un único biomarcador. Aunque el VEGF es un actor central en la angiogénesis, su comportamiento está estrechamente regulado por una red de mediadores inflamatorios, inmunológicos y metabólicos. Evaluarlo de forma aislada —sin integrar datos moleculares adicionales, perfiles inmunes o características histopatológicas cuantitativas— puede limitar su poder discriminativo. La complejidad del entorno postoperatorio probablemente requiere modelos integrativos capaces de reflejar la interacción dinámica entre múltiples variables. En conjunto, estas limitaciones no restan valor al presente trabajo, sino que delinean con claridad los retos metodológicos que deben abordarse en futuros estudios. La incorporación de mediciones seriadas, la discriminación entre isoformas de VEGF y el uso combinado con otros marcadores serán pasos fundamentales para avanzar hacia una medicina perioperatoria verdaderamente personalizada.

6.2. Exploración de otros biomarcadores angiogénicos

La ausencia de asociación significativa para VEGF y el riesgo de recurrencia en nuestra cohorte, lejos de invalidar la hipótesis inicial, invita a reconsiderar el papel de la angiogénesis en la evolución postoperatoria del CC desde una perspectiva más amplia.

En particular, se observó que niveles séricos significativamente más bajos de ADAMTS1, GM-CSF y, especialmente de Serpin B5 en el periodo postoperatorio inmediato se asociaban de forma consistente con una mayor incidencia de recurrencia tumoral. Este patrón sugiere que, más que la magnitud absoluta de la angiogénesis, lo determinante podría ser la calidad, regulación y equilibrio del entorno angiogénico tras la cirugía. La presencia de una respuesta angiogénica desorganizada, insuficiente o desregulada podría, paradójicamente, generar un microambiente más favorable para la expansión de células tumorales residuales.

ADAMTS1, una metaloproteinasa con actividad sobre la matriz extracelular, ha sido tradicionalmente considerada un modulador negativo de la angiogénesis patológica.

Esta proteína regula la disponibilidad de factores proangiogénicos mediante su degradación proteolítica y participa en el remodelado tisular poslesional. Estudios preclínicos han demostrado que la pérdida o reducción de ADAMTS1 favorece la formación de neovasos aberrantes —con mayor permeabilidad, menor organización estructural y mayor propensión a la extravasación tumoral— lo cual facilita la progresión metastásica[293]. En el contexto del CC, datos recientes han vinculado la baja expresión de ADAMTS1 con fenotipos tumorales más agresivos, mayor potencial invasivo y resistencia a terapias antiangiogénicas basadas en inhibidores de VEGF[294,295]. En nuestra cohorte, la asociación entre niveles reducidos de ADAMTS1 en el 4DPO y mayor riesgo de recaída refuerza esta hipótesis y subraya su potencial valor como marcador de una respuesta angiogénica ineficaz.

Por su parte, GM-CSF, tradicionalmente relacionado con la hematopoyesis y la maduración de células mieloides, desempeña un papel crucial como modulador de la inmunidad antitumoral. Esta citoquina promueve la diferenciación de células dendríticas y estimula la presentación antigénica, facilitando la activación de respuestas T efectivas contra células malignas[296]. En modelos murinos de resección tumoral, se ha observado que la administración exógena de GM-CSF potencia la inmunovigilancia y reduce la carga micrometastásica[297]. Estudios en melanoma y cáncer de pulmón han vinculado niveles elevados de GM-CSF con un mejor control de la enfermedad y una respuesta más robusta a terapias inmunomoduladora[298,299]. En nuestra serie, la disminución de GM-CSF en pacientes con recurrencia podría reflejar una disfunción o supresión de la respuesta inmune postquirúrgica, lo que facilitaría la potencial expansión de focos tumorales residuales.

Respecto a Serpin B5, conocido también como maspina, su papel como inhibidor de la progresión tumoral y modulador de la angiogénesis ha sido ampliamente documentado[300,301]. Maspina actúa interfiriendo en procesos de adhesión celular, migración e invasión, además de ejercer efectos antiangiogénicos mediante la modulación de la actividad de VEGF y la inhibición de la formación de tubos capilares[302]. En CC, estudios previos han mostrado que la pérdida de expresión de Serpin B5 se correlaciona con un aumento de la invasividad, resistencia a la apoptosis y un peor pronóstico[303]. La tendencia observada en nuestro estudio, donde los niveles de Serpin B5 disminuían progresivamente con el aumento del estadio tumoral, refuerza esta asociación biológica y sugiere que una menor disponibilidad sistémica de Serpin B5 en el 4DPO podría identificar a pacientes en riesgo de recaída precoz.

Estos hallazgos plantean una visión más matizada del papel de la angiogénesis postquirúrgica en la evolución tumoral. Lejos de ser un fenómeno linealmente asociado a peor pronóstico por su mera intensidad, la calidad, regulación y equilibrio de la respuesta angiogénica parecen desempeñar un papel crítico en determinar el destino de las células tumorales residuales. Modelos recientes de angiogénesis adaptativa y evasiva han mostrado que la hipoxia severa, resultante de una angiogénesis insuficiente o disfuncional, puede inducir un fenotipo más agresivo, seleccionando clones tumorales resistentes y favoreciendo la progresión metastásica[304,305]. Asimismo, el hecho de que los niveles reducidos de estas proteínas se observaran tanto en pacientes que recibieron como en aquellos que no recibieron quimioterapia adyuvante refuerza la hipótesis de que su valor predictivo podría ser independiente del efecto del tratamiento oncológico postoperatorio. Sin embargo, esta interpretación debe realizarse con cautela, dada la naturaleza no aleatorizada del estudio y el desequilibrio inicial en la distribución de tratamientos adyuvantes, que constituye una limitación relevante.

El análisis exploratorio realizado mediante un panel multiplexado de 55 proteínas angiogénicas representa una de las fortalezas metodológicas del presente trabajo, al permitir una caracterización más amplia y funcionalmente diversa del entorno angiogénico postoperatorio. Sin embargo, este enfoque presenta también una serie de limitaciones que deben ser reconocidas al interpretar sus resultados y su posible aplicación clínica.

En primer lugar, la limitación más evidente es el tamaño reducido de la cohorte analizada (n = 60), lo que compromete la potencia estadística del estudio e incrementa el riesgo de hallazgos sesgados. Esta limitación es particularmente relevante en estudios de cribado multivariable, donde la exploración simultánea de múltiples biomarcadores amplifica el riesgo de obtener asociaciones significativas por azar. Aunque metodológicamente aplicamos correcciones estrictas por comparación múltiple —como ajustes de tipo Bonferroni o FDR— para una correcta interpretación de los resultados, la extrapolación de estos hallazgos ha de ser cauta y supeditada a las limitaciones del estudio.

En segundo lugar, la naturaleza semicuantitativa de la plataforma utilizada plantea limitaciones adicionales. Aunque estas tecnologías permiten analizar múltiples proteínas de forma simultánea con alta reproducibilidad y un coste razonable, su

sensibilidad y especificidad pueden ser subóptimas para ciertas moléculas de baja abundancia o con epítopos escasamente inmunogénicos. Esto es particularmente relevante en el caso de proteínas como las serpinas o ciertos factores inmunomoduladores, cuya cuantificación fiable puede requerir técnicas complementarias de validación, como ELISA de alta sensibilidad o plataformas de espectrometría de masas dirigidas. En ausencia de esta validación, no puede descartarse que algunas de las asociaciones observadas reflejen variabilidad técnica o limitaciones de detección, más que diferencias biológicas reales.

En tercer lugar, otra limitación relevante es el carácter estático del muestreo, basado en una única extracción sanguínea en el 4DPO. Si bien esta elección se justificó metodológicamente por la necesidad de homogeneizar el tiempo de recogida y facilitar su aplicación en la práctica clínica, la ausencia de un análisis cinético limita la comprensión de la dinámica temporal de los mediadores angiogénicos. En un proceso biológico tan dinámico como la respuesta a la agresión quirúrgica, en el que las fases inflamatoria, regenerativa e inmunológica se suceden rápidamente, una única medición puede no capturar adecuadamente los picos críticos de expresión ni reflejar la persistencia o resolución de ciertas señales angiogénicas. De este modo, se pierde la oportunidad de identificar perfiles evolutivos o patrones de respuesta asociados a recurrencia, que podrían tener mayor valor predictivo que un valor aislado.

Asimismo, aunque el panel seleccionado incluye una amplia representación de vías angiogénicas clásicas e inmunomoduladoras —como VEGF-A, FGF, PDGF, angiopoyetinas, IL-1β, IL-8, MCP-1, entre otras—, no cubre de manera exhaustiva todos los mediadores potencialmente relevantes en el contexto postoperatorio del CC. En particular, no se incluyeron marcadores de activación endotelial como VCAM-1 o E-selectina, que reflejan el grado de activación vascular y podrían aportar información complementaria sobre la reactividad del endotelio postquirúrgico. Tampoco se analizaron ciertos factores emergentes de interés creciente, como VEGF-D[306,307] o Angiopoietin-like Protein 4 (ANGPTL4)[308,309], implicados en mecanismos alternativos de neovascularización, remodelado tisular o evasión inmunológica tumoral. Esta cobertura parcial del espectro angiogénico puede limitar la capacidad del estudio para identificar subtipos biológicos o firmas moleculares completas que expliquen el riesgo de recurrencia.

Finalmente, y de manera inherente al diseño de cribado exploratorio, la ausencia de una hipótesis preespecificada para cada proteína analizada impone una restricción adicional en la interpretación de las asociaciones detectadas. Aunque los hallazgos relativos a ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 son coherentes con la literatura previamente discutida y muestran consistencia biológica interna, dichas asociaciones potenciales requieren validaciones específicas en cohortes independientes y con enfoques metodológicos dirigidos.

En conjunto, estas limitaciones metodológicas no invalidan la relevancia de los resultados, pero sí condicionan la fuerza de las conclusiones. La información obtenida debe ser entendida como una base sólida para futuros estudios prospectivos, diseñados específicamente para validar estos hallazgos en muestras de mayor tamaño, con muestreos longitudinales y análisis funcionales complementarios. El potencial clínico de integrar múltiples mediadores angiogénicos e inmunológicos en modelos predictivos robustos justifica plenamente la continuación de esta línea de investigación en escenarios controlados y con criterios metodológicos más estrictos.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. La cuantificación sérica de VEGF en el cuarto día postoperatorio permite caracterizar la respuesta angiogénica sistémica inducida por la cirugía en pacientes operados por cáncer de colon con intención curativa. Sus niveles reflejan la magnitud de la agresión quirúrgica, más pronunciada en abordaje abierto y en presencia de complicaciones postoperatorias.

2. En esta cohorte prospectiva, los niveles séricos de VEGF en el cuarto día postoperatorio no demostraron capacidad predictiva independiente para la recurrencia tumoral, y no se validó su utilidad como biomarcador predictivo.

3. La respuesta angiogénica a la agresión quirúrgica implica múltiples mediadores más allá de VEGF. La elevación de proteínas con función inhibitoria como Serpin B5, ADAMTS1 y GM-CSF podría relacionarse con un menor riesgo de recurrencia. En particular, Serpin B5 emergió como posible biomarcador con valor predictivo.

4. Nuestros hallazgos sugieren que, más allá de la magnitud absoluta de la respuesta angiogénica, lo determinante podría ser su regulación y equilibrio tras la cirugía. La presencia de una respuesta angiogénica desorganizada, insuficiente o desregulada podría favorecer un microambiente propicio para la expansión de células tumorales residuales.

LÍNEAS DE FUTURO

8. LÍNEAS DE FUTURO

Los resultados de esta tesis abren nuevas perspectivas para comprender la biología de la recaída tumoral en el contexto del CC resecado con intención curativa. En primer lugar, nuestros hallazgos permiten reevaluar el papel de VEGF como marcador biológico postoperatorio. Si bien se ha considerado clásicamente un mediador central de la angiogénesis tumoral, nuestros datos sugieren que su elevación en el contexto posquirúrgico inmediato refleja, en muchos casos, una respuesta regenerativa fisiológica más que un proceso patológico persistente. Este matiz tiene implicaciones relevantes a la hora de interpretar su valor predictivo en el seguimiento oncológico.

Más allá de VEGF, el análisis multiplexado de proteínas angiogénicas ha permitido identificar nuevos candidatos con potencial valor predictivo. En concreto, los niveles séricos bajos de ADAMTS1, GM-CSF y Serpin B5 en el 4DPO se asociaron con un mayor riesgo de recurrencia, lo que plantea una hipótesis alternativa al paradigma centrado en la angiogénesis exacerbada: la posibilidad de que una respuesta angiogénica inhibitoria deficiente —es decir, una falta de control y organización del entorno vascular regenerativo— favorezca la progresión de células tumorales residuales[310].

Este hallazgo requiere validación en cohortes independientes y más amplias, idealmente multicéntricas y con recogida seriada de muestras, que permitan confirmar el valor predictivo de estas moléculas y definir su evolución temporal. En paralelo, el análisis funcional de estas proteínas en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo* puede ayudar a diseccionar los mecanismos biológicos subyacentes y determinar si representan simples epifenómenos o verdaderos elementos activos en la biología de la recaída tumoral postquirúrgica.

Una segunda vía de desarrollo reside en la construcción de modelos predictivos integrativos, que combinen biomarcadores proteómicos con variables clínicas, características anatomopatológicas y datos genómicos. Esta aproximación podría superar las limitaciones de los sistemas actuales de estratificación del riesgo, anclados aún en factores anatómicos, y conducir a una medicina oncológica más personalizada, en la que las decisiones sobre quimioterapia adyuvante se ajusten al perfil biológico individual del paciente y no solo al estadio tumoral. Además, los resultados obtenidos

abren una ventana hacia una nueva dimensión terapéutica: la posibilidad de modular la angiogénesis en el entorno postoperatorio inmediato. Si se confirmara que una respuesta angiogénica deficiente, desorganizada o ineficaz contribuye a la supervivencia y expansión de células tumorales residuales, se podrían plantear estrategias farmacológicas dirigidas a restaurar un entorno vascular más fisiológico y regulado. Este concepto, que se aleja del enfoque clásico de “antiangiogénesis” en contextos avanzados, se alinea con modelos recientes que abogan por una “normalización” de la vasculatura como herramienta para mejorar la perfusión, reducir la hipoxia y facilitar tanto la inmunovigilancia como el acceso de terapias sistémicas.

En paralelo a estas estrategias centradas en la respuesta angiogénica, nuestro grupo ha comenzado a explorar también el papel del metabolismo sistémico en la recaída tumoral tras cirugía curativa. En un estudio prospectivo realizado por nuestro grupo, Montcusí et al, observaron que alteraciones en la vía de la espermidina —implicada en procesos celulares clave como la proliferación, el estrés oxidativo y la autofagia— se asociaban de forma significativa con la recurrencia tumoral, incluso en estadios iniciales y en ausencia de factores clínicopatológicos adversos evidentes, en pacientes con CCR operados con intención curativa[311]. Estos hallazgos son coherentes con la hipótesis de que la vía de la espermidina no solo está implicada en el diagnóstico del CCR[312,313], sino también en su recurrencia. La integración de análisis metabolómicos en el periodo postoperatorio podría, por tanto, contribuir a una estratificación del riesgo más precisa y a la identificación de nuevas dianas biológicas para estrategias de intervención precoz.

En conjunto, este trabajo contribuye de forma significativa a comprender el papel que juega la respuesta angiogénica postoperatoria en la historia natural del CC. Al cuestionar el valor predictivo aislado del VEGF y proponer nuevas dianas de interés biológico, se abre la posibilidad de redefinir cómo se monitoriza el periodo postoperatorio desde una perspectiva oncológica. La integración de biomarcadores dinámicos y factores del huésped representa un paso necesario para avanzar hacia una verdadera medicina perioperatoria de precisión.

BIBLIOGRAFÍA

[1] International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2022: Global Cancer Observatory 2022. https://gco.iarc.fr/en (accessed April 13, 2025).
[2] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut 2017;66:683–91. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912.
[3] Argilés G, Tabernero J, Labianca R, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2020;31:1291–305. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.06.022.
[4] Gini A, Jansen EEL, Zielonke N, et al. Impact of colorectal cancer screening on cancer-specific mortality in Europe: A systematic review. Eur J Cancer 2020;127:224–35. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.12.014.
[5] Mauri G, Sartore-Bianchi A, Russo A-G, et al. Early-onset colorectal cancer in young individuals. Mol Oncol 2019;13:109–31. https://doi.org/10.1002/1878-0261.12417.
[6] Stoffel EM, Murphy CC. Epidemiology and mechanisms of the increasing incidence of colon and rectal cancers in young adults. Gastroenterology 2020;158:341–53. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.07.055.
[7] Schiedeck T, Matzel K. Colon cancer. In: Herold A, Lehur P, Matzel K, et al., editors. Coloproctology (European Manual of Medicine). 2nd ed., Berlin, Heidelberg: Springer; 2017.
[8] Kastrinos F, Syngal S. Inherited colorectal cancer syndromes. Cancer J 2011;17:405–15. https://doi.org/10.1097/PPO.0b013e318237e408.
[9] Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Prz Gastroenterol 2019;14:89–103. https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072.
[10] Davis DM, Marcet JE, Frattini JC, et al. Is It Time to Lower the Recommended Screening Age for Colorectal Cancer? J Am Coll Surg 2011;213:352–61. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2011.04.033.
[11] Hermelink R, Leitzmann MF, Markozannes G, et al. Sedentary behavior and cancer–an umbrella review and meta-analysis. Eur J Epidemiol 2022;37:447–60. https://doi.org/10.1007/s10654-022-00873-6.
[12] Friedenreich CM, Ryder-Burbidge C, McNeil J. Physical activity, obesity and sedentary behavior in cancer etiology: epidemiologic evidence and biologic mechanisms. Mol Oncol 2021;15:790–800. https://doi.org/10.1002/1878-0261.12772.
[13] Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. Lancet Oncol 2015;16:1599–600. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1.
[14] Vieira AR, Abar L, Chan DSM, et al. Foods and beverages and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. Ann Oncol 2017;28:1788–802. https://doi.org/10.1093/annonc/mdx171.
[15] Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, et al. Body Fatness and Cancer — Viewpoint of the IARC Working Group. N Engl J Med 2016;375:794–8. https://doi.org/10.1056/nejmsr1606602.
[16] Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, et al. Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke

events: Systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. BMJ 2016;354. https://doi.org/10.1136/bmj.i3857.
[17] Song M, Chan AT. Environmental Factors, Gut Microbiota, and Colorectal Cancer Prevention. Clin Gastroenterol Hepatol 2019;17:275–89. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.07.012.
[18] Feng Q, Liang S, Jia H, et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. Nat Commun 2015;6. https://doi.org/10.1038/ncomms7528.
[19] Laukoetter MG, Mennigen R, Hannig CM, et al. Intestinal Cancer Risk in Crohn's Disease: A Meta-Analysis. J Gastrointest Surg 2011;15:576–83. https://doi.org/10.1007/s11605-010-1402-9.
[20] Keller DS, Windsor A, Cohen R, et al. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: review of the evidence. Tech Coloproctol 2019;23:3–13. https://doi.org/10.1007/s10151-019-1926-2.
[21] Nguyen LH, Goel A, Chung DC. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. Gastroenterology 2020;158:291–302. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.08.059.
[22] Satorres C, García-Campos M, Bustamante-Balén M. Molecular Features of the Serrated Pathway to Colorectal Cancer: Current Knowledge and Future Directions. Gut Liver 2021;15:31–43. https://doi.org/10.5009/gnl19402.
[23] Nakanishi Y, Diaz-Meco MT, Moscat J. Serrated Colorectal Cancer: The Road Less Travelled? Trends Cancer 2019;5:742–54. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.09.004.
[24] Bessa X. Serrated Polyps and Synchronous Advanced Neoplasia in Average-Risk Persons. Gastroenterol Hepatol 2014;10:190–2.
[25] Nardone OM, Zammarchi I, Santacroce G, et al. Inflammation-Driven Colorectal Cancer Associated with Colitis: From Pathogenesis to Changing Therapy. Cancers (Basel) 2023;15:2389. https://doi.org/10.3390/cancers15082389.
[26] Gharib E, Robichaud GA. From Crypts to Cancer: A Holistic Perspective on Colorectal Carcinogenesis and Therapeutic Strategies. Int J Mol Sci 2024;25:9463. https://doi.org/10.3390/ijms25179463.
[27] Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening. Clin Interv Aging 2016;11:967–76. https://doi.org/10.2147/CIA.S109285.
[28] Langner C. Serrated and non-serrated precursor lesions of colorectal cancer. Dig Dis 2015;33:28–37. https://doi.org/10.1159/000366032.
[29] Fearon EF, Vogelstein B. A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis. Cell 1990;61:759–67.
[30] Stracci F, Zorzi M, Grazzini G. Colorectal Cancer Screening: Tests, Strategies, and Perspectives. Front Public Health 2014;2. https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00210.
[31] De Palma F, D'Argenio V, Pol J, et al. The Molecular Hallmarks of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer. Cancers (Basel) 2019;11:1017. https://doi.org/10.3390/cancers11071017.
[32] Du L, Kim JJ, Shen J, et al. KRAS and TP53 mutations in inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer: a meta-analysis. Oncotarget 2017;8:22175–86. https://doi.org/10.18632/oncotarget.14549.

[33] Li J, Ji Y, Chen N, et al. Colitis-associated carcinogenesis: crosstalk between tumors, immune cells and gut microbiota. Cell Biosci 2023;13. https://doi.org/10.1186/s13578-023-01139-8.
[34] Cancer Research UK. Cancer Statistics for the UK n.d. https://cruk.org/cancerstats (accessed March 9, 2025).
[35] Fritz A, Percy C, Jack A, et al., editors. International Classification of Diseases for Oncology. 3rd, 1st revision ed. Geneva: World Health Organization; 2014.
[36] Ford AC, Veldhuyzen Van Zanten SJO, Rodgers CC, et al. Diagnostic utility of alarm features for colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. Gut 2008;57:1545–52. https://doi.org/10.1136/gut.2008.159723.
[37] McDermott FT, Hughes E, Pihl E, et al. Prognosis in relation to symptom duration in colon cancer. Br J Surg 1981;69:846–9. https://doi.org/10.1002/bjs.1800681206.
[38] Lauby-Secretan B, Vilahur N, Bianchini F, et al. The IARC Perspective on Colorectal Cancer Screening. N Engl J Med 2018;378:1734–40.
[39] Brenner H, Jansen L, Ulrich A, et al. Survival of patients with symptom-and screening-detected colorectal cancer. Oncotarget 2016;7:44695–704.
[40] Skalitzky MK, Zhou PP, Goffredo P, et al. Characteristics and symptomatology of colorectal cancer in the young. Surgery 2023;173:1137–43. https://doi.org/10.1016/j.surg.2023.01.018.
[41] WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO Classification of Tumours: Digestive System Tumours. vol. 1. 5th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2019.
[42] Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. TNM Classification of Malignant Tumours. 8th ed. Chichester: Wiley-Blackwell; 2017.
[43] Nitsche U, Zimmermann A, Späth C, et al. Mucinous and Signet-Ring Cell Colorectal Cancers Differ from Classical Adenocarcinomas in Tumor Biology and Prognosis. Ann Surg 2013;258:775–83. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182a69f7e.
[44] Hugen N, Van Beek JJP, De Wilt JHW, et al. Insight into mucinous colorectal carcinoma: Clues from etiology. Ann Surg Oncol 2014;21:2963–70. https://doi.org/10.1245/s10434-014-3706-6.
[45] Huang A, Yang Y, Shi J-Y, et al. Mucinous adenocarcinoma: A unique clinicopathological subtype in colorectal cancer. World J Gastrointest Surg 2021;13:1567–83. https://doi.org/10.4240/wjgs.v13.i12.1567.
[46] Hugen N, Brown G, Glynne-Jones R, et al. Advances in the care of patients with mucinous colorectal cancer. Nat Rev Clin Oncol 2016;13:361–9. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.140.
[47] Hyngstrom JR, Hu CY, Xing Y, et al. Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: Analysis from the National Cancer Data Base. Ann Surg Oncol 2012;19:2814–21. https://doi.org/10.1245/s10434-012-2321-7.
[48] Verhulst J, Ferdinande L, Demetter P, et al. Mucinous subtype as prognostic factor in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. J Clin Pathol 2012;65:381–8. https://doi.org/10.1136/jclinpath-2011-200340.
[49] Mcdonald G, Williamson A. Dissemination of Cancer of the Colon and Rectum: Special Reference to Four Cases of Local hnplantation in Perineal Wounds. Dis Colon Rectum 1960;3:117–24.

[50] Nors J, Iversen LH, Erichsen R, et al. Incidence of recurrence and time to recurrence in stage I to III colorectal cancer: a nationwide Danish cohort study. JAMA Oncol 2024;10:54–62. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2023.5098.
[51] Turner J, Vollmer RT. Lymp nodes in colorectal carcinoma: The poisson probability paradigm. Am J Clin Pathol 2006;125:866–72. https://doi.org/10.1309/35AEPKTAAGUTHQKQ.
[52] Bertelsen CA, Kirkegaard-Klitbo A, Nielsen M, et al. Pattern of colon cancer lymph node metastases in patients undergoing central mesocolic lymph node excision: a systematic review. Dis Colon Rectum 2016;59:1209–21. https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000658.
[53] Chang CY, Lin CC, Lin HH, et al. The negative prognostic impact of lymph node skip metastasis in stage III colon cancer with pN1 disease: a single-center and retrospective cohort study. Dis Colon Rectum 2023;66:E1032–42. https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000002383.
[54] Fidler I. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. Nat Rev Cancer 2003;3:1–6.
[55] van der Geest LGM, Lam-Boer J, Koopman M, et al. Nationwide trends in incidence, treatment and survival of colorectal cancer patients with synchronous metastases. Clin Exp Metastasis 2015;32:457–65. https://doi.org/10.1007/s10585-015-9719-0.
[56] Manfredi S, Bouvier AM, Lepage C, et al. Incidence and patterns of recurrence after resection for cure of colonic cancer in a well defined population. Br J Surg 2006;93:1115–22. https://doi.org/10.1002/bjs.5349.
[57] van Gestel YRBM, de Hingh IHJT, van Herk-Sukel MPP, et al. Patterns of metachronous metastases after curative treatment of colorectal cancer. Cancer Epidemiol 2014;38:448–54. https://doi.org/10.1016/j.canep.2014.04.004.
[58] Segelman J, Granath F, Holm T, et al. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. Br J Surg 2012;99:699–705. https://doi.org/10.1002/bjs.8679.
[59] Nadler A, McCart JA, Govindarajan A. Peritoneal carcinomatosis from colon cancer: a systematic review of the data for cytoreduction and intraperitoneal chemotherapy. Clin Colon Rectal Surg 2015;28:234–46. https://doi.org/10.1055/s-0035-1564431.
[60] Vogel JD, Felder SI, Bhama AR, et al. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Management of Colon Cancer. Dis Colon Rectum 2022;65:148–77. https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000002323.
[61] West NP, Morris EJA, Rotimi O, et al. Pathology grading of colon cancer surgical resection and its association with survival: a retrospective observational study. Lancet Oncol 2008;9:857–65. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70181-5.
[62] Park H, Lee J, Lee SY, et al. Distribution of lymph node metastasis and oncological outcomes of mid-transverse colon cancer: extended versus transverse colectomy. Colorectal Dis 2021;23:2007–13. https://doi.org/10.1111/codi.15659.
[63] Morarasu S, Clancy C, Cronin CT, et al. Segmental versus extended colectomy for tumours of the transverse colon: a systematic review and meta-analysis. Colorectal Dis 2021;23:625–34. https://doi.org/10.1111/codi.15403.
[64] Hajibandeh S, Hajibandeh S, Hussain I, et al. Comparison of extended right hemicolectomy, left hemicolectomy and segmental colectomy for splenic flexure

colon cancer: a systematic review and meta-analysis. Colorectal Dis 2020;22:1885–907. https://doi.org/10.1111/codi.15292.

[65] Manisundaram N, Childers CP, Hu C-Y, et al. Rise in Minimally Invasive Surgery for Colorectal Cancer Is Associated With Adoption of Robotic Surgery. Dis Colon Rectum 2025;68:426–36. https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000003617.

[66] Vilsan J, Maddineni SA, Ahsan N, et al. Open, Laparoscopic, and Robotic Approaches to Treat Colorectal Cancer: A Comprehensive Review of Literature. Cureus 2023. https://doi.org/10.7759/cureus.38956.

[67] Kang D, Li J, Li Y, et al. Prognostic significance of KRAS, NRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in stage II/III colorectal cancer: A retrospective study and meta-analysis. PLoS One 2025;20:e0320783. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0320783.

[68] Li Y, Xiao J, Zhang T, et al. Analysis of KRAS, NRAS, and BRAF Mutations, Microsatellite Instability, and Relevant Prognosis Effects in Patients With Early Colorectal Cancer: A Cohort Study in East Asia. Front Oncol 2022;12:897548. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.897548.

[69] O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. J Natl Cancer Inst 2004;96:1420–5. https://doi.org/10.1093/jnci/djh275.

[70] Des Guetz G, Nicolas P, Perret G-Y, et al. Does delaying adjuvant chemotherapy after curative surgery for colorectal cancer impair survival? A meta-analysis. Eur J Cancer 2010;46:1049–55. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.01.020.

[71] Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. J Clin Oncol 2010;28:3219–26. https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.1825.

[72] Grothey A. Oxaliplatin-safety profile: neurotoxicity. Semin Oncol 2003;30:5–13. https://doi.org/10.1016/S0093-7754(03)00399-3.

[73] Soveri LM, Lamminmäki A, Hänninen UA, et al. Long-term neuropathy and quality of life in colorectal cancer patients treated with oxaliplatin containing adjuvant chemotherapy. Acta Oncol 2019;58:398–406. https://doi.org/10.1080/0284186X.2018.1556804.

[74] Grothey A, Sobrero AF, Shields AF, et al. Duration of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. New England Journal of Medicine 2018;378:1177–88. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713709.

[75] Iveson TJ, Kerr RS, Saunders MP, et al. 3 versus 6 months of adjuvant oxaliplatin-fluoropyrimidine combination therapy for colorectal cancer (SCOT): an international, randomised, phase 3, non-inferiority trial. Lancet Oncol 2018;19:562–78. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30093-7.

[76] Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. Journal of Clinical Oncology 1999;17:1356–63.

[77] Gray R, Barnwell J, McConkey C, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. The Lancet 2007;370:2020–9.

[78] André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer for the Multicenter International Study of Oxaliplatin/5-Fluorouracil/Leucovorin in the Adjuvant

Treatment of Colon Cancer (MOSAIC) Investigators. N Engl J Med 2004;23:2343–51.
[79] O'Connell MJ, Campbell ME, Goldberg RM, et al. Survival following recurrence in stage II and III colon cancer: Findings from the ACCENT data set. Journal of Clinical Oncology 2008;26:2336–41. https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.8261.
[80] Sjövall A, Granath F, Cedermark B, et al. Loco-regional Recurrence from Colon Cancer: A Population-based Study. Ann Surg Oncol 2007;14:432–40. https://doi.org/10.1245/s10434-006-9243-1.
[81] Cervantes A, Adam R, Rosello S, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2023;34:10–32.
[82] Roa I, Meruane M. Desarrollo del aparato digestivo. vol. 30. 2012.
[83] Lee GH, Malietzis G, Askari A, et al. Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? - A systematic review. Eur J Surg Oncol 2015;41:300–8. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.11.001.
[84] Walsh MD, Clendenning M, Williamson E, et al. Expression of MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6 mucins in colorectal cancers and their association with the CpG island methylator phenotype. Mod Pathol 2013;26:1642–56. https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.101.
[85] Rozek LS, Schmit SL, Greenson JK, et al. Tumor-ionfiltrating lymphocytes, Crohn's-like lymphoid reaction, and survival from colorectal cancer. J Natl Cancer Inst 2016;108. https://doi.org/10.1093/jnci/djw027.
[86] Ciepiela I, Szczepaniak M, Ciepiela P, et al. Tumor location matters, next generation sequencing mutation profiling of left-sided, rectal, and right-sided colorectal tumors in 552 patients. Sci Rep 2024;14:4619. https://doi.org/10.1038/s41598-024-55139-w.
[87] Hansen I, Jess P. Possible better long-term survival in left versus right-sided colon cancer - a systematic review. Dan Med J 2012;59:1–6.
[88] Benedix F, Schmidt U, Mroczkowski P, et al. Colon carcinoma - Classification into right and left sided cancer or according to colonic subsite? - Analysis of 29 568 patients. Eur J Surg Oncol 2011;37:134–9. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2010.12.004.
[89] Nakagawa-Senda H, Hori M, Matsuda T, et al. Prognostic impact of tumor location in colon cancer: The Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project. BMC Cancer 2019;19. https://doi.org/10.1186/s12885-019-5644-y.
[90] Weiss JM, Pfau PR, O'Connor ES, et al. Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: Analysis of surveillance, epidemiology, and end results-medicare data. J Clin Oncol 2011;29:4401–9. https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.4414.
[91] Hyngstrom JR, Hu CY, Xing Y, et al. Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: Analysis from the National Cancer Data Base. Ann Surg Oncol 2012;19:2814–21. https://doi.org/10.1245/s10434-012-2321-7.
[92] Hugen N, van de Velde C, de Wilt J, et al. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. Ann Oncol 2014;25:651–7. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.09.008.
[93] Kakar S, Deng G, Smyrk TC, et al. Loss of heterozygosity, aberrant methylation, BRAF mutation and KRAS mutation in colorectal signet ring cell carcinoma. Mod Pathol 2012;25:1040–7. https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.44.

[94] Shi T, Huang M, Han D, et al. Chemotherapy is associated with increased survival from colorectal signet ring cell carcinoma with distant metastasis: A Surveillance, Epidemiology, and End Results database analysis. Cancer Med 2019;8:1930–40. https://doi.org/10.1002/cam4.2054.
[95] Conte B, George B, Overman M, et al. High-grade neuroendocrine colorectal carcinomas: A retrospective study of 100 patients. Clin Colorectal Cancer 2016;15:e1–7. https://doi.org/10.1016/j.clcc.2015.12.007.
[96] Shia J, Tang LH, Weiser MR, et al. Is nonsmall cell type high-grade neuroendocrine carcinoma of the tubular gastrointestinal tract a distinct disease entity? Am J Surg Pathol 2008;32.
[97] Shafqat H, Ali S, Salhab M, et al. Survival of patients with neuroendocrine carcinoma of the colon and rectum: A population-based analysis. Dis Colon Rectum 2015;58:294–303. https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000298.
[98] Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, et al. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. Acta Oncol 2010;49:57–62. https://doi.org/10.3109/02841860903334411.
[99] Desolneux G, Burtin P, Lermite E, et al. Prognostic factors in node-negative colorectal cancer: A retrospective study from a prospective database. Int J Colorectal Dis 2010;25:829–34. https://doi.org/10.1007/s00384-010-0934-5.
[100] Lord AC, D'Souza N, Pucher PH, et al. Significance of extranodal tumour deposits in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Eur J Cancer 2017;82:92–102.
[101] Lord A, Brown G, Abulafi M, et al. Histopathological diagnosis of tumour deposits in colorectal cancer: a Delphi consensus study. Histopathology 2021;79:168–75. https://doi.org/10.1111/his.14344.
[102] Washington MK, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. Arch Pathol Lab Med 2009;133:1539–51. https://doi.org/10.5858/133.10.1539.
[103] Quah HM, Chou JF, Gonen M, et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. Dis Colon Rectum 2008;51:503–7. https://doi.org/10.1007/s10350-008-9246-z.
[104] Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: Prognostic significance and quality of pathology reporting. Cancer 2012;118:628–38. https://doi.org/10.1002/cncr.26310.
[105] Ishii M, Ota M, Saito S, et al. Lymphatic vessel invasion detected by monoclonal antibody D2-40 as a predictor of lymph node metastasis in T1 colorectal cancer. Int J Colorectal Dis 2009;24:1069–74. https://doi.org/10.1007/s00384-009-0699-x.
[106] Bosch S, Teerenstra S, De Wilt JW, et al. Predicting lymph node metastasis in pT1 colorectal cancer: A systematic review of risk factors providing rationale for therapy decisions. Endoscopy 2013;45:827–34. https://doi.org/10.1055/s-0033-1344238.
[107] Leijssen LGJ, Dinaux AM, Amri R, et al. Impact of intramural and extramural vascular invasion on stage II-III colon cancer outcomes. J Surg Oncol 2019;119:749–57. https://doi.org/10.1002/jso.25367.
[108] Yuan H, Dong Q, An Zheng B', et al. Lymphovascular invasion is a high risk factor for stage I/II colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget 2017;8:46565–79.

[109] Liebig C, Ayala G, Wilks JA, et al. Perineural invasion in cancer: A review of the literature. Cancer 2009;115:3379–91. https://doi.org/10.1002/cncr.24396.
[110] Knijn N, Mogk SC, Teerenstra S, et al. Perineural Invasion Is a Strong Prognostic Factor in Colorectal Cancer A Systematic Review. Am J Surg Pathol 2016;40:103–12.
[111] Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. Modern Pathol 2017;30:1299–311. https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.46.
[112] Zlobec I, Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: Tumor budding as oncotarget. Oncotarget 2010;1:651–61.
[113] Rogers AC, Winter DC, Heeney A, et al. Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. Br J Cancer 2016;115:831–40. https://doi.org/10.1038/bjc.2016.274.
[114] Betge J, Kornprat P, Pollheimer MJ, et al. Tumor budding is an independent predictor of outcome in AJCC/UICC stage II colorectal cancer. Ann Surg Oncol 2012;19:3706–12. https://doi.org/10.1245/s10434-012-2426-z.
[115] Grady WM, Carethers JM. Genomic and Epigenetic Instability in Colorectal Cancer Pathogenesis. Gastroenterology 2008;135:1079–99. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.07.076.
[116] Stjepanovic N, Moreira L, Carneiro F, et al. Hereditary gastrointestinal cancers: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Ann Oncol 2019;30:1558–71. https://doi.org/10.1093/annonc/mdz233.
[117] French AJ, Sargent DJ, Burgart LJ, et al. Prognostic significance of defective mismatch repair and BRAF V600E in patients with colon cancer. Clin Cancer Res 2008;14:3408–15. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1489.
[118] Ward R, Meagher A, Tomlinson I, et al. Microsatellite instability and the clinicopathological features of sporadic colorectal cancer. Gut 2001;48:821–9. https://doi.org/10.1136/gut.48.6.821.
[119] Raut CP, Pawlik TM, Rodriguez-Bigas MA. Clinicopathologic features in colorectal cancer patients with microsatellite instability. Mutat Res 2004;568:275–82. https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.05.025.
[120] Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 2005;23:609–18. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.01.086.
[121] Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, et al. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: A meta-analysis of colorectal cancer survival data. Eur J Cancer 2010;46:2788–98. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.05.009.
[122] Taieb J, Shi Q, Pederson L, et al. Prognosis of microsatellite instability and/or mismatch repair deficiency stage III colon cancer patients after disease recurrence following adjuvant treatment: results of an ACCENT pooled analysis of seven studies. Ann Oncol 2019;30:1466–71. https://doi.org/10.1093/annonc/mdz208.
[123] Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence. Nat Rev Clin Oncol 2010;7:153–62. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.237.

[124] Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2003;349:247–57. https://doi.org/10.1056/NEJMoa022289.
[125] Battaglin F, Naseem M, Lenz H-J, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: overview of its clinical significance and novel perspectives. Clin Adv Hematol Oncol 2018;16:735–45.
[126] de Vos tot Nederveen Cappel WH, Meulenbeld HJ, Kleibeuker JH, et al. Survival after adjuvant 5-FU treatment for stage III colon cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Int J Cancer 2004;109:468–71. https://doi.org/10.1002/ijc.11712.
[127] André T, Shiu K-K, Kim TW, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability–High Advanced Colorectal Cancer. N Engl J Med 2020;383:2207–18. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2017699.
[128] Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. Lancet 2018;391:2128–39. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30789-X.
[129] Tougeron D, Fauquembergue E, Rouquette A, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancers with microsatellite instability are correlated with the number and spectrum of frameshift mutations. Mod Pathol 2009;22:1186–95. https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.80.
[130] Deschoolmeester V, Baay M, Marck E Van, et al. Tumor infiltrating lymphocytes: an intriguing player in the survival of colorectal cancer patients. BMC Immunol 2010;11:19.
[131] Heald RJ, Husband EM, Ryall DH. The mesorectum in rectal cancer surgery - the clue to pelvic recurrence? Br J Surg 1982;69:613–6.
[132] Hohenberger W, Weber K, Matzel K, et al. Standardized suergery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation - technical notes and outcome. Colorectal Dis 2009;11:354–64.
[133] Bertelsen CA, Neuenschwander AU, Jansen JE, et al. Disease-free survival after complete mesocolic excision compared with conventional colon cancer surgery: a retrospective, population-based study. Lancet Oncol 2015;16:161–8. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71168-4.
[134] Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of Intergroup Trial INT-0089. J Clin Oncol 2003;21:2912–9. https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.062.
[135] Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, et al. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. Ann Surg Oncol 2003;10:65–71. https://doi.org/10.1245/ASO.2003.03.058.
[136] Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, et al. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. J Natl Cancer Inst 2007;99:433–41. https://doi.org/10.1093/jnci/djk092.
[137] Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York: Springer; 2017.
[138] Lee CHA, Wilkins S, Oliva K, et al. Role of lymph node yield and lymph node ratio in predicting outcomes in non-metastatic colorectal cancer. BJS Open 2019;3:95–105. https://doi.org/10.1002/bjs5.96.

[139] van Erning FN, Crolla RMPH, Rutten HJT, et al. No change in lymph node positivity rate despite increased lymph node yield and improved survival in colon cancer. Eur J Cancer 2014;50:3221–9. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.10.011.
[140] Parsons HM, Tuttle TM, Kuntz KM, et al. Association between lymph node evaluation for colon cancer and node positivity over the past 20 years. JAMA 2011;306:1089. https://doi.org/10.1001/jama.2011.1285.
[141] Chen SL, Bilchik AJ. More extensive nodal dissection improves survival for stages I to III of colon cancer: a population-based study. Ann Surg 2006;244:602–10. https://doi.org/10.1097/01.sla.0000237655.11717.50.
[142] Märkl B, Schaller T, Kokot Y, et al. Lymph node size as a simple prognostic factor in node negative colon cancer and an alternative thesis to stage migration. Am J Surg 2016;212:775–80. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2015.05.026.
[143] Tsai H-L, Chen Y-T, Yeh Y-S, et al. Apical Lymph Nodes in the Distant Metastases and Prognosis of Patients with Stage III Colorectal Cancer with Adequate Lymph Node Retrieval Following FOLFOX Adjuvant Chemotherapy. Pathol Oncol Res 2019;25:905–13. https://doi.org/10.1007/s12253-017-0381-5.
[144] Wang LM, Hirano YM, Ishii TM, et al. The role of apical lymph node metastasis in right colon cancer. Int J Colorectal Dis 2020;35:1887–94. https://doi.org/10.1007/s00384-020-03661-4.
[145] Wang L, Hirano Y, Heng G, et al. Prognostic utility of apical lymph node metastasis in patients with left-sided colorectal cancer. In Vivo (Brooklyn) 2020;34:2981–9. https://doi.org/10.21873/invivo.12129.
[146] Yi J-W, Lee T-G, Lee H-S, et al. Apical-node metastasis in sigmoid colon or rectal cancer: is it a factor that indicates a poor prognosis after high ligation? Int J Colorectal Dis 2012;27:81–7. https://doi.org/10.1007/s00384-011-1271-z.
[147] Huh J, Kim Y, Kim H. Distribution of lymph node metastases is an independent predictor of survival for sigmoid colon and rectal cancer. Ann Surg 2012;255:70–8. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31823785f6.
[148] Karachun A, Panaiotti L, Chernikovskiy I, et al. Short-term outcomes of a multicentre randomized clinical trial comparing D2 versus D3 lymph node dissection for colonic cancer (COLD trial). Br J Surg 2020;107:499–508. https://doi.org/10.1002/bjs.11387.
[149] Xu L, Su X, He Z, et al. Short-term outcomes of complete mesocolic excision versus D2 dissection in patients undergoing laparoscopic colectomy for right colon cancer (RELARC): a randomised, controlled, phase 3, superiority trial. Lancet Oncol 2021;22:391–401. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30685-9.
[150] Lu J, Xing J, Zang L, et al. Extent of lymphadenectomy for surgical management of right-sided colon cancer: the randomized phase III RELARC Trial. J Clin Oncol 2024;42:3957–66. https://doi.org/10.1200/JCO.24.00393.
[151] Scott N, Jamali A, Verbeke C, et al. Retroperitoneal margin involvement by adenocarcinoma of the caecum and ascending colon: What does it mean? Colorectal Dis 2008;10:289–93. https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2007.01365.x.
[152] Amri R, Bordeianou LG, Sylla P, et al. Association of radial margin positivity with colon cancer. JAMA Surg 2015;150:890–8. https://doi.org/10.1001/jamasurg.2015.1525.
[153] Smith HG, Chiranth D, Mortensen CE, et al. The significance of subdivisions of microscopically positive (R1) margins in colorectal cancer: A retrospective study

of a national cancer registry. Colorectal Dis 2022;24:197–209. https://doi.org/10.1111/codi.15971.
[154] Healy MA, Peacock O, Hu C-Y, et al. High rate of positive circumferential resection margin in colon cancer. Ann Surg 2022;276:1023–8. https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000004682.
[155] Goffredo P, Zhou P, Ginader T, et al. Positive circumferential resection margins following locally advanced colon cancer surgery: Risk factors and survival impact. J Surg Oncol 2020;121:538–46. https://doi.org/10.1002/jso.25801.
[156] Warps AK, Tollenaar RAEM, Tanis PJ, et al. Postoperative complications after colorectal cancer surgery and the association with long-term survival. Eur J Surg Oncol 2022;48:873–82. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2021.10.035.
[157] Bashir Mohamed K, Hansen CH, Krarup P-M, et al. The impact of anastomotic leakage on recurrence and long-term survival in patients with colonic cancer: A systematic review and meta-analysis. Eur J Surg Oncol 2020;46:439–47. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejso.2019.10.038.
[158] Marinello FG, Baguena G, Lucas E, et al. Anastomotic leakage after colon cancer resection: does the individual surgeon matter? Colorectal Dis 2016;18:562–9. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/codi.13212.
[159] Kube R, Mroczkowski P, Granowski D, et al. Anastomotic leakage after colon cancer surgery: A predictor of significant morbidity and hospital mortality, and diminished tumour-free survival. Eur J Surg Oncol 2010;36:120–4. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejso.2009.08.011.
[160] Bakker IS, Grossmann I, Henneman D, et al. Risk factors for anastomotic leakage and leak-related mortality after colonic cancer surgery in a nationwide audit. Br J Surg 2014;101:424–32. https://doi.org/10.1002/bjs.9395.
[161] He J, He M, Tang J-H, et al. Anastomotic leak risk factors following colon cancer resection: a systematic review and meta-analysis. Langenbecks Arch Surg 2023;408:252. https://doi.org/10.1007/s00423-023-02989-z.
[162] Krarup P-M, Nordholm-Carstensen A, Jorgensen LN, et al. Anastomotic leak increases distant recurrence and long-term mortality after curative resection for colonic cancer. Ann Surg 2014;259:930–8. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182a6f2fc.
[163] Kube R, Mroczkowski P, Granowski D, et al. Anastomotic leakage after colon cancer surgery: A predictor of significant morbidity and hospital mortality, and diminished tumour-free survival. Eur J Surg Oncol 2010;36:120–4.
[164] Law WL, Choi HK, Lee YM, et al. Anastomotic leakage is associated with poor long-term outcome in patients after curative colorectal resection for malignancy. J Gastrointest Surg 2007;11:8–15. https://doi.org/10.1007/s11605-006-0049-z.
[165] Koedam TWA, Bootsma BT, Deijen CL, et al. Oncological outcomes after anastomotic leakage after surgery for colon or rectal cancer. Ann Surg 2022;275:e420–7. https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000003889.
[166] Mirnezami A, Mirnezami R, Chandrakumaran K, et al. Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: Systematic review and meta-analysis. Ann Surg 2011;253:890–9. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182128929.
[167] Walker KG, Bell SW, Rickard MJFX, et al. Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer. Ann Surg 2004;240:255–9. https://doi.org/10.1097/01.sla.0000133186.81222.08.

[168] Nachiappan S, Askari A, Malietzis G, et al. The Impact of Anastomotic Leak and Its Treatment on Cancer Recurrence and Survival Following Elective Colorectal Cancer Resection. World J Surg 2015;39:1. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00268-014-2887-2.
[169] Merkel S, Wang WY, Schmidt O, et al. Locoregional recurrence in patients with anastomotic leakage after anterior resection for rectal carcinoma. Colorectal Dis 2001;3:154–60. https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1463-1318.2001.00232.x.
[170] Umpleby HC, Fermor B, Symes MO, et al. Viability of exfoliated colorectal carcinoma cells. J Br Surg 1984;71:659–63. https://doi.org/10.1002/bjs.1800710902.
[171] Helliwell JA, Jayne DG. Gut microbiota modulation: the key to improving outcomes after colorectal cancer surgery? J Gastrointest Oncol 2024;15:1993–5. https://doi.org/10.21037/jgo-24-289.
[172] Alonso S, Pascual M, Salvans S, et al. Postoperative intra-abdominal infection and colorectal cancer recurrence: A prospective matched cohort study of inflammatory and angiogenic responses as mechanisms involved in this association. Eur J Surg Oncol 2015;41:208–14. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.10.052.
[173] Alonso S, Mayol X, Nonell L, et al. Peripheral blood leucocytes show differential expression of tumour progression-related genes in colorectal cancer patients who have a postoperative intra-abdominal infection: a prospective matched cohort study. Colorectal Dis 2017;19:O115–25. https://doi.org/10.1111/codi.13635.
[174] Bohle B, Pera M, Pascual M, et al. Postoperative intra-abdominal infection increases angiogenesis and tumor recurrence after surgical excision of colon cancer in mice. Surgery 2010;147:120–6. https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.06.035.
[175] Salvans S, Mayol X, Alonso S, et al. Postoperative peritoneal infection enhances migration and invasion capacities of tumor cells in vitro: An insight into the association between anastomotic leak and recurrence after surgery for colorectal cancer. Ann Surg, vol. 260, Lippincott Williams and Wilkins; 2014, p. 939–44. https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000958.
[176] Geudens I, Gerhardt O. Coordinating cell behaviour during blood vessel formation. Development 2011;138:4569–83. https://doi.org/10.1242/dev.062323.
[177] Eilken HM, Adams RH. Dynamics of endothelial cell behavior in sprouting angiogenesis. Curr Opin Cell Biol 2010;22:617–25. https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.08.010.
[178] Hughes CCW. Endothelial-stromal interactions in angiogenesis. Curr Opin Hematol 2008;15:204–9. https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e3282f97dbc.
[179] Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. Nature 2005;438:932–6. https://doi.org/10.1038/nature04478.
[180] Xie Z, Niu L, Du K, et al. Endothelial cell heterogeneity in colorectal cancer: tip cells drive angiogenesis. Cell Mol Life Sci 2024;81:365. https://doi.org/10.1007/s00018-024-05411-z.
[181] Carmeliet P, De Smet F, Loges S, et al. Branching morphogenesis and antiangiogenesis candidates: tip cells lead the way. Nat Rev Clin Oncol 2009;6:315–26. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.64.

[182] Schwartz SM, Benditt EP. Aortic endothelial cell replication. I. Effects of age and hypertension in the rat. Circ Res 1977;41:248–55. https://doi.org/10.1161/01.res.41.2.248.
[183] Barrasa-Ramos S, Dessalles CA, Hautefeuille M, et al. Mechanical regulation of the early stages of angiogenesis. J R Soc Interface 2022;19:20220360. https://doi.org/10.1098/rsif.2022.0360.
[184] Hellström M, Phng L-K, Gerhardt H. VEGF and Notch signaling: the yin and yang of angiogenic sprouting. Cell Adh Migr 2007;1:133–6. https://doi.org/10.4161/cam.1.3.4978.
[185] Coumailleau F, Fürthauer M, Knoblich JA, et al. Directional Delta and Notch trafficking in Sara endosomes during asymmetric cell division. Nature 2009;458:1051–5. https://doi.org/10.1038/nature07854.
[186] Giannotta M, Trani M, Dejana E. VE-cadherin and endothelial adherens junctions: active guardians of vascular integrity. Dev Cell 2013;26:441–54. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.08.020.
[187] Germain S, Monnot C, Muller L, et al. Hypoxia-driven angiogenesis: role of tip cells and extracellular matrix scaffolding. Curr Opin Hematol 2010;17:245–51. https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e32833865b9.
[188] Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ. Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. Am J Hematol 2010;85:593–8. https://doi.org/10.1002/ajh.21745.
[189] Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plast Reconstr Surg 2006;117:12S-34S. https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2.
[190] Olczyk P, Mencner Ł, Komosinska-Vassev K. The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. Biomed Res Int 2014;2014. https://doi.org/10.1155/2014/747584.
[191] Wu YS, Chen SN. Apoptotic cell: Linkage of inflammation and wound healing. Front Pharmacol 2014;5 JAN. https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00001.
[192] Yang HS, Shin J, Bhang SH, et al. Enhanced skin wound healing by a sustained release of growth factors contained in platelet-rich plasma. Exp Mol Med 2011;43:622–9. https://doi.org/10.3858/emm.2011.43.11.070.
[193] Bevilacqua MP, Pober JS, Wheeler ME, et al. Interleukin I Acts on Cultured Human Vascular Endothelium to Increase the Adhesion of Polymorphonuclear Leukocytes, Monocytes, and Related Leukocyte Cell Lines. J Clin Invest 1985;76:2003–11.
[194] Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: Angiogenic growth factors and the extracellular matrix. Microsc Res Tech 2003;60:107–14. https://doi.org/10.1002/jemt.10249.
[195] Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Mediates Angiogenic Activity during the Proliferative Phase of Wound Healing. Am J Pathol 1998;152.
[196] Apte R, Chen D, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development Rajendra. Cell 2019;176:1248–64. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.021.VEGF.
[197] Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. Nat Rev Drug Discov 2016;15:385–403. https://doi.org/10.1038/nrd.2015.17.

[198] Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell. Nat Rev Cancer 2013;13:871–82. https://doi.org/10.1038/nrc3627.
[199] Leung D, Cachianes G, Kuang W, et al. Vascular Endothelial Growth Factor is a Secreted Angiogenic Mitogen. Science (1979) 1989;246:1306–9.
[200] Karaman S, Leppänen VM, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor signaling in development and disease. Development 2018;145. https://doi.org/10.1242/dev.151019.
[201] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: Physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. J Biochem 2013;153:13–9. https://doi.org/10.1093/jb/mvs136.
[202] Ferrara N, Gerber H, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Nature Med 2003;9:669–76.
[203] Ferrara N. Binding to the Extracellular Matrix and Proteolytic Processing: Two Key Mechanisms Regulating Vascular Endothelial Growth Factor Action. Mol Biol Cell 2010;21:687–90. https://doi.org/10.1091/mbc.E09.
[204] Alitalo K, Tammela T, Petrova T V. Lymphangiogenesis in development and human disease. Nature 2005;438:946–53. https://doi.org/10.1038/nature04480.
[205] Pérez-Gutiérrez L, Ferrara N. Biology and therapeutic targeting of vascular endothelial growth factor A. Nat Rev Mol Cell Biol 2023;24:816–34. https://doi.org/10.1038/s41580-023-00631-w.
[206] Gerber H-P, McMurtrey A, Kowalski J, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Regulates Endothelial Cell Survival through the Phosphatidylinositol 3′-Kinase/Akt Signal Transduction Pathway. J Biol Chem 1998;273:30336–43. https://doi.org/10.1074/jbc.273.46.30336.
[207] Takahashi T, Ueno H, Shibuya M. VEGF activates protein kinase C-dependent, but Ras-independent Raf-MEK-MAP kinase pathway for DNA synthesis in primary endothelial cells. Oncogene 1999;18:2221–30. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202527.
[208] Xia P, Aiello LP, Ishii H, et al. Characterization of vascular endothelial growth factor's effect on the activation of protein kinase C, its isoforms, and endothelial cell growth. J Clin Invest 1996;98:2018–26. https://doi.org/10.1172/JCI119006.
[209] Le Boeuf F, Houle F, Huot J. Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2-mediated Phosphorylation of Focal Adhesion Kinase by Heat Shock Protein 90 and Src Kinase Activities. J Biol Chem 2004;279:39175–85. https://doi.org/10.1074/jbc.M405493200.
[210] Hoffman L, Jensen CC, Yoshigi M, et al. Mechanical signals activate p38 MAPK pathway-dependent reinforcement of actin via mechanosensitive HspB1. Mol Biol Cell 2017;28:2661–75. https://doi.org/10.1091/mbc.e17-02-0087.
[211] Lee C, Kim MJ, Kumar A, et al. Vascular endothelial growth factor signaling in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic perspectives. Signal Transduct Target Ther 2025;10. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02249-0.
[212] Dudley AC, Griffioen AW. Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies. Angiogenesis 2023;26:313–47. https://doi.org/10.1007/s10456-023-09876-7.
[213] Yoo SY, Kwon SM. Angiogenesis and its therapeutic opportunities. Mediators Inflamm 2013;2013:127170. https://doi.org/10.1155/2013/127170.
[214] Skobe M, Rockwell P, Goldstein N, et al. Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion. Nat Med 1997;3:1222–7.

[215] Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. Sci Am 1996;275:150–4.
[216] Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. Angiogenesis 2017;20:409–26. https://doi.org/10.1007/s10456-017-9562-9.
[217] Werther K, Christensen IJ, Nielsen HJ. The Association Between Preoperative Concentration of Soluble Vascular Endothelial Growth Factor, Perioperative Blood Transfusion, and Survival in Patients with Primary Colorectal Cancer. Eur J Surg 2001;167:287–92.
[218] Salven P, Orpana A, Joensuu H. Leukocytes and Platelets of Patients with Cancer Contain High Levels of Vascular Endothelial Growth Factor. Clin Cancer Res 1999;5:487–91.
[219] Kumar H, Heer K, Lee PWR, et al. Preoperative Serum Vascular Endothelial Growth Factor Can Predict Stage in Colorectal Cancer'. Clin Cancer Res 1998;4:1279–85.
[220] Cubo T, Padilla D, de la Osa G, et al. Valores séricos de factor de crecimiento del endotelio vascular en pacientes con cáncer colorrectal y su significación pronóstica. Med Clin (Barc) 2004;122:201–4. https://doi.org/10.1016/s0025-7753(04)74197-4.
[221] Mohammed RAA, Green A, El-Shikh S, et al. Prognostic significance of vascular endothelial cell growth factors -A, -C and -D in breast cancer and their relationship with angio- and lymphangiogenesis. Br J Cancer 2007;96:1092–100. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603678.
[222] Manders P, Beex LVAM, Tjan-Heijnen VCG, et al. The prognostic value of vascular endothelial growth factor in 574 node-negative breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic therapy. Br J Cancer 2002;87:772–8. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600555.
[223] Donnem T, Andersen S, Al-Saad S, et al. Prognostic impact of angiogenic markers in non-small-cell lung cancer is related to tumor size. Clin Lung Cancer 2011;12:106–15. https://doi.org/10.1016/j.cllc.2011.03.005.
[224] Zhan P, Ji YN, Yu LK. VEGF is associated with the poor survival of patients with prostate cancer: A meta-analysis. Transl Androl Urol 2013;2:99–105. https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2013.06.03.
[225] Lee J-C, Chow N-H, Wang S-T, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in colorectal cancer patients. Eur J Cancer 2000;36:748–53.
[226] Cascinu S, Staccioli MP, Gasparini G, et al. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Can Predict Event-free Survival in Stage II Colon Cancer. Clin Cancer Res 2000;6:2803–7.
[227] Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. Br J Cancer 2006;94:1823–32. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603176.
[228] Wang Y, Yao X, Ge J, et al. Can vascular endothelial growth factor and microvessel density be used as prognostic biomarkers for colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis. Sci World J 2014. https://doi.org/10.1155/2014/102736.
[229] Lin C-L, Zhu G-W, Huang Y-J, et al. The prognostic significance of vascular endothelial growth factor-D expression in colorectal cancer: a meta-analysis. Int J Clin Exp Med 2019;12:11953–63.

[230] Pera M, Nelson H, Rajkumar SV, et al. Influence of Postoperative Acute-Phase Response on Angiogenesis and Tumor Growth: Open vs. Laparoscopic-Assisted Surgery in Mice. J Gastrointest Surg 2003;7:783–90. https://doi.org/10.1016/S.
[231] Pascual M, Alonso S, Salvans S, et al. Postoperative serum Vascular Endothelial Growth Factor is an independent prognostic factor of disease free survival and overall survival in patients with non metastatic colon cancer. Am J Surg 2017;216:255–9. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2017.06.037.
[232] Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. N Engl J Med 2004;350:2335–42. https://doi.org/10.1056/NEJMoa032691.
[233] Wu J, Tang Y, Liang X. Targeting VEGF pathway to normalize the vasculature: an emerging insight in cancer therapy. Onco Targets Ther 2018;Volume 11:6901–9. https://doi.org/10.2147/OTT.S172042.
[234] Holash J, Davis S, Papadopoulos N, et al. VEGF-Trap: A VEGF blocker with potent antitumor effects. Proc Natl Acad Sci 2002;99:11393–8. https://doi.org/10.1073/pnas.172398299.
[235] Wadhwa R, Taketa T, Sudo K, et al. Ramucirumab: a novel antiangiogenic agent. Future Oncol 2013;9:789–95. https://doi.org/10.2217/fon.13.68.
[236] Fusco MJ, Casak SJ, Mushti SL, et al. FDA approval summary: fruquintinib for the treatment of refractory metastatic colorectal cancer. Clin Cancer Res 2024;30:3100–4. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-24-0281.
[237] R&D Systems. Proteome Profiler Human Angiogenesis Array Kit, Catalog No. ARY007 2024.
[238] Bansal A, Singh A, Nag TC, et al. Augmenting the angiogenic profile and functionality of cord blood endothelial colony-forming cells by indirect priming with bone-marrow-derived mesenchymal stromal cells. Biomedicines 2023;11. https://doi.org/10.3390/biomedicines11051372.
[239] Hamada K, Oike Y, Takakura N, et al. VEGF-C signaling pathways through VEGFR-2 and VEGFR-3 in vasculoangiogenesis and hematopoiesis. Blood 2000;96:3793–800.
[240] Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, et al. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. EMBO J 2001;20:672–82. https://doi.org/10.1093/emboj/20.4.672.
[241] Kawakami M, Yanai Y, Hata F, et al. Vascular endothelial growth factor C promotes lymph node metastasis in a rectal cancer orthotopic model. Surg Today 2005;35:131–8. https://doi.org/10.1007/s00595-004-2896-0.
[242] Poghosyan S, Frenkel N, van den Bent L, et al. VEGF-C propagates “onward” colorectal cancer metastasis from liver to lung. Br J Cancer 2025;132:69–80. https://doi.org/10.1038/s41416-024-02892-4.
[243] Nassiri F, Cusimano MD, Scheithauer BW, et al. Endoglin (CD105): a review of its role in angiogenesis and tumor diagnosis, progression and therapy. Anticancer Res 2011;31:2283–90.
[244] Martins SF, Reis RM, Rodrigues AM, et al. Role of endoglin and VEGF family expression in colorectal cancer prognosis and anti-angiogenic therapies. World J Clin Oncol 2011;2:272–80. https://doi.org/10.5306/wjco.v2.i6.272.
[245] Mortier A, Gouwy M, Van Damme J, et al. CD26/dipeptidylpeptidase IV-chemokine interactions: double-edged regulation of inflammation and tumor biology. J Leukoc Biol 2016;99:955–69. https://doi.org/10.1189/jlb.3MR0915-401R.

[246] Krady MM, Zeng J, Yu J, et al. Thrombospondin-2 modulates extracellular matrix remodeling during physiological angiogenesis. Am J Pathol 2008;173:879–91. https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.080128.
[247] Lawler PR, Lawler J. Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and -2. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a006627. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006627.
[248] Zhang M, Volpert O, Shi YH, et al. Maspin is an angiogenesis inhibitor. Nat Med 2000;6:196–9. https://doi.org/10.1038/72303.
[249] Berardi R, Morgese F, Onofri A, et al. Role of maspin in cancer. Clin Transl Med 2013;2:8. https://doi.org/10.1186/2001-1326-2-8.
[250] Lee N V, Sato M, Annis DS, et al. ADAMTS1 mediates the release of antiangiogenic polypeptides from TSP1 and 2. EMBO J 2006;25:5270–83. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601400.
[251] Iruela-Arispe ML, Carpizo D, Luque A. ADAMTS1: a matrix metalloprotease with angioinhibitory properties. Ann N Y Acad Sci 2003;995:183–90. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb03221.x.
[252] Wang B, Chen S, Zhao J-Q, et al. ADAMTS-1 inhibits angiogenesis via the PI3K/Akt-eNOS-VEGF pathway in lung cancer cells. Transl Cancer Res 2019;8:2725–35. https://doi.org/10.21037/tcr.2019.10.34.
[253] Eubank TD, Roda JM, Liu H, et al. Opposing roles for HIF-1α and HIF-2α in the regulation of angiogenesis by mononuclear phagocytes. Blood 2011;117:323–32. https://doi.org/10.1182/blood-2010-01-261792.
[254] Roda JM, Sumner LA, Evans R, et al. Hypoxia-Inducible Factor-2α Regulates GM-CSF–Derived Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 Production from Macrophages and Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis. J Immunol 2011;187:1970–6. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100841.
[255] Eubank TD, Roberts RD, Khan M, et al. Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor Inhibits Breast Cancer Growth and Metastasis by Invoking an Anti-Angiogenic Program in Tumor-Educated Macrophages. Cancer Res 2009;69:2133–40. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1405.
[256] Eubank TD, Roberts R, Galloway M, et al. GM-CSF Induces Expression of Soluble VEGF Receptor-1 from Human Monocytes and Inhibits Angiogenesis in Mice. Immunity 2004;21:831–42. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.10.011.
[257] Jiang X, Wang J, Deng X, et al. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. J Exp Clin Cancer Res 2020;39:204. https://doi.org/10.1186/s13046-020-01709-5.
[258] Xie Y, Su N, Yang J, et al. FGF/FGFR signaling in health and disease. Signal Transduct Target Ther 2020;5:181. https://doi.org/10.1038/s41392-020-00222-7.
[259] Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, et al. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis. J Cell Biol 1998;141:1659–73. https://doi.org/10.1083/jcb.141.7.1659.
[260] Korc M, Friesel RE. The role of fibroblast growth factors in tumor growth. Curr Cancer Drug Targets 2009;9:639–51. https://doi.org/10.2174/156800909789057006.
[261] Niu J, Chang Z, Peng B, et al. Keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7-regulated cell migration and invasion through activation of NF-kappaB transcription factors. J Biol Chem 2007;282:6001–11. https://doi.org/10.1074/jbc.M606878200.

[262] Jia M, Xie M, Luo X, et al. Cancer-associated fibroblast-derived FGF7 promotes clear cell renal cell carcinoma progression and macrophage infiltration. Cells 2024;13. https://doi.org/10.3390/cells13221824.
[263] Ding S, Merkulova-Rainon T, Han ZC, et al. HGF receptor up-regulation contributes to the angiogenic phenotype of human endothelial cells and promotes angiogenesis in vitro. Blood 2003;101:4816–22. https://doi.org/10.1182/blood-2002-06-1731.
[264] Jeon H-M, Lee J. MET: roles in epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness. Ann Transl Med 2017;5:5. https://doi.org/10.21037/atm.2016.12.67.
[265] Sasaki T, Hiroki K, Yamashita Y. The role of epidermal growth factor receptor in cancer metastasis and microenvironment. Biomed Res Int 2013;2013:546318. https://doi.org/10.1155/2013/546318.
[266] Meyiah A, Khan FI, Alfaki DA, et al. The colorectal cancer microenvironment: Preclinical progress in identifying targets for cancer therapy. Transl Oncol 2025;53:102307. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2025.102307.
[267] Libby JR, Royce H, Walker SR, et al. The role of extracellular matrix in angiogenesis: Beyond adhesion and structure. Biomat Biosyst 2024;15:100097. https://doi.org/10.1016/j.bbiosy.2024.100097.
[268] Mahmood N, Mihalcioiu C, Rabbani SA. Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (uPA) and Its Receptor (uPAR): Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications. Front Oncol 2018;8:24. https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00024.
[269] Choong PFM, Nadesapillai APW. Urokinase plasminogen activator system: a multifunctional role in tumor progression and metastasis. Clin Orthop Relat Res 2003:S46-58. https://doi.org/10.1097/01.blo.0000093845.72468.bd.
[270] Miyake M, Goodison S, Lawton A, et al. Angiogenin promotes tumoral growth and angiogenesis by regulating matrix metallopeptidase-2 expression via the ERK1/2 pathway. Oncogene 2015;34:890–901. https://doi.org/10.1038/onc.2014.2.
[271] Weng C, Dong H, Bai R, et al. Angiogenin promotes angiogenesis via the endonucleolytic decay of miR-141 in colorectal cancer. Mol Ther Nucleic Acids 2022;27:1010–22. https://doi.org/10.1016/j.omtn.2022.01.017.
[272] Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. Biochim Biophys Acta 2010;1803:55–71. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.01.003.
[273] Kwee BJ, Mooney DJ. Manipulating the intersection of angiogenesis and inflammation. Ann Biomed Eng 2015;43:628–40. https://doi.org/10.1007/s10439-014-1145-y.
[274] Mantsounga CS, Lee C, Neverson J, et al. Macrophage IL-1β promotes arteriogenesis by autocrine STAT3- and NF-κB-mediated transcription of pro-angiogenic VEGF-A. Cell Rep 2022;38:110309. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110309.
[275] Yang F, Lee G, Fan Y. Navigating tumor angiogenesis: therapeutic perspectives and myeloid cell regulation mechanism. Angiogenesis 2024;27:333–49. https://doi.org/10.1007/s10456-024-09913-z.
[276] Reiman JM, Kmieciak M, Manjili MH, et al. Tumor immunoediting and immunosculpting pathways to cancer progression. Semin Cancer Biol 2007;17:275–87. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2007.06.009.

[277] Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, et al. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. Science 1992;258:1798–801. https://doi.org/10.1126/science.1281554.
[278] Li A, Dubey S, Varney ML, et al. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. J Immunol 2003;170:3369–76. https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.6.3369.
[279] Huang D, Ding Y, Zhou M, et al. Interleukin-8 mediates resistance to antiangiogenic agent sunitinib in renal cell carcinoma. Cancer Res 2010;70:1063–71. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3965.
[280] Netti GS, Lucarelli G, Spadaccino F, et al. PTX3 modulates the immunoflogosis in tumor microenvironment and is a prognostic factor for patients with clear cell renal cell carcinoma. Aging 2020;12:7585–602. https://doi.org/10.18632/aging.103169.
[281] Bottazzi B, Inforzato A, Messa M, et al. The pentraxins PTX3 and SAP in innate immunity, regulation of inflammation and tissue remodelling. J Hepatol 2016;64:1416–27. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.029.
[282] Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: A new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. Ann Surg 2004;240:205–13. https://doi.org/10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae.
[283] R&D Systems. Quantikine ELISA Human VEGF Immunoassay, Catalog No. DVE00 2019.
[284] Seligmann JF. Colorectal cancer staging-time for a re-think on TNM? Br J Surg 2025;112. https://doi.org/10.1093/bjs/znaf047.
[285] Cardoso R, Guo F, Heisser T, et al. Overall and stage-specific survival of patients with screen-detected colorectal cancer in European countries: A population-based study in 9 countries. Lancet Reg Health-Eu 2022;21:100458. https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2022.100458.
[286] Werther K, Christensen IJ, Brünner N, et al. Soluble vascular endothelial growth factor levels in patients with primary colorectal carcinoma. Eur J Surg Oncol 2000;26:657–62. https://doi.org/10.1053/ejso.2000.0977.
[287] Van Cutsem EJD, Oliveira J. Colon cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. Ann Oncol 2008;19. https://doi.org/10.1093/annonc/mdn077.
[288] Pascual M, Alonso S, Parés D, et al. Randomized clinical trial comparing inflammatory and angiogenic response after open versus laparoscopic curative resection for colonic cancer. Br J Surg 2011;98:50–9. https://doi.org/10.1002/bjs.7258.
[289] Nordahl Svendsen M, Werther K, Jørgen Nielsen H, et al. VEGF and Tumour Angiogenesis. Impact of Surgery, Wound Healing, Inflammation and Blood Transfusion. Taylor & Francis 2002:373–9.
[290] Kut C, Mac Gabhann F, Popel AS. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer. Br J Cancer 2007;97:978–85. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603923.
[291] Min BS, Kim NK, Jeong HC, et al. High levels of serum VEGF and TIMP-1 are correlated with colon cancer liver metastasis and intrahepatic recurrence after liver resection. Oncol Lett 2012;4:123–30. https://doi.org/10.3892/ol.2012.691.

[292] Tien YW, Chang KJ, Chiu YF, et al. Comparison of angiogenic factor levels in tumor drainage and peripheral venous blood from colorectal cancer patients. Ann Surg Oncol 2006;13:1357–63. https://doi.org/10.1245/s10434-006-9042-8.
[293] Obika M, Ogawa H, Takahashi K, et al. Tumor growth inhibitory effect of ADAMTS1 is accompanied by the inhibition of tumor angiogenesis. Cancer Sci 2012;103:1889–97. https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2012.02381.x.
[294] Lind GE, Kleivi K, Meling GI, et al. ADAMTS1, CRABP1, and NR3C1 identified as epigenetically deregulated genes in colorectal tumorigenesis. Cell Oncol 2006;28:259–72. https://doi.org/10.1155/2006/949506.
[295] Filou S, Korpetinou A, Kyriakopoulou D, et al. ADAMTS expression in colorectal cancer. PLoS One 2015;10:e0121209. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121209.
[296] Kumar A, Taghi Khani A, Sanchez Ortiz A, et al. GM-CSF: A Double-Edged Sword in Cancer Immunotherapy. Front Immunol 2022;13:901277. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.901277.
[297] Mihalik NE, Steinberger KJ, Stevens AM, et al. Dose-Specific Intratumoral GM-CSF Modulates Breast Tumor Oxygenation and Antitumor Immunity. J Immunol 2023;211:1589–604. https://doi.org/10.4049/jimmunol.2300326.
[298] Li B, VanRoey M, Wang C, et al. Anti-programmed death-1 synergizes with granulocyte macrophage colony-stimulating factor--secreting tumor cell immunotherapy providing therapeutic benefit to mice with established tumors. Clin Cancer Res 2009;15:1623–34. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1825.
[299] Tian H, Shi G, Wang Q, et al. A novel cancer vaccine with the ability to simultaneously produce anti-PD-1 antibody and GM-CSF in cancer cells and enhance Th1-biased antitumor immunity. Signal Transduct Target Ther 2016;1:16025. https://doi.org/10.1038/sigtrans.2016.25.
[300] Tamazato Longhi M, Cella N. Tyrosine phosphorylation plays a role in increasing maspin protein levels and its cytoplasmic accumulation. FEBS Open Bio 2012;2:93–7. https://doi.org/10.1016/j.fob.2012.04.006.
[301] Banias L, Gurzu S, Kovacs Z, et al. Nuclear maspin expression: A biomarker for budding assessment in colorectal cancer specimens. Pathol Res Pract 2017;213:1227–30. https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.07.025.
[302] Qin L, Zhang M. Maspin regulates endothelial cell adhesion and migration through an integrin signaling pathway. J Biol Chem 2010;285:32360–9. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.131045.
[303] Gurzu S, Szentirmay Z, Popa D, et al. Practical value of the new system for Maspin assessment, in colorectal cancer. Neoplasma 2013;60:373–83. https://doi.org/10.4149/neo_2013_049.
[304] Vaupel P. Hypoxia and Aggressive Tumor Phenotype: Implications for Therapy and Prognosis. Oncologist 2008;13:21–6. https://doi.org/10.1634/theoncologist.13-S3-21.
[305] Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, et al. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. Nature 1996;379:88–91. https://doi.org/10.1038/379088a0.
[306] Carmeliet P, Li X, Treps L, et al. RAISEing VEGF-D's importance as predictive biomarker for ramucirumab in metastatic colorectal cancer patients. Ann Oncol 2018;29:527–9. https://doi.org/10.1093/annonc/mdy028.

[307] Bokhari SMZ, Hamar P. Vascular endothelial growth factor-D (VEGF-D): an angiogenesis bypass in malignant tumors. Int J Mol Sci 2023;24. https://doi.org/10.3390/ijms241713317.
[308] Nakayama T, Hirakawa H, Shibata K, et al. Expression of angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) in human colorectal cancer: ANGPTL4 promotes venous invasion and distant metastasis. Oncol Rep 2011;25:929–35. https://doi.org/10.3892/or.2011.1176.
[309] Zhou S, Tu J, Ding S, et al. High Expression of Angiopoietin-like Protein 4 in Advanced Colorectal Cancer and its Association with Regulatory T Cells and M2 Macrophages. Pathol Oncol Res 2020;26:1269–78. https://doi.org/10.1007/s12253-019-00695-0.
[310] Liu X, Zhang J, Yi T, et al. Decoding tumor angiogenesis: pathways, mechanisms, and future directions in anti-cancer strategies. Biomark Res 2025;13:62. https://doi.org/10.1186/s40364-025-00779-x.
[311] Montcusí B, Madrid-Gambin F, Marin S, et al. Circulating metabolic markers identify patients at risk for tumor recurrence: a prospective cohort study in colorectal cancer surgery. Ann Surg 2024;280:842–9. https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000006463.
[312] Venäläinen MK, Roine AN, Häkkinen MR, et al. Altered polyamine profiles in colorectal cancer. Anticancer Res 2018;38:3601–7. https://doi.org/10.21873/anticanres.12634.
[313] Coradduzza D, Arru C, Culeddu N, et al. Quantitative metabolomics to explore the role of plasma polyamines in colorectal cancer. Int J Mol Sci 2022;24. https://doi.org/10.3390/ijms24010101.

ANEXOS

10. ANEXOS

10.1. CEIC del estudio de validación de VEGF

Informe del Comité Ético de Investigación Clínica

Doña Mª Teresa Navarra Alcrudo Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica Parc de Salut MAR

CERTIFICA

Que éste Comité ha evaluado el proyecto de investigación clínica nº 2015/6097/I titulado *"CONCENTRACIÓN POSTOPERATORIA DEL VEGF EN SUERO COMO FACTOR PRONÓSTICO DE RECURRENCIA TRAS CIRUGÍA CURATIVA DE CÁNCER DE COLON. ESTUDIO MULTICÉNTRICO"* propuesto por la Dra. MARTA PASCUAL DAMIETA de la Unidad de Cirugía Colorrectal del Servicio de Cirugía del Hospital del Mar.

Que adjunta documento de consentimiento informado.

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas que se solicitan está plenamente justificado.

Y que éste Comité acepta que dicho proyecto de investigación sea realizado en el Hospital del Mar por la Dra. MARTA PASCUAL DAMIETA como investigador principal tal como recoge el ACTA de la reunión del día 24 de Noviembre de 2015.

Lo que firmo en Barcelona, a 3 de Diciembre de 2015

COMITÈ ÈTIC D'INVESTIGACIÓ CLÍNICA
CEIC - PARC DE SALUT MAR

Firmado: .....
Doña Mª Teresa Navarra Alcrudo

CONSORCI MAR PARC DE SALUT DE BARCELONA I NIF:S-0800471E PAPER ECOLÒGIC

CEIC – Parc de Salut MAR
Dr. Aiguader, 88 I 08003 Barcelona I Telèfon 93 316 06 77 I Fax 93 316 06 36
ceic-psmar@imim.es | www.parcdesalutmar.cat

10.2. Documento de información para el paciente

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

CONCENTRACIÓN POSTOPERATORIA DE VEGF EN SUERO COMO FACTOR PRONÓSTICO DE RECURRENCIA TRAS CIRUGÍA CURATIVA DEL CÁNCER DE COLON. ESTUDIO MULTICÉNTRICO

1. INTRODUCCIÓN

   Esta hoja le facilita la información para que pueda decidir si quiere participar o no en este estudio de investigación en el que se le extraerán dos muestras de sangre para el estudio de un factor pronóstico de recurrencia tumoral.

2. PROPÓSITO DEL ESTUDIO

   Usted tiene un cáncer de colon que, con el tratamiento quirúrgico, es potencialmente curable. Estamos investigando si existe algún parámetro sanguíneo que nos ayude a predecir el riesgo de recurrencia tumoral. En un estudio reciente hemos demostrado que pacientes, tras una operación de cáncer de colon, con un elevado factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) analizado en la sangre del cuarto día del postoperatorio, tienen hasta 4 veces más posibilidades de sufrir una recurrencia de su enfermedad que los pacientes que tienen valores menores.

   Este estudio únicamente lo hemos realizado en un centro con una muestra pequeña de pacientes. Para que estos datos tengan más consistencia y, por tanto, mayor validez, tenemos que seguir incluyendo pacientes que quieran colaborar con nuestra investigación.

3. PROCEDIMIENTOS

   A usted se le tomará una muestra de sangre al cuarto día de la intervención. En esta muestra analizaremos el factor VEGF y almacenaremos los resultados en una base de datos.

   Tras la cirugía, haremos el seguimiento habitual en las personas operadas como usted y registraremos todas las incidencias durante el mismo.

4. BENEFICIOS

   No existen beneficios a corto plazo de este estudio. Los posibles beneficios serán a largo plazo, porque las conclusiones de los datos que obtengamos en este estudio, si nuestras hipótesis se confirman, serán aplicables a pacientes en el futuro. Si los datos lo avalan y, tras confirmaciones posteriores se podrán identificar a los

pacientes con un mayor riesgo de recurrencia tumoral y, así, se podrán ofrecer tratamientos que en la actualidad no se están realizando.

5. RIESGOS Y MOLESTIAS

Como la única intervención añadida a su evolución postoperatoria será la extracción sanguínea periférica en el cuarto día del postoperatorio los riesgos y molestias serán los inherentes a esta técnica: hematoma o hemorragia en la zona de punción, dolor transitorio en el punto de punción. Con la intención de evitarles, se intentará hacer coincidir esta punción añadida con alguna extracción necesaria del postoperatorio inmediato.

6. ALTERNATIVAS

La alternativa a no estar incluido en el estudio constituye la no realización de las extracciones anteriormente mencionadas.

7. COSTES Y REEMBOLSOS

Este estudio ha sido aprobado el Comité de Ensayos Clínicos de este hospital que ha evaluado los posibles riesgos y beneficios de este estudio. No se le hará cargo de ninguno de los costes de las pruebas requeridas para su diagnóstico o tratamiento.

8. CONFIDENCIALIDAD

No se le identificará en ningún informe del estudio y estos informes serán utilizados sólo para fines de investigación teniendo solamente acceso a sus datos los investigadores y evaluadores de este estudio. El promotor y el Ministerio de Sanidad y Consumo podrán inspeccionar los registros de este estudio y harán todos los esfuerzos para mantener la confidencialidad de sus datos médicos personales.

10.3. Documento del consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Concentración postoperatoria de VEGF en suero como factor pronóstico de recurrencia tras cirugía curativa del cáncer de colon. Estudio multicéntrico.

Yo (nombre y apellidos en mayúsculas)

He leído la hoja de información que se me ha entregado
He podido hacer preguntas sobre el estudio
He recibido suficiente información sobre el estudio
He hablado con: (nombre del investigador en mayúsculas)

Comprendo que:
1. Mi participación es voluntaria
2. Que no me supone ningún beneficio directo
3. Que la no aceptación de participar en este estudio no repercutirá en mis cuidados médicos
4. Que la información obtenida de este estudio es confidencial

Autorizo mi inclusión en este estudio

Fecha

Firma del participante

10.4. CEIC del estudio de otras proteínas angiogénicas

Informe del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Parc de Salut Mar

Doña Cristina Llop Julià, secretaria técnica del **Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Parc de Salut MAR**,

CERTIFICA

Que este Comité, de acuerdo a la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios éticos de la Declaración de Helsinki, y resto de principios éticos aplicables, ha evaluado la propuesta para que se realice el proyecto de investigación núm. 2021/9922/I, promovido por el Consorcio Mar Parc de Salut de Barcelona, y titulado: "*Determinación de proteínas proangiogénicas en suero como factor pronóstico de recurrencia tras cirugía curativa de cáncer de colon. Estudio Multicéntrico*"

Versión de los documentos:

- **Protocolo versión III de fecha 23/05/2023**

Y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Se acepta la exención al consentimiento informado del estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité aprueba que dicho proyecto de investigación sea realizado en el Servicio de Cirugía General del Hospital del Mar por la Dra. Marta Pascual Damieta como investigadora principal, tal como recoge el ACTA de reunión del día 06/06/2023.

Lo que firmo en Barcelona a 15 de junio de 2023.

Firmado digitalmente por LLOP JULIA CRISTINA - 53314050G
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-53314050G, givenName=CRISTINA, sn=LLOP JULIA, cn=LLOP JULIA CRISTINA - 53314050G
Fecha: 2023.06.15 16:47:46 +02'00'

Firmado: .....
Secretaria técnica

CEIm – Parc de Salut MAR
Dr. Aiguader, 88 I 08003 Barcelona I Telèfon 93 316 06 77 I Fax 93 316 06 36
ceic-psmar@imim.es | www.parcdesalutmar.cat