



VNIVERSITAT<sup>IS</sup> DE VALÈNCIA  
Facultat de Medicina i Odontologia

Departament de Medicina

**TESIS DOCTORAL**

Programa de Medicina 3042-RD1393/2007

**Marcadores predictivos de respuesta tras  
neoadyuvancia en cáncer de recto**

**Tesis doctoral presentada por:**

Nieves Del Pozo Alonso

Licenciada en Medicina

Especialista en Oncología Médica

**Dirigida por:**

Dr. Carlos Camps Herrero

Dr. Vicente Martínez Sanjuán

Valencia, 30 de Mayo de 2017





CARLOS CAMPS HERRERO, Doctor por la Universidad de Valencia, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia y Jefe de Servicio de Oncología Médica del Hospital General Universitario de Valencia .

CERTIFICA que Doña Nieves del Pozo Alonso, Licenciada en Medicina y Médico Especialista en Oncología Médica ha realizado bajo mi dirección la Tesis Doctoral que lleva por Título “**Marcadores predictivos de respuesta tras neoadyuvancia en cáncer de recto**“. Dicha Tesis reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

Valencia a 30 de Mayo de 2017

Prof. Carlos Camps Herrero

DNI: 22517012N



VICENTE MARTINEZ SANJUÁN, Doctor por la Universidad de Valencia, Profesor Asociado del Departamento de Estomatología de la Facultad de Medicina y y Cirugía de la Universidad de Valencia y Jefe de Unidad de Resonancia Magnética y TC del Hospital General Universitario de Valencia.

CERTIFICA que Doña Nieves del Pozo Alonso, Licenciada en Medicina y Médico Especialista en Oncología Médica ha realizado bajo mi dirección la Tesis Doctoral que lleva por Título **“Marcadores predictivos de respuesta tras neoadyuvancia en cáncer de recto”**. Dicha Tesis reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

Valencia a 30 de Mayo de 2017

Prof. Vicente Martinez Sanjuán

DNI: 22525746Y



## AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han influido y contribuido en mi formación y las que, de una forma u otra, me han ayudado en la realización de esta Tesis Doctoral. Todas ellas permanecerán en mi recuerdo y tendrán mi agradecimiento permanente.

A mis padres y toda mi familia, por creer en mí. Por su constante cariño y apoyo incondicional. Por lo aprendido y las enseñanzas pendientes.

A mi Director y co-Director de Tesis, el Dr. Carlos Camps y El Dr. Vicente Martínez, sin cuya guía y ayuda no hubiese salido este proyecto.

A la Dra. Eloísa Jantus y la Dra. Sylvia Calabuig, por su desinteresado apoyo y su eterna paciencia.

Al Dr. José Quesada, sin quien no hubiese podido elaborar el análisis estadístico.

A todos los miembros del Comité de Tumores Digestivos del Hospital Vinalopó, donde he terminado de madurar como oncóloga y donde me siento como en casa. En especial a la Dra. Serrano, por ser ejemplo a seguir de tenacidad y entrega a los pacientes, por sus consejos maternos y su confianza plena.

A mi marido, por quien quiero ser mejor persona. Por no desfallecer cuando yo lo hago.

A mi hija, por su abrazo incondicional y oportuno, pese las tardes de juego sacrificadas.

Y por último a mis pacientes y sus familias. Este trabajo nace por y para ellos.



*"Dominus Illuminatio mea".*



## ÍNDICE GENERAL

<b><u>INTRODUCCIÓN</u></b>	pág.25
1. JUSTIFICACIÓN	pág.27
2. EPIDEMIOLOGÍA	pág.30
3. RECUERDO ANATÓMICO	pág.31
4. FACTORES DE RIESGO	pág.32
4.1 Factores ambientales	pág.32
4.2 Factores genéticos:	pág.33
4.2.1 <i>Inestabilidad cromosómica</i>	pág.33
4.2.2 <i>Inestabilidad de microsatélites</i>	pág.34
5. CLASIFICACIÓN MOLECULAR	pág.35
6. ESTADIFICACIÓN LOCOREGIONAL. ECOGRAFÍA ENDIRECTAL. IMAGEN RESONANCIA MAGNÉTICA PÉLVICA.	pág.36
6.1 Ecografía endirectal (EER)	pág.37
6.2 IRM pélvica.	pág.38
6.2.1 <i>Extensión a Mesorrecto</i>	pág.39
6.2.2 <i>Margen circunferencial</i>	pág.40
6.2.3 <i>Afectación ganglionar y depósitos tumorales</i>	pág.41
6.2.4 <i>Invasión Venosa Extramural</i>	pág.41
6.2.5 <i>Requerimientos técnicos mínimos recomendados.</i>	pág.41
6.2.6 <i>Papel de la IRM en la reevaluación</i>	pág.45
7. ESTADIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL CÁNCER DE RECTO.	pág.46
7.1 Grado regresión tumoral histopatológica	pág.47
8. MARCADORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS CLÍNICOPATOLÓGICOS	pág.49
8.1 Marcadores pronósticos	pág.49
8.2 Biomarcadores Predictivos	pág.50
• <i>Biomarcadores predictivos moleculares</i>	pág.50
• P53	pág.50
• Mutaciones del ADN en la vía RAS-MAPK.	pág.51
• Timidilato Sintetasa (TS).	pág.55

• VEGF.	pág.55
• $\beta$ -catenina	pág.56
<b>9. TRATAMIENTO DEL CRLA.</b>	pág.57
<b>9.1 Tratamiento Estadio II-III (cT3-4 y/o N+)</b>	pág.57
<b>9.2 Papel de la cirugía</b>	pág.58
<b>9.3 Papel de QT y RT en la neoadyuvancia. Adyuvancia tras ETM.</b>	pág.60
<b>9.3.1 QTRT neoadyuvante Versus quimiorradioterapia adyuvante</b>	pág.60
<b>9.3.2 QTRT neoadyuvante vs RT neoadyuvante.</b>	pág.60
<b>9.3.3 Fármacos biológicos.</b>	pág.62
<b>9.3.4 Intensificación de tratamiento en tumores bulky o cT4</b>	pág.62
<b>9.3.5 Quimioterapia Adyuvante</b>	pág.63
<b>10. NUEVAS ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO: WATCH AND WAIT.</b>	pág.64
<b><u>OBJETIVOS</u></b>	pág.67
<b><u>METODOLOGÍA.</u></b>	pág.71
<b>1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN.</b>	pág.73
<b>2. EVALUACIÓN</b>	pág.74
<b>2.1. Técnica de IRM.</b>	pág.75
<b>3. TRATAMIENTO NEOADYUVANTE</b>	pág.77
<b>3.1 Técnica de radiación : Radioterapia externa de alta conformación</b>	pág.77
<b>4. CIRUGÍA</b>	pág.79
<b>5. ESTUDIO HISTOLÓGICO</b>	pág.79
<b>6. SEGUIMIENTO</b>	pág.80
<b>7. ANÁLISIS MUTACIONAL.</b>	pág.81
<b>8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	pág.86
<b>9. CONSIDERACIONES ÉTICAS. DECLARACIÓN DE BUENAS PRACTICAS CLÍNICAS</b>	pág.88
<b><u>RESULTADOS</u></b>	pág.89
<b>1. ANÁLISIS UNIVARIANTE. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE RESULTADOS</b>	pág.91
<b>1.1 Datos demográficos</b>	pág.92

1.2 Datos clinicopatologicos	pág.92
1.2.1 <i>Altura de Margen anal</i>	pág.92
1.2.2 <i>Antígeno carcinoembrionario</i>	pág.93
1.2.3 <i>Estadificación tumoral por Resonancia Nuclear Magnética</i>	pág.93
1.3 Datos mutacionales	pág.94
1.3.1 <i>Estatus mutacional de NRAS</i>	pág.94
1.3.2 <i>Estatus mutacional de BRAF</i>	pág.94
1.3.3 <i>Estatus mutacional de KRAS</i>	pág.94
1.4 Datos de reevaluación radiológica	pág.96
1.5 Datos anatomopatologicos tras neoadyuvancia	pág.96
1.5.1 <i>Calidad de cirugía y mesorrecto</i>	pág.96
1.5.2 <i>Estadificación patológica y grado histológico.</i>	pág.97
1.5.3 <i>Downstaging tumoral y grado de regresión tumoral.</i>	pág.98
1.6 Datos de resultados oncológicos	pág.99
2. ANÁLISIS BIVARIANTE.	pág.100
2.1 <i>Análisis bivariante de Status KRAS</i>	pág.100
2.2 <i>Análisis bivariante de Status NRAS</i>	pág.103
2.3 <i>Análisis bivariante de Respuesta Completa Patológica.</i>	pág.104
2.4 <i>Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor.</i>	pág.106
2.5 <i>Modelo Multivariante según tipo de respuesta (buen respondedores/Mal respondedores)</i>	pág.110
3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GLOBAL	pág.111
4. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD	pág.115
5. ANÁLISIS DE SLE POR TIPO DE RECAÍDA: LOCAL O SISTÉMICA.	pág.119
5.1 <i>Análisis de SLE para recaída local</i>	pág.119
5.2 <i>Análisis de SLE para recaída sistémica.</i>	pág.122
6. VALOR PREDICTIVO DE LA IRM	pág.125
<b><u>DISCUSIÓN</u></b>	pág.127

**CONCLUSIONES**

pág.141

**BIBLIOGRAFÍA**

pág.145

**ANEXOS**

pág 159

## ABREVIATURAS

**5FU:** 5-fluorouracilo

**ARM:** ácido ribonucleico mensajero

**AAP:** Amputación abdominoperineal

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**AP:** Anatomía patológica

**AJCC:** *American Joint Committee on Cancer*

**APC:** *Adenomatous poliposis coli*

**CCR:** cáncer colorrectal

**CRLA:** cáncer de recto localmente avanzado

**CCHNP:** cáncer colorrectal hereditario no polipósico

**CPE:** cirugía preservadora de esfínteres

**CIMP:** fenotipo de isla CpG methylator

**CIN:** cromosómicamente inestable.

**CMS:** subtipos moleculares.

**CEA:** Antígeno carcinoembrionario

**COSMIC:** *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*

**DCC:** *Deleted in colorectal carcinoma*

**E:** Especificidad

**EC:** ensayo clínico

**EMA:** *European Medicines Agency*

**EER:** ecografía endorectal

**ETM:** escisión total del mesorrecto

**GWAS:** *Genome-wide association study* (estudio de asociación del genoma completo)

**GDP:** guanosín difosfato

**GTP:** guanosín trifosfato

**GAPs:** *GTPase activating proteins*

**IGF-1:** factor de crecimiento insulínico tipo 1

**IMC:** índice de masa corporal

**IVEM:** invasión venosa extramural

**ILK:** vía de Kinasa ligada a integrina.

**IHQ:** inmunohistoquímica

**IRM:** Imagen por resonancia magnética

**K-RAS:** *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*

**LV:** Leucovorín

**MRC:** Margen de resección circunferencial

**MMR:** mismatch repair

**MC:** margen circunferencial

**MSI:** inestabilidad de microsatélites

**MSS:** microsatélites estables.

**nQTRT:** quimio-radioterapia neoadyuvante

**NRAS:** *Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog*

**OAR:** órganos en riesgo

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PET:** Tomografía por emisión de positrones.

**PAF:** Poliposis adenomatosa familiar

**PI3K:** fosfoinositol 3-quinasa

**PCR:** *Polymerase Chain Reaction*

**PTEN:** fosfatidilinositol-3, 4,5-trisfosfato 3-fosfatasa

**QT:** Quimioterapia

**RT:** Radioterapia

**RCP:** Respuesta completa patológica

**RCC:** respuesta clínica completa

**RS:** recidiva sistémica

**RECIST:** *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*

**RL:** recidiva local

**S:** Sensibilidad

**SG:** Supervivencia global.

**SLE:** Supervivencia libre de enfermedad.

**SLRL:** Supervivencia libre de recaída local.

**SL:** Síndrome Lynch

**SNP:** polimorfismos de un solo nucleótido.

**TC:** Tomografía axial computerizada

**TGF beta1:** Factor de crecimiento transformante beta 1

**TRG:** Grado de regresión tumoral.

**TCGA:** *The Cancer Genome Atlas*

**TS:** Timidilato Sintetasa (TS)

**VEGF:** factor de crecimiento endotelial vascular



## Índice de Tablas, Figuras e Imágenes

### Índice de Tablas:

Tabla 1: Características distintivas de los CMS.	pág. 36
Tabla 2: Resumen de la sensibilidad y especificidad alcanzada en la estadificación del CRLA por las principales pruebas de imagen.	pág.39
Tabla 3 Subcategorías cT3 propuestas por el profesor Hermanek en 1993.	pág.40
Tabla 4: Clasificación de Mandard.	pág.48
Tabla 5. Ensayos clínicos Fase II con QT de inducción preoperatoria.	pág.63
Tabla 6: Esquema de seguimiento del protocolo de <i>Watch and Wait</i> .	pág.65
Tabla 7: parámetros por secuencias de IRM.	pág.75
Tabla 8: Valores de los límites LOB y LOD determinados para mutaciones específicas.	pág.84
Tabla 9: Análisis Univariante de datos demográficos.	pág.92
Tabla 10. Análisis Univariante de datos clinicopatológicos.	pág.93
Tabla 11. Análisis Univariante de Estatus Mutacional de RAS-RAF.	pág.94
Tabla 12: Análisis univariante de Mutaciones de KRAS.	pág.95
Tabla 13: Distribución de frecuencias mutacionales por codones y RCP.	pág.95
Tabla 14: Distribución de frecuencias mutacionales por codones y tipo de respuesta.	pág.95
Tabla 15: Análisis Univariante de datos de reevaluación radiológica.	pág.96
Tabla 16: Calidad de cirugía y estatus de mesorrecto.	pág.97
Tabla 17: Estadificación patológica y grado histológico.	pág.98
Tabla 18: <i>Downstaging</i> tumoral y grado de regresión tumoral.	pág.98
Tabla 19: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos clínico epidemiológicos.	pág.101
Tabla 20: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos anatomopatológicos.	pág.102
Tabla 21: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos de supervivencia.	pág.103
Tabla 22: Análisis bivariante de Status NRAS por variables clínicas	pág.103
Tabla 23: Análisis bivariante de Status NRAS por variables de respuesta.	pág.104
Tabla 24: Análisis Bivariante de Respuesta Completa Patológica.	pág.105
Tabla 25: Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para RCP.	pág.106
Tabla 26: Odds Ratio e IC para variables continuas.	pág.106

Tabla 27: Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor. Variable clinicoepidemiológica.	pág.107
Tabla 28: Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor. Variables anatomopatológicas y de supervivencia.	pág.108
Tabla 29: Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables clínico epidemiológicas.	pág.109
Tabla 30: Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables clínicas continuas.	pág.109
Tabla 31: Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables patológicas.	pág.110
Tabla 32: análisis multivariante para Tipo de respuesta (Buen/mal respondedor).	pág.110
Tabla 33: Curva ROC del modelo predictivo buen respondedor.	pág.115
Tabla 34: Distribución exitus por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.	pág.112
Tabla 35: Regresión de Cox. Ajuste simple para <i>exitus</i> por neoplasia.	pág.112
Tabla 36: Distribución frecuencia recaídas por factor predictivo y tipo de respuesta.	pág.116
Tabla 37: Regresión de Cox. Ajuste simple para riesgo recaída de enfermedad.	pág.116
Tabla 38: Distribución frecuencia recaída local por factor predictivo y tipo de respuesta.	pág.119
Tabla 39: Regresión de Cox. Ajuste simple para recaída local.	pág.119
Tabla 40: Distribución frecuencia recaída sistémica por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.	pág.122
Tabla 41: Regresión de Cox. Ajuste simple para recaída sistémica.	pág.122
Tabla 42: Concordancia ymrT con ypT por estadificación AJCC.	pág.125
Tabla 43: Concordancia respuesta radiológica por RECIST con ypT.	pág.126
Tabla 44: Características de los trabajos europeos y de EEUU de los últimos 10 años, que analizan el papel de KRAS en la respuesta a la neoadyuvancia en CRLA.	pág.135

## Índice de Figuras:

Figura 1. Visión futura del tratamiento personalizado del CRLA.	pág.30
Figura 2: estimación de caso de cáncer colorrectal sexo en España en 2012 y predicción para 2020. Obtenido de Globocan.	pág.30
Figura 3. Representación anatómica del recto y canal anal.	pág.31
Figura 4. Secuencia de mutaciones en la vía pólipo serrado-carcinoma (adaptado de Matkowskyj).	pág.33
Figura 5. Subtipos genómicos en CCR.	pág.35
Figura 6: Modelo de interpretación de EER.	pág.38
Figura 7: Vía <i>Ras Wild Type</i> .	pág.51
Figura 8: KRAS mutado.	pág.52
Figura 9: BRAF mutado.	pág.53
Figura 10: Top 20 genes implicados en la carcinogénesis del CR. De COSMIC <a href="http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic">http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic</a> .	pág.54
Figura 11. Representación gráfica de los histogramas para los codones y nucleótidos de acuerdo con las secuencias de análisis.	pág.83
Figura 12: Tipo de mutación distribuidas por exón y codón detectadas por el Sistema Idylla™ NRAS-BRAF-EGFR S492R <i>Mutation Assay</i> .	pág.86

## Índice de Imágenes

Imagen 1: Estadificación tumoral clínica por Resonancia T3b.	pág.42
Imagen 2: Estadificación clínica tumoral por Resonancia T4b.	pág.43
Imagen 3: Distancia hasta el MRC.	pág.43
Imagen 4: Estadío ganglionar N2.	pág.44
Imagen 5: IVEM de vaso pequeño.	pág.44
Imagen 6: Respuesta completa radiológica de neoplasia de tercio superior.	pág.45
Imagen 7: A) Pieza de RAB de tercio medio de uno de los pacientes reclutados B) Pieza de resección de Miles de neoplasia de tercio inferior .	pág.59
Imagen 8: Gráfica de pirograma de genotipo nativo en los codones 12 y 13.	pág.85

Imagen 9: Gráfica de pirograma de genotipo nativo en el codón 61.	pág.85
Imagen :10 Inclusión en el Cartucho de Idylla™ de cortes de tejido incluido en parafina.	pág.85

### Índice gráficas

Gráfica 1: curva de Kaplan-Meier para SG de toda la serie.	pág.99
Gráfica 2: curva de Kaplan-Meier para SLE de toda la serie.	pág.100
Gráfica 3: Curva Kaplan-Meier por status de KRAS.	pág.113
Gráfica 4: Curva de Kaplan-Meier por nivel de CEA basal.	pág.114
Gráfica 5: Curva de Kaplan-Meier según RCP o No RCP.	pág.114
Gráfica 6: Curva de Kaplan-Meier según buen/mal respondedor.	pág.115
Gráfica 7: Curva Kaplan Meier de SLE por KRAS.	pág.117
Gráfica 8: Curva de Kaplan Meier de SLE por nivel basal de CEA.	pág.117
Gráfica 9: Curva de Kaplan Meier de SLE por RCP.	pág.118
Gráfica 10: Curva de Kaplan Meier de SLE por tipo de respuesta (Buen/mal respondedor).	pág.118
Gráfica 11: Curva Kaplan Meier de SLE en recaída local por status KRAS.	pág.120
Gráfica 12: Curva de Kaplan Meier para SLE en recaída local por nivel de CEA.	pág.120
Gráfica 13: Curva de Kaplan Meier de SLE en recaída local por RCP Si/no.	Pág.121
Gráfica 14: Curva de Kaplan Meier de SLE en recaída local por tipo respuesta (Buen/mal respondedor).	pág.121
Gráfica 15: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por status de KRAS.	pág.123
Gráfica 16: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por nivel basal de CEA.	pág.123
Gráfica 17: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por RCP si/no.	pág.124
Gráfica 18: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por tipo de respuesta (buen/mal respondedor).	pág.124

## **INTRODUCCIÓN**



## JUSTIFICACIÓN

Para el cáncer de recto, tanto el tratamiento quirúrgico y como el no quirúrgico son conceptos que se han mejorado considerablemente en la última décadas. A este respecto, el concepto quirúrgico de escisión total del mesorrecto (ETM) y la implementación de los regímenes de tratamiento preoperatorio, pueden considerarse las piedras angulares de tratamiento moderno y optimizado para el cáncer de recto localmente avanzado (CRLA). Varios ensayos aleatorizados demostraron de forma independiente que la aplicación preoperatoria de la radioterapia, ya sea como la radioterapia de ciclo corto o como irradiación de ciclo largo, acompañada por una infusión de 5-fluorouracilo (5-FU), disminuye significativamente la tasa de recidiva local (1). Por consiguiente, la quimio-radioterapia (QTRT) preoperatoria representa en la actualidad el estándar tratamiento para los pacientes con cáncer de recto localmente avanzado en Europa y los EE.UU desde que demostraron mejor tasa de control local de la enfermedad, incremento en supervivencia libre de progresión (SLP) y mejor tolerancia que el tratamiento adyuvante (2).

El tratamiento neoadyuvante surge así como una estrategia terapéutica atractiva además por las siguientes razones:

- Tumores inicialmente irresecables puede convertirlos en quirúrgicos (*Downsized*)
- La reducción del tamaño se traduce en una mayor proporción de preservación de esfínter anal.
- La administración de tratamiento quimioterápico previo puede asociarse con una reducción de micrometástasis.
- La toxicidad de la radioterapia es menor que si se administra tras la cirugía.
- La condición física del paciente es mejor y por tanto la adherencia y cumplimentación del tratamiento.

Sin embargo, la radioterapia, además de ser costosa, presenta también una toxicidad y morbimortalidad que debe tenerse en consideración. La más frecuente es la colitis actínica, con diarrea crónica y potenciales cuadros de oclusión intestinal. Otras toxicidades son la disfunción del esfínter anorrectal, disfunción sexual, microfracturas en sacro o segundas neoplasia. Toxicidades todas ellas que aunque no frecuentes, disminuyen de manera importante la calidad

de vida del paciente, por lo que deberíamos poder asegurar que el paciente se beneficiará del tratamiento (obtendrá respuesta patológica).

Con respecto a la respuesta histopatológica de la quimio-radioterapia se observó que varía enormemente de un paciente a otro. Aproximadamente un 40-60% de los pacientes experimentan algún grado de regresión tumoral, pero sólo un porcentaje menor tiene una respuesta completa patológica (RCP). La RCP caracterizada como la total desaparición microscópica de células tumorales se considera uno de los mejores marcadores de buen pronóstico (3). En un 5-30% de los casos está descrita una RCP mientras que en la mayoría de los pacientes habrá solo cierto grado de enfermedad residual después del tratamiento neoadyuvante. Estas diferencias podrían explicarse en parte por los distintos tamaños tumorales y por las diferencias biológicas de las lesiones.

Con el objetivo de incrementar las tasas de respuesta a la QTRT preoperatoria, se han investigado agentes como el oxaliplatino y regímenes basados en anticuerpos siendo estrategias en continua evaluación (2). Sin embargo, hasta la fecha, la inclusión de más agentes al tratamiento multimodal aumentaron los efectos secundarios de toxicidad agudos y a largo plazo, haciendo necesaria la reducción de dosis o la interrupción del tratamiento (2).

No está establecido el método clínico por el cual predecir qué pacientes alcanzarán esa RCP sin pasar por la resección quirúrgica. Diversos estudios han incorporado diferentes técnicas diagnósticas (endoscopia con toma de biopsia, PET, ecografía endorrectal) sin poder concluir cuál es la mejor técnica diagnóstica y la de mejor poder predictivo de respuesta. Tampoco se han identificado marcadores biológicos predictivos de respuesta. Otros estudios han evaluado exclusivamente la utilidad y las características de la Imagen por Resonancia Magnética (IRM) como predictor de respuesta patológica tras el tratamiento neoadyuvante. La mayoría concluyen que la IRM es una técnica útil para predecir la respuesta al tratamiento con QTRT, aunque la sensibilidad encontrada para detectar RCP (expresada tras el análisis histopatológico como ypT0) se sitúa únicamente en torno al 35% (4). Por lo tanto, la capacidad de la IRM tras neoadyuvancia con QTRT para estadificar el tumor residual, y más aún, para predecir la RCP tras la neoadyuvancia, no está todavía bien establecido. Existen multitud de estudios contradictorios, no comparables entre sí por varios motivos, como utilizar diferentes técnicas para la obtención de imágenes, no incluir cortes axiales o coronales T2, no tener imágenes de

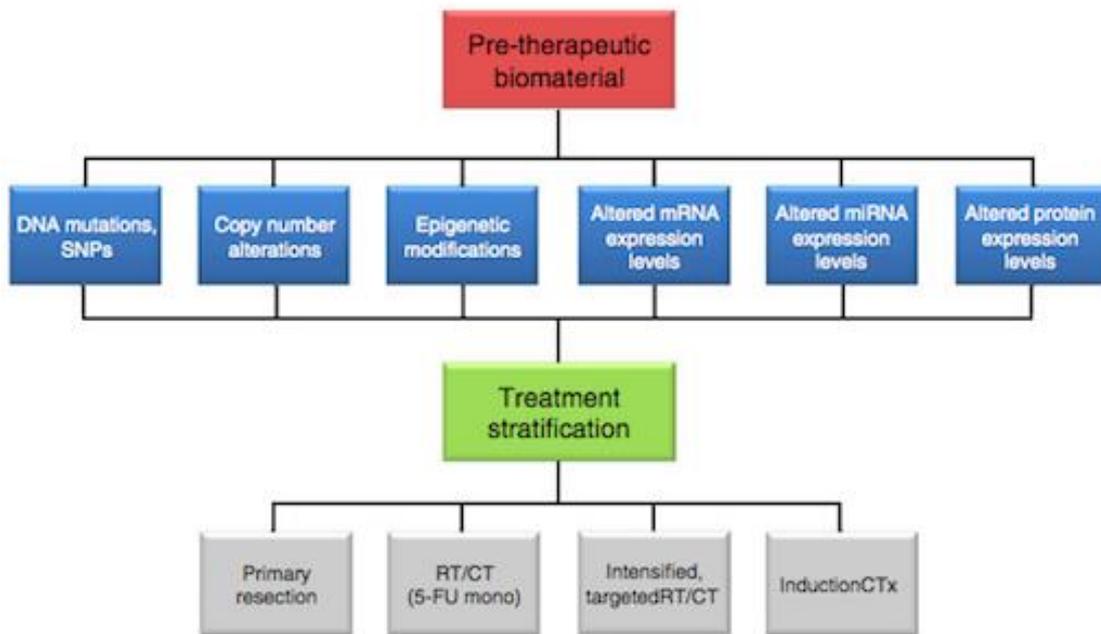
alta resolución ni de difusión, o con interpretación de las imágenes por profesionales de diferentes experiencias. Sin embargo, la mayoría concluye que la IRM es una buena técnica para predecir la respuesta tumoral de forma global (5). Se ha intentado buscar la combinación de otras técnicas de imagen para predecir la RCP. La sensibilidad de la IRM se incrementa cuando se incorpora la realización de IRM con difusión y con la realización de PET, aunque su utilidad, individual y en conjunto, está todavía por determinar.

Actualmente existe ya cierta evidencia acerca de que el estado mutacional y los niveles de expresión de ciertos genes involucrados en vías clave de señalización (ej.: KRAS, BRAF), en la replicación celular e inmortalización (hTERT) o en el control de la estabilidad cromosómica (FBXW/), entre otros, puede tener relación con el pronóstico con cáncer colorrectal metastásico.

Por otro lado, hay grupos con tendencia a la selección de pacientes con respuesta completa al tratamiento con QTRT, para continuar con una adyuvancia con quimioterapia y evitar la resección del recto. Sería el denominado plan terapéutico “*wait and see*” o “*Watch an wait*”, sustentado hasta la fecha por un escaso número de trabajos aunque con resultados prometedores (6).

Debido a esta variabilidad de respuesta tumoral al tratamiento y de grado de toxicidad del tratamiento convencional, se incrementa el interés en individualizar el tratamiento del cáncer de recto. Algunos pacientes pueden requerir intensificar el régimen terapéutico para aumentar la respuesta del tumor, mientras que para otros el tratamiento convencional puede ser suficiente o innecesario por esperar una resistencia al mismo. Esta estratificación de pacientes (respondedores/no respondedores) precisa de la identificación de parámetros clínicos fiables y de biomarcadores clínicos y moleculares predictores de respuesta que nos permitan clasificar al paciente antes del proceso quirúrgico y poder adaptar la estrategia terapéutica de manera individualizada a la respuesta obtenida.

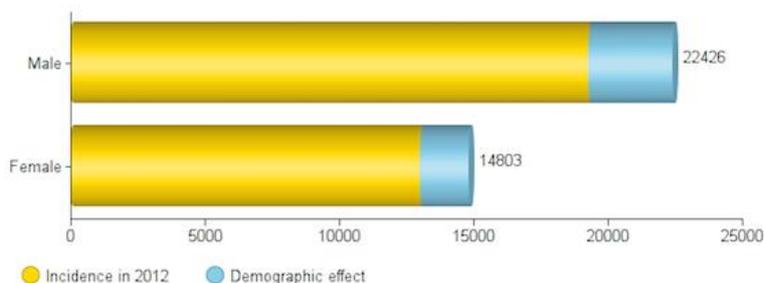
FIG 1. Visión futura del tratamiento personalizado del CRLA. Adaptado de Langenbecks et al. (7)



## EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer cáncer más común en los hombres y el segundo cáncer más común en las mujeres, siendo la neoplasia con mayor incidencia de manera global en España desde 2012. Es el tercer tumor más prevalente a los 5 años y la segunda causa de muerte, global y por sexos, tras el cáncer de mama en la mujer y el cáncer de pulmón en el hombre. Supone, casi 15000 muertes al año en España y casi 215000 en Europa, donde es la segunda neoplasia en incidencia, con 466110 casos nuevos al año (8). En la figura 2 se muestra la estimación de crecimiento en España en incidencia por sexos de CCR para 2020.

Figura 2: estimación de incidencia de cáncer colorrectal sexo en España en 2012 y predicción para 2020. Obtenido de Globocan.



## RECUERDO ANATÓMICO

Con frecuencia se considera que el recto comienza en los últimos 15 cm del intestino grueso, que es donde suelen detectarse cambios en la musculatura de la pared del intestino grueso y donde se convierte en un órgano retroperitoneal. Este límite inicial puede variar de los 12 a 15 cm según la altura de reflexión peritoneal de cada persona. El extremo distal del recto se considera en la línea pectínea, 1-2 cm por debajo del anillo anorrectal (Figura 3) 9).

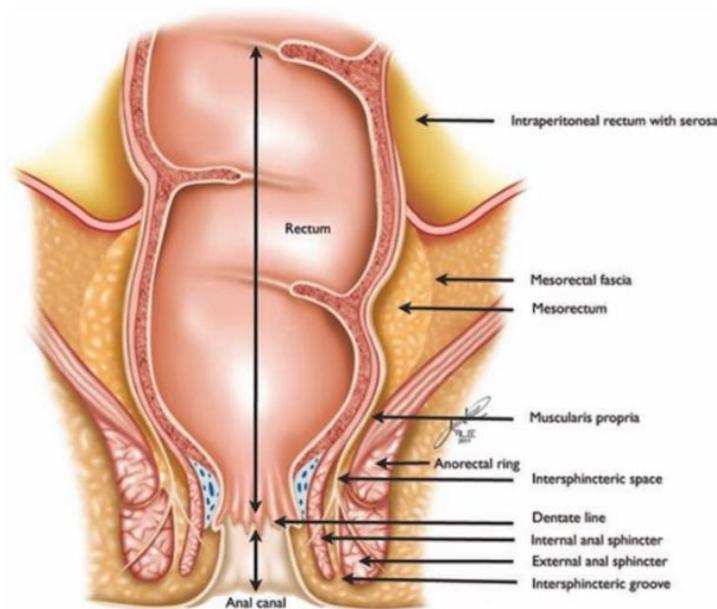


Figura 3. Representación anatómica del recto y canal anal, tomado de Lauren et al. (9)

Actualmente el recto se divide en 3 porciones, atendiendo a su distancia desde el margen anal y en función de la localización de las válvulas de Houston:

- Recto inferior o bajo: hasta 3 - 6 cm desde el margen anal.
- Recto medio: de 6-7 cm del margen anal a 10 cm del margen anal.
- Recto superior: de 10 cm a 12-15 cm del margen anal.

En la práctica y para evitar incertidumbres y unificar el lenguaje, el recto inferior se considera hasta los 6 cm, el medio de los 7 cm a los 10 cm y el superior la parte situada a más de 10 cm del margen anal.

La anatomía del recto presenta algunas características que determinan un comportamiento

diferenciado de los tumores respecto a los que se desarrollan en el resto del colon.

El drenaje venoso desde el colon y recto superior es vía circulación portal, mientras que el recto distal drena a la circulación portal y a la vena cava inferior: esto tiene una implicación clínica clave, ya que, por tanto, neoplasias del recto distal pueden metastatizar al pulmón más fácilmente que las neoplasias proximales, cuyo primer punto de metástasis es el hígado (9).

El recto está rodeado por la fascia mesorrectal. El espacio comprendido entre esta fascia y la capa muscular es lo que se llama actualmente el espacio mesorrectal o mesorrecto, de gran trascendencia actualmente por cuanto debe ser resecado en bloque constituyendo la escisión mesorrectal completa (ETM). Se extiende desde el promontorio en el origen de la arteria rectal superior, hasta el lugar donde el Músculo elevador del ano se inserta en la pared rectal (9).

## **FACTORES DE RIESGO**

### **Factores ambientales**

La edad y el sexo son factores de riesgo importantes que afectan tanto al cáncer de colon como al cáncer de recto (10). Factores ambientales como la dieta y la actividad física también pueden afectar el riesgo. Para el Índice de Masa Corporal (IMC), existe un efecto diferente sobre el CCR entre hombres y mujeres. Una revisión sistemática ha observado que cada aumento de 5 kg/m<sup>2</sup> de IMC se asocia con un 24% y un 9% de aumento de la incidencia de CCR en hombres y mujeres, respectivamente (11). Por otra parte, existe un significativo aumento del riesgo en la categoría más alta de IMC entre las mujeres para el cáncer de recto (10). Se ha encontrado que la actividad física está más fuertemente asociada con el cáncer de colon que con el cáncer de recto. El consumo frecuente de carne de cerdo o el cordero, de carne procesada y el consumo alcohol están relacionados con el cáncer de colon (10). Se observa una asociación ligeramente más fuerte entre el tabaquismo y el cáncer rectal en comparación con el cáncer de colon (10). Según un meta análisis, el riesgo de cáncer de colon y recto entre los pacientes con diabetes mellitus fue aproximadamente 38% y 20% superior al de los pacientes no diabéticos, respectivamente (12).

## Factores genéticos

Del 70-80% de casos de CCR son esporádicos, mientras que alrededor del 20-30% de CCR tienen un componente hereditario, ya sea debido a síndrome de susceptibilidad, poco frecuentes pero de alto riesgo, como el síndrome de Lynch (SL) (3-4%) y la poliposis adenomatosa familiar (PAF) (~ 1%) (13); o por alteraciones más comunes pero de bajo riesgo. Un pequeño subconjunto, de 1-2% de los casos de CCR surge como consecuencia de enfermedades inflamatorias intestinales (14).

El CCR no es una enfermedad homogénea, por lo que se intenta clasificar en diferentes subtipos, según sus características moleculares, clínicas y morfológicas. Una importante característica del CCR es la inestabilidad genética que puede surgir por, al menos, dos diferentes mecanismos. De los casos de CCR esporádico, el 85% surgen por inestabilidad cromosómica y un 15% por inestabilidad de microsatélites.

En la carcinogénesis vía inestabilidad cromosómica, están incluidos la poliposis adenomatosa familiar y el 85% de los cánceres colorrectales esporádicos; en la ruta de la hipermutabilidad, estarían incluidos el CCHNP y un 15% de los cánceres colorrectales esporádicos.

La **inestabilidad cromosómica** se origina con la segregación anormal de cromosomas y ocasiona aneuploidía. Tanto la pérdida de heterocigosidad como mutaciones puntuales en los genes pueden producir la pérdida de la función de genes supresores de tumores como el APC (*Adenomatous polyposis coli*) o DCC (*Deleted in colorectal carcinoma*). Además de conocer las alteraciones cromosómicas, éstas deben suceder en un orden cronológico concreto. El acúmulo de alteraciones en genes supresores de tumores conduce a la progresión adenoma-carcinoma (vía supresora, ver Figura 4).

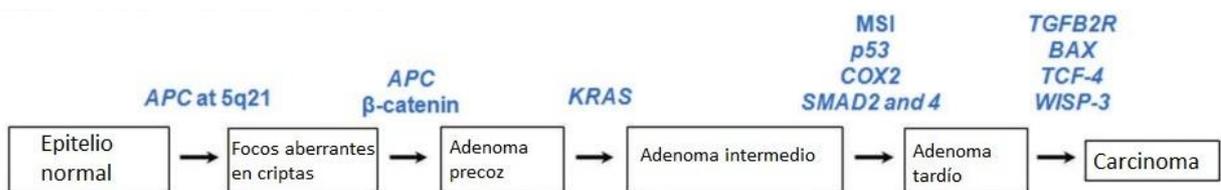


Figura 4. Mutaciones y cambios histológicos de la secuencia adenoma-carcinoma (adaptado de Matkowskyj) (13).

Se cree que la pérdida de la función del gen APC es precoz en esta secuencia, favoreciendo la

aparición de nuevas anomalías. Conforme el adenoma aumenta en tamaño y displasia, se van sumando nuevas alteraciones genéticas, como las mutaciones en el oncogén K-RAS o la pérdida de la función de DCC. Uno de los cambios tardíos es la pérdida de la función de p53, que se supone que es el que conduce a la formación del carcinoma.

La vía de la **inestabilidad de microsatélites** se origina en la pérdida de la función de los genes reparadores del ADN. El genoma está continuamente siendo agredido por múltiples causas y mantener su homeostasis es complejo. Algunos de estos errores, como los producidos en nucleótidos únicos son corregidos por un “sistema de reparación por escisión de bases”. Otra forma de producirse errores en el ADN es mediante del desapareamiento de nucleótidos (*mismatch errors*); estos pueden ocurrir durante el proceso habitual de replicación del ADN pero suelen ser rápidamente reparados por el “sistema de reparación de desapareamientos (*mismatch*) del ADN”. Cuando alguno de estos sistemas de reparación del ADN no actúa correctamente se produce un fenotipo mutador el cual produce mutaciones deletéreas en genes diana que controlan el crecimiento celular y la proliferación. Uno de estos errores es lo que subyace en el caso del CCHNP (15). Uno de los sistemas, el llamado *mismatch repair* (MMR), está compuesto por proteínas que detectan alteraciones en el apareamiento de las bases, las escinden y las corrigen. Las mutaciones de los genes que codifican estas proteínas ocasionan un acúmulo de errores en la replicación del ADN, aumentando la probabilidad de que alteren genes reguladores del ciclo celular e iniciando o promoviendo la carcinogénesis. Los defectos en este sistema de reparación del ADN se identifican por un aumento de presencia de inestabilidad de microsatélites. Al igual que en los genes supresores de tumores debe existir una alteración (mutación, pérdida del alelo o metilación) en ambos alelos para que se manifiesten.

Los genes de reparación del sistema MMR más conocidos son MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, PMS1, PMS2 y MYH. En cuanto a los genes que más se encuentran mutados podemos decir que hMLH1 y hMSH2 ocupan el 90% de las mutaciones mientras que el 10% restante lo completan las mutaciones existentes en hMSH6. La inactivación de los genes hMLH1 y hMSH2 se expresa en los tumores como IMS de alto grado.

## CLASIFICACIÓN MOLECULAR

La distinción anatómica entre colon y recto se queda obsoleta al comprobar la heterogénea evolución y respuesta a los tratamiento quirúrgicos y oncológicos. La mayoría de los investigadores dividen tradicionalmente el CCR en aquellos con inestabilidad de microsatélites (IMS) (que se encuentra principalmente en el colon derecho y frecuentemente asociado con el fenotipo de isla CpG methylator (CIMP) y la hipermutación); y los que son de microsatélites estables (MSS), pero cromosómicamente inestable (CIN). Sin embargo, numerosas investigaciones han puesto de manifiesto la implicación de varios genes críticos y de vías importantes tanto para la generación de la neoplasia como para su progresión.

A pesar de esto, no se ha tenido hasta la fecha una visión integral de los subtipos genéticos y genómicos en el CCR y su implicación en la carcinogénesis y en el pronóstico. En un intento de mayor comprensión de la fisiopatología y con intención de identificar posibles dianas terapéuticas, el proyecto del *Cancer Genome Atlas* (TCGA), intentó crear diferentes subtipos genómicos de CCR (16). Más recientemente, Dienstmann y colaboradores, crearon una clasificación consenso molecular en cuatro subtipos moleculares (CMS) con características distintas (17). (Figura 5)

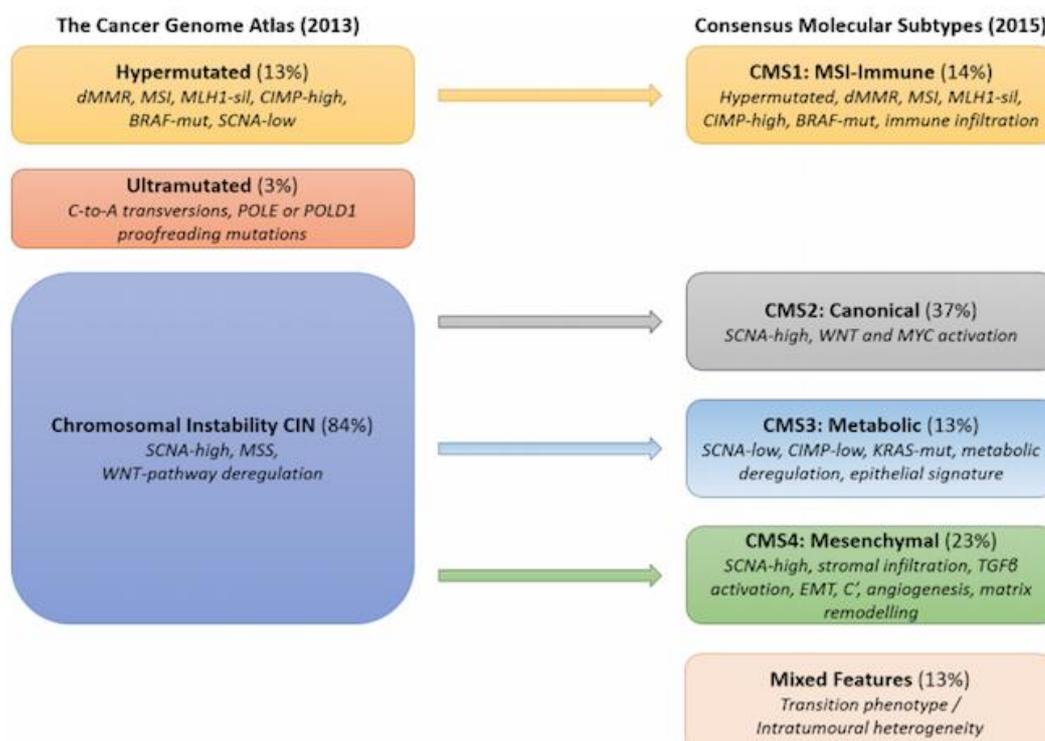


Figura 5. Subtipos genómicos en CCR. Adaptado de Müller y colaboradores (18)

Las características distintivas de estos CMS diferenciados por Dientsmann et al. (17) se recogen en la Tabla 1. Hay un subgrupo ( 13% de las neoplasias) que presenta características mixtas como representación de un fenotipo de transición o de heterogeneidad intra-tumoral.

Tabla 1: Características distintivas de los CMS diferenciados por Dientsmann et al (17) :

Subtipo	Carcinogénesis	Mutación inicial	Lesión precursora	Histología	Mutación	Firma funcional	Pronóstico
<b>CMS1 MSI Inmune 14%</b>	Sdr. Lynch	MLH1,MSH2,MSH6	Adenoma clásico	Medular , mucinoso, cel. anillo sello	BRAF, APC, TP53, KRAS	Respuesta Inmune; Activación de PD1	Mala supervivencia tras recaída
	Ruta Serrada desde MSI	BRAF>KRAS	Adenoma serrado sesil	Reacción linfoide, reacción Crohn like			
<b>CMS2 canonical 37%</b>	Secuencia clásica adenoma-carcinoma	APC	Adenoma clásico	Adenocarc. NOS G1/G2. Tubular	APC,TP53, KRAS.	WNT y MYC dianas	Buena supervivencia tras recaída
<b>CMS3 metabólico 13%</b>	Ruta Serrada desde MSS	KRAS>BR AF	Adenoma serrado y vellosos	Serrado, mucinoso, micropapilar	KRAS, APC, TP53, BRAF	Metabólico, disregulación epitelial	
<b>CSM4 mesenquima 123%</b>	Secuencia clásica adenoma-carcinoma	APC, TP53	Adenoma clásico	Adenocarcinoma NOS G3	APC, TP53, KRAS, BRAF,	Activación EMT y TGFb, Mesenquimal	Mala SG y SLE
<b>Indefinido 13%</b>							

## ESTADIFICACIÓN LOCOREGIONAL.

La correcta indicación del tratamiento viene basada en una cuidadosa estadificación locorregional en el momento del diagnóstico. La estadificación del cáncer de recto, como la mayoría de neoplasias, sigue las reglas generales del sistema TNM de la *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), que para la descripción de la extensión anatómica de la enfermedad se basa en la evaluación de tres componentes: **T** – La extensión del tumor primario; **N** – La ausencia o presencia y extensión de las metástasis regionales linfáticas y **M** – La presencia o ausencia de metástasis a distancia.

La estadificación clínica (cTNM) es la herramienta que orientará en la toma de decisión del abordaje terapéutico, de manera que nos permite identificar los tumores localmente avanzados

que necesitan terapia neoadyuvante. Se ha propuesto añadir el prefijo “ct” o “mr” al estadio TNM si se ha utilizado la TC o la IRM, respectivamente.

El estadio patológico definitivo (pTNM) se determina tras la cirugía y el examen anatomopatológico del espécimen quirúrgico. En estos casos, se recomienda añadir el prefijo “y” al estadio pTNM (ypTNM) para diferenciarlos de aquellos que han sido sometidos directamente a resección quirúrgica sin ningún tipo de terapia neoadyuvante (pTNM).

Las modalidades de imagen involucradas en la estadificación local y distante del cáncer rectal son los siguientes: ecografía endorrectal (EER), IRM, tomografía computarizada (TC) y la tomografía de emisión de positrones (PET-TC). El TC con contraste de tórax, abdomen y pelvis se debe realizar para evaluar la posible diseminación a distancia al diagnóstico de la enfermedad. El coste y la falta de disponibilidad en todos los centros del PET-TC limita su papel a la segunda modalidad de elección, cuando los resultados de TC o IRM son ambiguos o en la evaluación de la extensión a distancia del tumor. Hay mucha controversia sobre la utilidad de PET-TC para evaluar respuesta al tratamiento; sin embargo, la combinación de diferentes pruebas de imagen incluidas el PET-TC tiene cabida en la evaluación de la recaída de la enfermedad, a nivel local o a distancia (4).

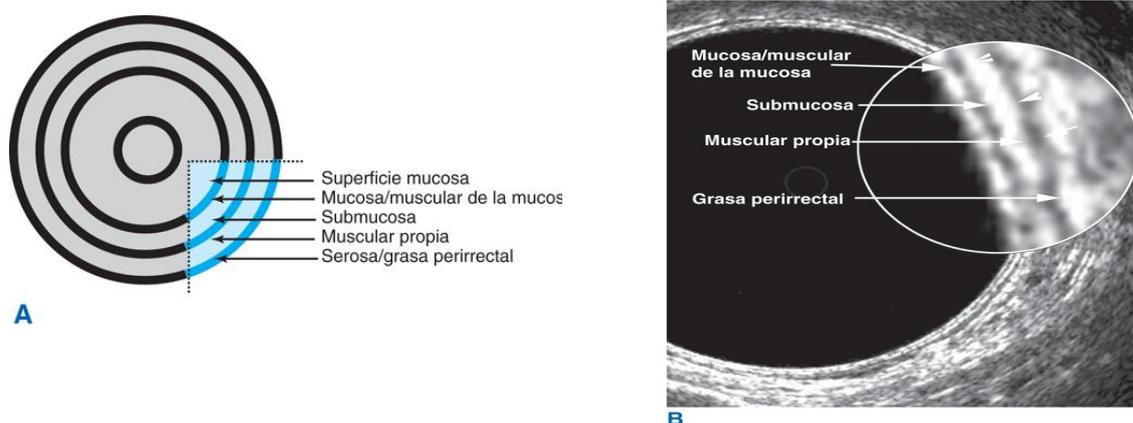
La EER y la IRM pélvica se consideran herramientas diagnósticas complementarias en la estadificación del cáncer de recto. En la práctica, se recomienda la realización de ambos procedimientos para maximizar la información sobre el estadio T y N, así como la presencia o no de afectación de la fascia mesorrectal, fundamental a la hora de seleccionar a aquellos pacientes que se pueden beneficiar de un tratamiento neoadyuvante.

### **Ecografía endorrectal (EER)**

La EER se considera la técnica de imagen de elección para determinar el grado de infiltración transmural en los tumores iniciales (uT1-uT2), y puede ayudar a identificar aquellos en los que una resección local pueda ser apropiada o no sea necesario un tratamiento preoperatorio (19). Tiene el inconveniente de que no se puede utilizar en tumores estenosantes o de tercio superior, y hay que tener en cuenta que la realización de una EER requiere de una curva de aprendizaje y será poco precisa en manos inexpertas. Hay datos muy variables en cuanto a su precisión, debido también al limitado campo de visión del tumor respecto la fascia mesorrectal..

La EER permite determinar la profundidad de infiltración mesorrectal, diferenciando entre los tumores T3 más iniciales y los avanzados.

Figura 6: Modelo de interpretación de EER. A: esquemático; B referenciado sobre EER normal. (20).



### IRM pélvica.

De manera global, la IRM es la técnica óptima para la estadificación locorregional del cáncer de recto. Varios meta-análisis y revisiones han comparado diferentes técnicas de estadificación para T y N, debiendo interpretar con cautela algunos resultados ya que se trata de meta-análisis realizados con técnicas de baja resolución (19 y 21). La mayoría muestra una adecuada concordancia entre las diferentes técnicas de estadificación. En un meta-análisis con técnicas de baja resolución y técnica de IRM anticuada, la EER se muestra mejor para definir la invasión de la muscular propia y distinción entre T1 y T2, con una especificidad del 86% , comparada con la sensibilidad de un 69% para la IRM (19). Sin embargo, las nuevas técnicas de IRM de alta resolución, han demostrado ser mejores para diferenciar afectación tumoral de 1mm de profundidad (21). Ambas técnicas no son excluyentes y en pacientes con lesiones T1 y T2 se recomienda la realización de ambas, ya que la IRM puede sobreestadificar. Una de las dificultades estriba en distinguir entre tumores T2 y T3, cuya diferencia está en la invasión de la grasa mesorrectal. En la TABLA 2 se resumen las revisiones y meta-análisis con mayor número de casos.

Tabla 2: Resumen de la sensibilidad y especificidad alcanzada en la estadificación del CRLA por las principales pruebas de imagen. Adaptado del Segundo Consenso St Gallen sobre tratamiento de cáncer de recto publicado en 2016 (5)

	Estadificación T				Estadificación N			
<b>IRM (22)</b>	Estadificar T		Afectación MRC				N	
	S	E	S	E			E	S
	87%	75%	77%	94%			71%	77%
<b>EER (23)</b>	T2		T3		T4			
	S	E	S	E	S	E		
	81%	96%	96%	91%	95%	98%		
<b>EER vs IRM vs TC (19)</b>	T2		T3		T4		N	
	S	E	S	E	S	E	S	E
<b>EER</b>	94%	86%	90%	75%	67%	78%	67%	78%
<b>IRM</b>	94%	69%	82%	76%	66%	76%	66%	76%
<b>TC</b>	-	-	79%	78%	55%	74%	55%	74%

MRC: Margen de resección circunferencial, IRM: Imagen por Resonancia Magnética; EER: ecografía endorectal, TC: tomografía computerizada; S: sensibilidad; E: Especificidad

### **Extensión a mesorrecto**

Diferentes autores han descrito la importancia pronóstica de la extensión de la invasión mesorrectal. Un estudio realizado por Merkel et al. demostró que aquellos pacientes con una diseminación extramural mayor de 5 mm tenía una supervivencia a 5 años del 54%, comparado con un 85% cuando la diseminación extramural era menor a 5 mm (24). La subclasificación de los tumores T3 (T3a/b  $\leq$ 5mm vs. T3c/d  $>$ 5mm) (Tabla 3) tiene valor pronóstico y ha sido validada en el ensayo clínico (EC) prospectivo MERCURY, observando una concordancia entre la estadificación clínica con IRM de alta resolución y el estudio de la pieza quirúrgica (25). Aquellos tumores con mayor invasión mesorrectal ( $>$ 5mm) tenían una menor supervivencia, independientemente de si había o no afectación ganglionar. Estos estudios ponen de relieve la

importancia que tiene identificar aquellos tumores de peor pronóstico con mayor penetración mesorrectal, en los que un tratamiento preoperatorio puede reducir el tumor y mejorar la supervivencia.

Tabla 3: Subcategorías T3 (26)

<b>T3a</b>	<b>extensión más allá de muscular propia menor de 1 mm</b>
<b>T3b</b>	extensión 1-5mm más allá de muscular propia
<b>T3c</b>	extensión 5-15mm más allá de muscular propia.
<b>T3d</b>	extensión de más de 15mm más allá de muscular propia

### **Margen circunferencial**

La principal ventaja de la IRM con respecto a la EER es que permite definir la relación entre el tumor y fascia mesorrectal. La afectación del margen de resección patológico empeora el pronóstico de manera significativa en términos de recidiva local (RL) y supervivencia global (SG). Al comparar la medida de la distancia del tumor a la fascia mesorrectal determinada mediante IRM con la medida obtenida en el estudio histopatológico, la precisión de predicción es del 92-95% (25). El estudio multicéntrico prospectivo MERCURY demostró que la IRM pélvica es la mejor prueba de imagen para predecir la afectación de la fascia mesorrectal y que el valor predictivo de un margen negativo está entre el 93 y el 97% (25). De los 408 pacientes que fueron intervenidos quirúrgicamente de un cáncer de recto, el margen fue predicho correctamente en 327, con una especificidad del 92%. Este estudio demostró que es posible predecir un margen patológico negativo a partir de una distancia mayor de 1 mm en la IRM. En tumores de recto inferior, permite valorar la infiltración de los esfínteres con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98%, lo cual puede ser importante para plantear una cirugía preservadora de esfínteres (CPE).

### ***Afectación ganglionar y depósitos tumorales.***

Los cambios morfológicos como intensidad de señal heterogénea y bordes capsulares irregulares, son buenos predictores de afectación metastásica a nivel ganglionar. Algunas estructuras nodulares pueden representar depósitos vasculares, fenómeno que en la histología es difícil determinar si se trata de rotura capsular de adenopatía afecta por tumor o depósito tumoral. La IRM de alta resolución permite identificar depósitos tumorales a lo largo de venas

infiltradas y diferenciarlo de la invasión venosa extramural (IVEM), siendo clasificados según la estadificación TNM actual, en estadio N1c (26).

### ***Invasión venosa Extramural (IVEM)***

La IRM pélvica permite también identificar la presencia de invasión venosa extramural (IVEM) con gran precisión, la cual es un factor pronóstico adverso para la SG y RL, independientemente del estadio tumoral y es un factor predictor de recaída sistémica y local. En pacientes con estadio II patológico con IVEM, la supervivencia es similar a los pacientes con estadios III (26).

### ***Requerimiento técnicos mínimos recomendados***

En la Segunda reunión Consenso de St Gallen sobre controversias en el tratamiento inicial de cáncer de recto (5), se enumeraron los requisitos técnicos mínimos de la IRM y la información mínima que debe incluirse en los informes de estadificación pretratamiento. Se resumen a continuación:

- Sistema **1,5 ó 3 Tesla con antenas multicanal** (“*phase array coil*”)
- **Secuencias** rápidas para localización / planificación inicial
- Imágenes **T2W** en alta resolución: voxel mínimo de 1.1 mm<sup>3</sup>, por ejemplo planos de 3 mm de espesor, con una resolución en plano de 0.5-0.8 mm.

Protocolo de escaneado:

- **Secuencia FAST/TURBO echo T2W** sagital para identificar el tumor
- **Secuencias** axiales de campo grande (**FOV**) de toda la pelvis
- Imágenes axiales **T2** de alta resolución del tumor y tejidos adyacentes (perpendicular al eje recto largo en el nivel del tumor).
- Evaluación de los ganglios linfáticos: imágenes axiales de alta resolución del borde del tumor superior hasta L5 / S1.
- Tumores bajos: imagen coronal **T2** de alta resolución de los músculos elevadores, complejo esfínteres y su relación con la pared rectal
- Lesiones sésiles / pólipos: series sagitales **T2** de alta resolución

Interpretación y presentación de informes:

- Técnica, resolución, calidad
- Altura del tumor (desde el borde anal)
- Descripción del tumor:
  - Tamaño
  - Ubicación circunferencial
  - Estadío T
  - Profundidad de infiltración más allá de la muscular propia (mm)
- Descripción afectación ganglionar:
  - Ubicación (perirrectal, pelviano)
  - Número
  - Descripción (tamaño, intensidad de señal, borde irregular)
  - Distancia del tumor y MRF
- Invasión vascular extramural
- Estatus MRC (distancia a MRF <1 mm)

A continuación se muestran imágenes tipo de estadificación cT, cN e IVEM de algunos casos de nuestros pacientes.

Imagen 1: Estadificación tumoral clínica por Resonancia T3b

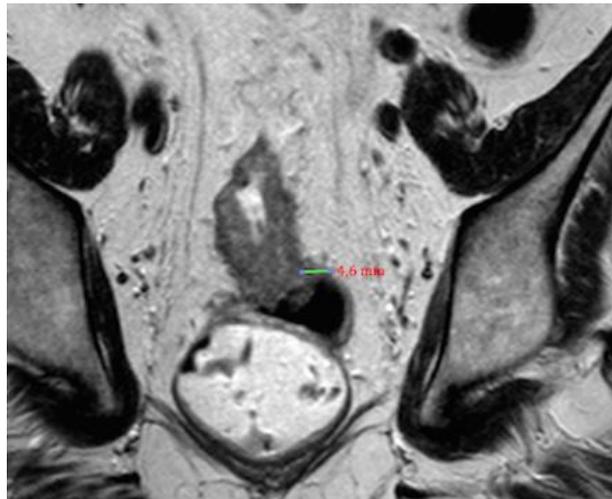


Imagen 2: Estadificación clínica tumoral por Resonancia T4b

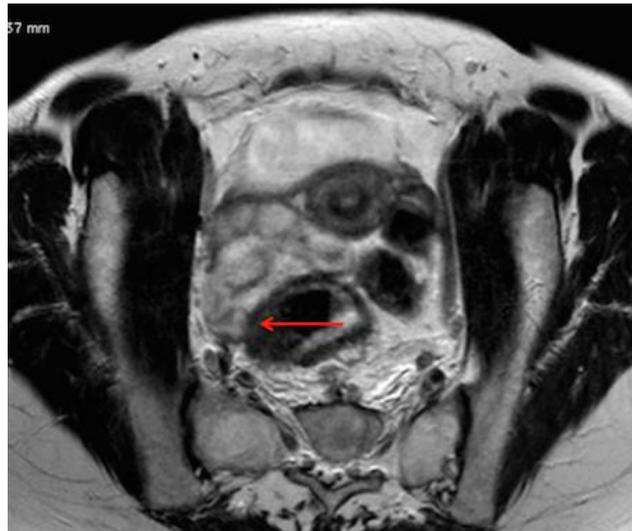


Imagen 3: Distancia hasta el MRC



Imagen 4: Estadío ganglionar N2

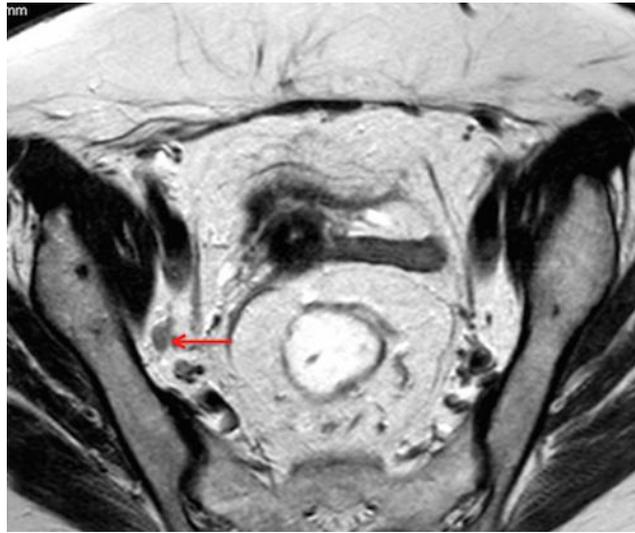
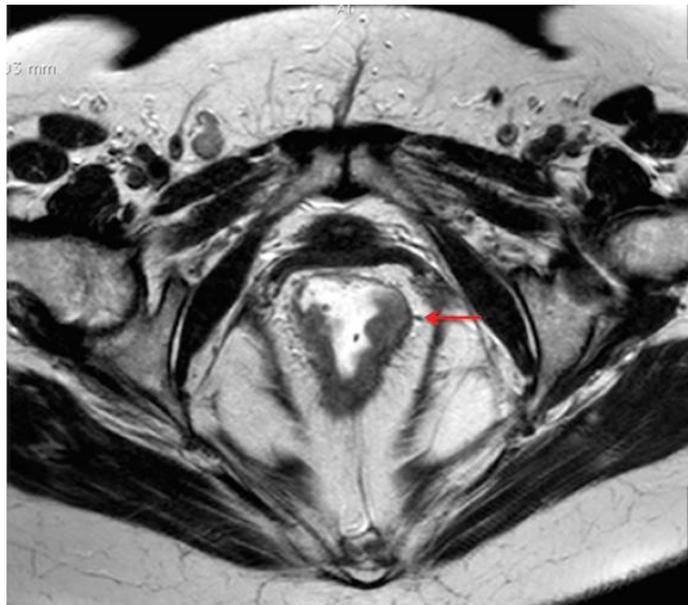


Imagen 5: IVEM de vaso pequeño



### ***Papel de IRM en la reevaluación***

Diferentes técnicas de IRM han sido propuestas como herramienta para la evaluación de la respuesta tumoral; una de ellas es la adaptación mr RECIST, que se basa en la medición objetiva del cambio de longitud cráneo-caudal de la enfermedad tumoral medible. Basadas en la directrices actualizadas RECIST 1.1, debe ser una reducción del 30% para que se considere una respuesta parcial. Sin embargo, no se ha establecido su validación en órganos luminales como el recto (27). Una técnica sugerida es el análisis volumétrico de la IRM, pero no existe todavía validación de la técnica ni de los valores de corte exactos para considerar una respuesta favorable según cambios volumétricos en el pre y post tratamiento.

Se ha propuesto también un sistema de clasificación del grado de regresión por IRM que supone una adaptación de la clasificación de Mandard del grado de respuesta tumoral histopatológico (GRT). En un trabajo que comparaba la estadificación mediante EER y IRM pélvica con la estadificación patológica, se observó una concordancia entre la estadificación patológica y la IRM pélvica en un 94% de los casos, mientras que con la EER era del 65%(28).

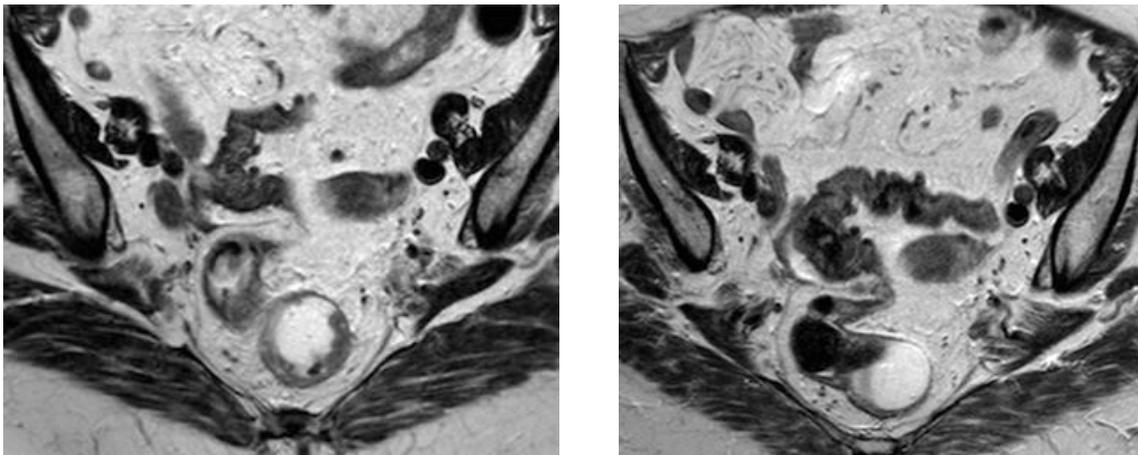


Imagen 6: Respuesta completa radiológica de neoplasia de tercio superior

## **ESTADIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL CÁNCER DE RECTO.**

El estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica permite clasificar al paciente por estadios y obtener una clasificación pronóstica, además de determinar la necesidad de un tratamiento adyuvante. Debe incluir la clasificación TNM, así como otra información de importancia pronóstica no incluida en esta clasificación, como el MRC, infiltración linfocelular y perineural, así como el grado de diferenciación histológica. La clasificación TNM, incluye el estadio T , midiendo la distancia máxima de diseminación desde la *muscularis propia* y el estadio N , siendo esencial que el patólogo describa todas las adenopatías localizadas y que éstas sean al menos en un número no inferior a 12, aunque en ocasiones, tras el tratamiento neoadyuvante es compleja su localización. El patólogo debe describir también la calidad del mesorrecto , siendo la calidad macroscópica del mesorrecto un reflejo de la calidad de la cirugía, Los pacientes con mesorrecto íntegro, presentan menor tasa de RL y recidiva sistémica (RS) (29). El margen de resección circunferencial (MRC) es un plano de disección creado quirúrgicamente durante la resección del recto y las estructuras que lo rodean. La afectación de los márgenes de resección en la pieza quirúrgica aumenta el riesgo de recaídas locales y/o a distancia, independientemente de si el paciente ha recibido o no tratamiento preoperatorio (29). La definición de tumor residual está incluida en la clasificación TNM desde 1987. Las definiciones empleadas son: afectación tumoral macroscópica de los márgenes de resección (R2), microscópica (R1) o ausencia de afectación (R0). El MRC es el predictor más importante de RL y RS, así como de mortalidad. Se considera margen afecto a aquellos tumores hasta 1 mm del MRC. El objetivo más importante del tratamiento de QTRT neoadyuvante en el CRLA será conseguir un margen de resección libre en la pieza quirúrgica.

El tratamiento con nQTRT provoca la aparición de áreas de marcada fibrosis e inflamación, pudiendo asociar calcificaciones y mucina. Puede provocar la regresión completa del tumor, conocido como respuesta completa patológica. La mayoría de las veces la regresión no es completa y puede ser compleja la diferenciación entre áreas de fibrosis o de resto tumoral. La estadificación TNM tras un tratamiento neoadyuvante es igual, solo que se incluye el prefijo “y” para saber que esa estadificación patológica es tras un tratamiento neoadyuvante. La detección de adenopatías metastásicas en una pieza quirúrgica tras un tratamiento neoadyuvante es un factor pronóstico muy desfavorable, ya que indica resistencia tumoral al

tratamiento y confirma su capacidad de metastatizar a los ganglios linfáticos. Desde que se realiza la ETM, la presencia de adenopatías no indican riesgo de RL , sino de RS (30). El número de ganglios aislados en pacientes tras tratamiento neoadyuvante sele ser menor que en pacientes sin tratamiento previo.

### **Grado regresión tumoral histopatológica**

En el CRLA, el uso de la quimiorradioterapia neoadyuvante reduce la recurrencia locorregional y mejora el pronóstico según el grado de regresión tumoral. Después de la cirugía curativa con ETM, la extensión tumoral a través de la pared rectal (pT), la extensión a los ganglios locorregionales (pN) y el estatus del margen de resección circunferencial (MRC) constituyen los principales factores pronósticos de estos pacientes, siendo el grado de regresión un factor pronóstico independiente para la supervivencia libre de enfermedad (3) (31) (32).

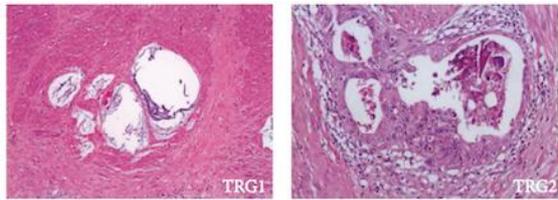
Varios estudios han demostrado que el resultado clínico depende no sólo de la etapa inicial del tumor al diagnóstico, sino también de la respuesta tumoral inducida por nQTRT, que es variable entre los pacientes. La respuesta tumoral a la QTRT neoadyuvante puede inducir citorreducción y *downstaging* de la lesión y puede también causar cambios histológicos que pueden ser evaluados por diferentes escalas de regresión tumoral. La regresión tumoral puede variar desde cero evidencia de respuesta al tratamiento, hasta la ausencia de células tumorales viables, que se conoce como respuesta patológica completa (yRCP). Los pacientes con yRCP después de la quimiorradiación tienen mejores resultados a largo plazo que aquellos sin RCP. Sin embargo, la respuesta completa supone menos de un tercio de los pacientes tratados, presentando la mayoría una respuesta parcial o nula. En una revisión de 27 artículos basados en 17 bases de datos diferentes, con más de tres mil pacientes tratados con QTRT y ETM, se observó cómo aquellos pacientes que alcanzaron una RCP tenían una SLE a 5 años del 83,3%, mientras que en los pacientes sin RCP era de un 65,6% (33).

No existe un sistema único consensuado de clasificación de regresión tumoral tras neoadyuvancia para los patólogos. Existen varias escalas, la mayoría tienen entre 3 y 5 niveles de respuesta permitiendo la creación de grupos según las respuestas. El sistema de Mandard, tiene cinco niveles de respuesta y es el utilizado con mayor frecuencia, junto con el de Dworak, habiendo sido el utilizado en numerosos estudios para confirmar el valor pronóstico

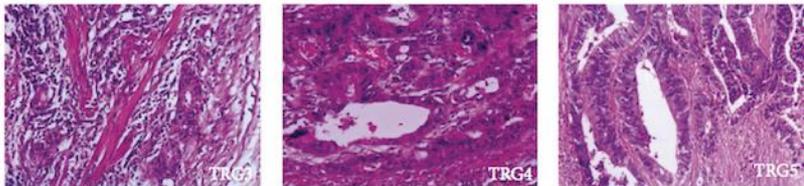
del grado de respuesta tumoral (32). En una revisión sistemática sobre todos los estudios realizados hasta diciembre de 2015 que incluían escalas histopatológicas o de imagen de IRM para definir la respuesta a nQTRT, se identificaron hasta 19 escalas de GRT, con 16 definiciones de mal respondedores y 12 definiciones diferentes de buen respondedores. Tras el estudio comparativo de las tasas de SG, SLE, RL y RS, se consensuó que las categorías Mandard 1 y 2 y la categoría Dworak 3-4 se utilizarían para determinar el grupo de paciente buen respondedores; y las categorías 3 a 5 de Mandard y 0 a 2 de Dworak, para definir el grupo de pacientes mal respondedores (34).

Tabla 4: Clasificación de Mandard, adaptado de Santos et al (35).

Mandard Buen respondedor (GRT1 + GRT2)



Mandard Mal respondedor (GRT 3 + GRT4 + GRT5)



<b>Sistema Mandard de Grado de Regresión Tumoral (GRT)</b>	
<b>GRT1</b>	No hay células tumorales viables. Respuesta Completa.
<b>GRT2</b>	Células aisladas o pequeños grupos de células cancerígenas.
<b>GRT3</b>	Cáncer residual rodeado de fibrosis.
<b>GRT4</b>	Significativa fibrosis rodeada por tumor.
<b>GRT5</b>	No hay fibrosis, cáncer residual extenso.

## MARCADORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

### Marcadores pronósticos

El marcador pronóstico de SG y SLE más importante en CRLA es el estadiaje patológico final tras el tratamiento neoadyuvante. Los pacientes que tras un tratamiento neoadyuvante alcanzan un RCP presentan mejor pronóstico que aquellos en los que queda tumor residual. De la misma manera, el pronóstico no es el mismo si el tumor residual es mínimo o si persiste el tumor sin variación pese al tratamiento (36). Por ello, se utiliza un sistema de gradación del residuo tumoral, pudiendo clasificar los pacientes en diferentes grupos de respuesta tumoral y por tanto en diferentes grupos pronósticos. Dentro de la clasificación ypTNM, el número de adenopatías afectas, es uno de los marcadores pronósticos más importantes. Recientemente se ha incorporado el uso del LNR (*lymph node ratio*, la ratio de adenopatías afectas del total analizado) observando que es un predictor de SG, SLE y supervivencia específica por cáncer y de pronóstico, superior al valor absoluto de adenopatías afectas (37). Sin embargo, en aquellos pacientes que proceden de un tratamiento con nQTRT, se está cuestionando la necesidad de alcanzar las 12 adenopatías estudiadas para poder realizar un estadiaje fiable, ya que es frecuente no alcanzar dicha cifra tras un tratamiento neoadyuvante, sin que se haya visto que esta peor cuantificación de adenopatías suponga una peor supervivencia o infraestadificación (38).

En diversos estudios tanto la infiltración linfovascular (39), como la invasión perineural, están asociadas a un peor pronóstico en análisis multivariante. De igual forma, la afectación de márgenes distales por tumor residual, objetivado tras el análisis de la pieza quirúrgica como R0 (márgenes sin tumor residual), R1 (afectación microscópica de márgenes) o R2 (afectación macroscópica de márgenes), tiene significado pronóstico en cuanto a SLE.

La calidad de la técnica quirúrgica y el status del margen de resección circunferencial (MRC) es uno de los factores predictivos más importantes para la SLE y la SG (29). La distancia mínima entre el margen más profundo del tumor y el MRC debe ser mayor o igual a 1mm. Cuando dicho margen está afecto y el paciente no ha recibido tratamiento neoadyuvante, es una indicación para administración de RT postoperatoria (29).

Dentro de los parámetros clínicos, destacan con valor pronóstico la presentación con obstrucción o perforación tumoral y el valor de CEA al diagnóstico. La obstrucción y/o

perforación tumoral, se asocia en la mayoría de los trabajos con un peor pronóstico. Aunque la mayoría de los trabajos concluyen que la oclusión y/o perforación tumoral es un factor predictivo independiente de peor supervivencia, en los análisis multivariantes algunos trabajos concluyen que la necesidad de una cirugía urgente por la obstrucción/perforación tumoral es debida a que presentan un perfil histopatológico más desfavorable (tumor de mayor tamaño, histología de mal pronóstico..) que aquellos casos que alcanzan una cirugía electiva.

El valor preoperatorio de niveles de CEA tiene valor pronóstico mostrado en diversos estudios. Un valor preoperatorio elevado se ha asociado con incremento del riesgo de mortalidad específica en cáncer de colon y peor respuesta patológica (40).

### **Biomarcadores Predictivos**

Un biomarcador se puede definir como una sustancia cuantificable de manera objetiva que puede ser usado como indicador de un estado biológico o patológico. Aplicado al proceso de una enfermedad, un biomarcador puede ser utilizado para detectar la enfermedad, predecir la respuesta a un tratamiento o el pronóstico. Un biomarcador debe ayudar a orientar el tratamiento asistencial, mejorar la calidad de vida o la esperanza de vida para poder decir que es útil en la práctica clínica. De esta manera, el comité británico *Cancer Research UK Biomarker Discovery and Development Committee*, ha definido “biomarcador predictivo” como aquel biomarcador que puede identificar a un subgrupo de pacientes con mayor o menor posibilidad de responder a una terapia específica.

### **BIOMARCADORES PREDICTIVOS MOLECULARES**

#### **P53**

Uno de los marcadores más estudiados es el gen supresor de tumor p53. Desempeña un papel vital en la regulación del ciclo celular (controla el ciclo celular desde la fase G1 hasta la S) y es importante para la estabilidad genética, la proliferación celular, apoptosis en caso de daño de DNA, y la inhibición de la angiogénesis. El gen p53 está frecuentemente mutado o inactivado en el 60% de los tumores. En el cáncer de recto su tasa de mutación es del 40-60%. Estudios previos han demostrado que la expresión nuclear de p53 en el cáncer rectal es predictivo de fracaso del tratamiento con resistencia a la quimiorradioterapia preoperatoria (41).

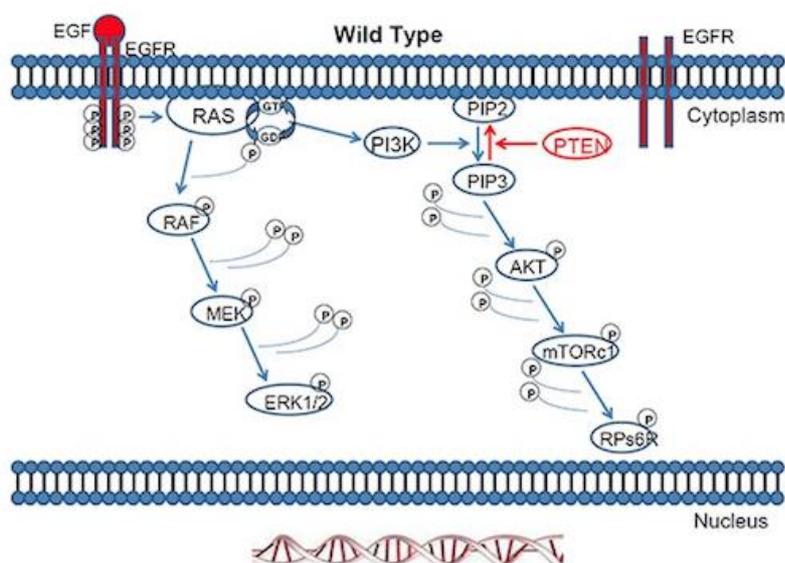
Son más de 20 los estudio publicados en este contexto, y en 17, no se encontraron ninguna correlación entre la expresión de p53 y la respuesta al tratamiento o la supervivencia. De estos estudios negativos, los realizados en un mayor tamaño muestral son los de Chen et al (42) (n = 130) y Bertolini, et al. (43) (n = 91).

#### MUTACIONES DEL ADN EN LA VÍA RAS-MAPK

Tres son los genes ras: H, K y N-ras, expresados en todos los tejidos y tipos de células aunque en distintas proporciones. Los tres genes Ras codifican para cuatro proteínas (H-Ras, K-Ras4A, K-Ras4B y N-Ras).

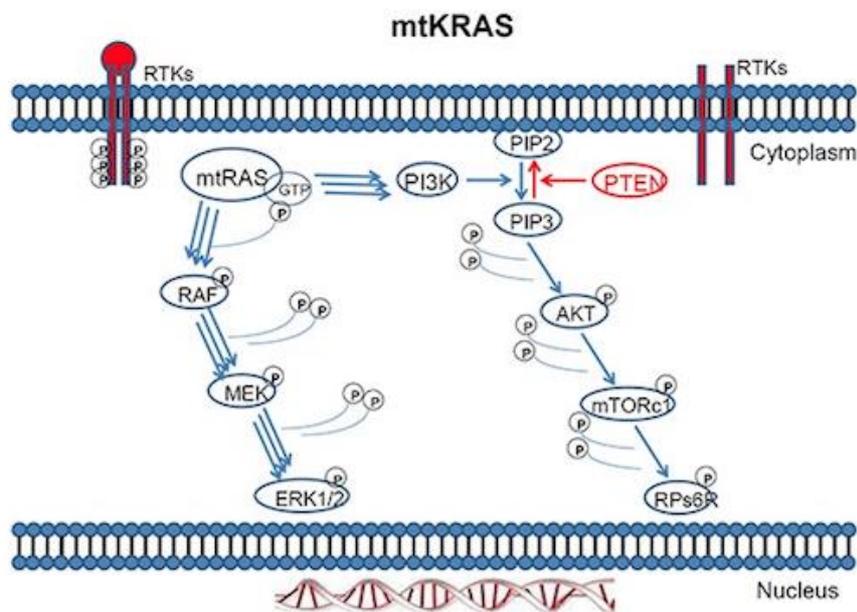
Las proteínas Ras unen nucleótidos de guanina y actúan como interruptores moleculares. En función del nucleótido unido, estas proteínas ciclan entre un estado inactivo, unidas a GDP (difosfato de guanosina), y un estado activado, al intercambiar el GDP por GTP. En condiciones normales, el ciclo activación-desactivación está íntimamente controlado por, al menos, dos tipos de proteínas: factores de intercambio, que catalizan el intercambio GDP a GTP, y proteínas GAPs (*GTPase activating proteins*) potenciadoras de la actividad GTPasa de Ras. En el caso de las proteínas Ras oncogénicas, éstas llevan mutaciones, generalmente en los codones 12 o 61, que suprimen su sensibilidad hacia las GAPs, manteniéndolas siempre unidas a GTP y por tanto constantemente activadas.

Figura 7: Vía Ras Wild Type. La vía Ras / Raf / MEK / ERK y la vía Ras / PI3K / PTEN / mTOR son activadas por factores externos tales como factores de crecimiento y mitógenos



Mediante este mecanismo de alternador molecular, las proteínas Ras regulan un amplio espectro de funciones celulares esenciales, entre las que se encuentran la supervivencia, proliferación y diferenciación. Activado RAS, recluta y activa las proteínas necesarias para la propágación del factor de crecimiento y otras señales receptoras, como RAF y PI3K (44)

Figura 8: KRAS mutado, activa dos vías, la MAPK y PI3K. De (44)



El gen de Kras se encuentra localizado en el brazo corto de cromosoma 12 y se compone de 6 exones. Aproximadamente el 40% de los CCR presentan activación de las mutaciones *missense* en KRAS (según la base de datos COSMIC, *the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*, informa de un 36% (45), mientras que TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) informa de un 42% de las mutaciones KRAS (16). Estas mutaciones afectan *hotspots* en los codones 12 y 13, dentro del exón 2, (80% de todas las mutaciones KRAS, de éstas G12D> G12V> G13D> G12C> G12A), el codón 61, dentro del exón 3, (4% de todas las mutaciones KRAS, de éstas son Q61H> Q61L> Q61R) y codón 146 dentro del exón 4 (1-2% de todas las mutaciones KRAS, en su mayoría A146T y A146V). Además, las mutaciones adicionales en KRAS en diversas posiciones (por ejemplo, 68, 117) están catalogadas en las bases de datos, aunque su impacto funcional sobre la función de la proteína KRAS no es conocido. (46)

El NRAS (Neuroblastoma *RAS viral oncogene homolog*), como todos los genes de la familia Ras codifican unas proteínas G monoméricas con actividad GTP hidrolasa, que puede presentar dos conformaciones: activa unida a GTP o inactiva unida al GDP. Este gen está localizado en el brazo corto del cromosoma 1. El gen NRAS contiene 7 exones que da lugar a diferentes transcritos. La proteína NRAS se activa por factores de intercambio de nucleótidos de guanina como SOS. Las mutaciones en este gen suelen producirse en los codones 12, 13 y 61, con las mismas respuestas de activación sin necesidad de señal externa como en KRAS mutado. NRAS se encuentra mutado en aproximadamente el 1-3% de los CCR, principalmente en el codón 61. Este fenómeno es mutuamente excluyente con las mutaciones de KRAS.

HRAS no tiene papel reseñable en el CCR

RAF es una serina-treonina quinasa que puede ser activada por KRAS y representa el elemento de nivel superior de la cascada de quinasas RAF-MEK-ERK (MAPK). Las señales MAPK regulan la proliferación, diferenciación, motilidad celular y otros aspectos de la actividad celular a través de la fosforilación de muchos sustratos ERK, tales como componentes del citoesqueleto y factores de transcripción. Su importancia es debida a que Raf es un potente oncogén retroviral. Se ha encontrado B-Raf activado mutacionalmente, fundamentalmente en V600, en diversos tumores humanos y se ha observado que la activación mutacional de Ras y de B-Raf son excluyentes en: melanomas, CCR, de ovario, pulmón y tiroides. En conjunto, se estima que hasta un 50% de los tumores humanos podrían albergar mutaciones en alguno de los componentes de la ruta Ras-ERK. (46)

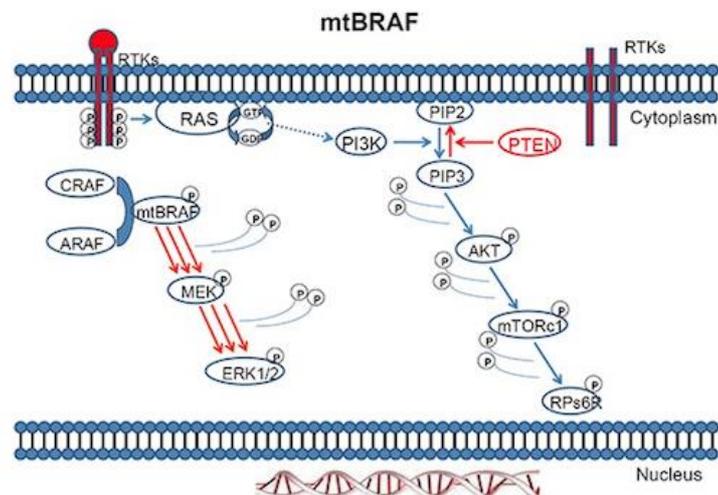


Figura 9: BRAF mutado. Activación de la vía MAPK en respuesta a la mutación BRAF. De (44)

Las mutaciones BRAF son menos frecuentes en el CCR (COSMIC y TCGA informan de un 11% y 10% de CRC con mutaciones activadoras en BRAF) (45)(16). Las Mutaciones BRAF en CCR son en su mayoría sustituciones de aminoácidos V600E. Los estudios estructurales de las proteínas RAF han identificado la valina en la posición 600 como un sitio crucial dentro del dominio conservado quinasa, que es necesario para BRAF para mantener una conformación inactiva en ausencia de la interacción KRAS-BRAF. Las mutaciones en este sitio hacen que mutado BRAF sea independiente de la dimerización con BRAF o RAF1, que es normalmente un requisito previo para la activación. En consecuencia, la mutación V600E está activando fuertemente la fosforilación y por lo tanto la transducción de señal de BRAF. La amplificación BRAF y la pérdida de heterocigosidad de BRAF se han detectado con poca frecuencia en CRC (46).

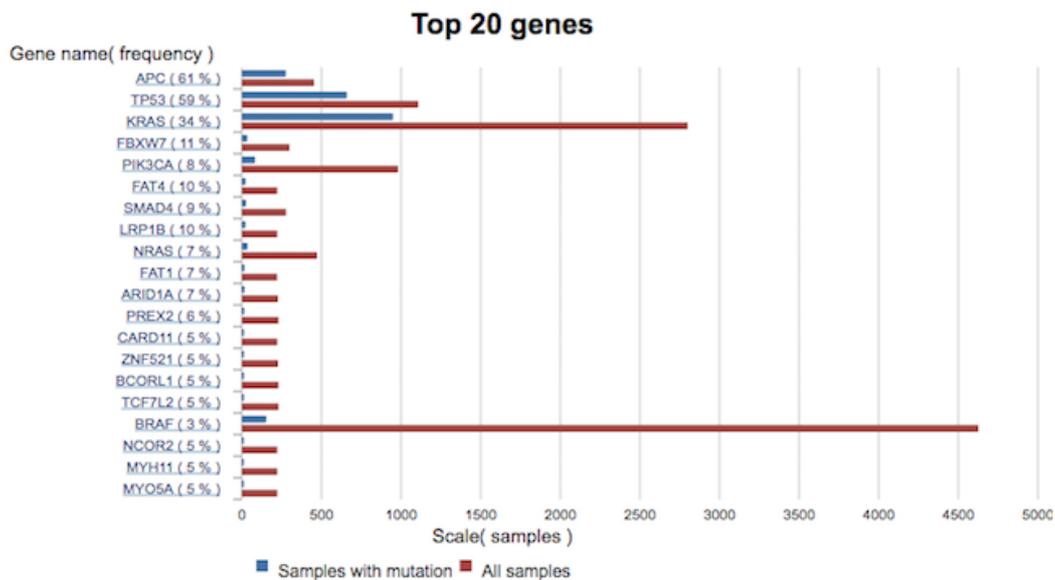


Figura 10: Top 20 genes implicados en la carcinogénesis del CR. De COSMIC <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>

La influencia de las mutaciones en KRAS en la radiorresistencia ha sido evaluada en diferentes estudios con resultados dispares. Luna-Pérez et al. (47) fueron los primeros en correlacionar la respuesta de 37 pacientes con cáncer de recto a la quimiorradioterapia preoperatoria con el estado de la mutación KRAS. Analizando los codones 12, 13, y 61, observaron que los tumores KRAS *Wild Type*, eran más sensibles que los tumores con KRAS mutado. Cabe

señalar que los autores utilizaron tejido con tumor irradiado para su análisis, aunque la evidencia reciente sugiere que el tratamiento multimodal preoperatorio no altera el estado mutacional de KRAS. Por el contrario, Zauber et al. (48) analizaron las biopsias pretratamiento de 53 pacientes con cáncer de recto estadios I-III, detectando mutación de KRAS en el 34% (sin especificar los codones afectados) y sin encontrar relación con el estado de regresión tumoral tras el tratamiento con QTR.

Los ensayos y estudios realizados valorando el beneficio de la adición de antiEGFR al tratamiento neoadyuvante con esquemas concomitantes con RT con 5-FU y Capecitabina-irinotecan, no han obtenido beneficio en supervivencia global ni en supervivencia libre de progresión, los objetivos principales de esos ensayos (49). El único ensayo en el que se observa un beneficio de la adición de un antiEGFR (panitumumab) al tratamiento con QTRTn, es el ensayo Fase II SAKK 41/07 (50), cuyo objetivo principal es la RCP en pacientes seleccionados KRAS WT con/sin tratamiento neoadyuvante con antiEGRF. Se realiza sólo un análisis descriptivo en el que la tasas de RCP es mayor en el grupo de pacientes que recibieron QTRTn, duplicando la toxicidad Grado 3-4 y el porcentaje de fugas anastomóticas. El ensayo no se acompaña de análisis de supervivencia.

#### TIMIDILATO SINTETASA (TS)

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son puntos de la secuencia del genoma donde los individuos se diferencian por una sola de base. Es importante destacar que se ha demostrado que los polimorfismos genéticos están asociados con fenotipos clínicos, de la misma manera, que esta variación genética puede suponer diferencias en la respuesta a tratamientos citostáticos o de radioterapia (51). En este sentido se ha estudiado la timidilato sintasa (TS) pero con resultados contradictorios.

#### VEGF

La angiogénesis es fundamental para el crecimiento y supervivencia tumoral. El VEGF es un potente promotor angiogénico. La activación del receptor tiene efectos en la proliferación de la célula endotelial, migración, supervivencia y permeabilidad vascular. La angiogénesis tumoral disminuye la eficacia de la RT, al disminuir la hipoxia. Con frecuencia los vasos tumorales

tienen una arquitectura desorganizada que contribuye a crear regiones tumorales con hipoxia. El VEGFR-2 se considera un mediador principal de la angiogénesis en tumores humanos, mientras que el VEGFR-1 tiene un papel primario durante la angiogénesis y regula la apoptosis y el crecimiento tumoral. En el CCR, la sobreexpresión del VEGF se asocia a agresividad tumoral, peor supervivencia, recidiva local y enfermedad a distancia. Sin embargo, los datos sobre la expresión del VEGF y su receptor VEGFR en CRLA es controvertida. Zlobec et al (52) demostraron en una cohorte de 104 pacientes que los casos VEGF positivos y EGFR negativos se asocian a una ausencia de RCP. En un estudio previo, el mismo grupo (n=59) ya había publicado que bajos niveles del VEGF se relacionan con la respuesta a la RT en el CR.

### $\beta$ -CATENINA

Uno de los cambios considerados iniciadores del proceso de carcinogénesis en el CCR es la activación de la vía Wnt. Esto ocurre cuando la  $\beta$ -catenina (mediadora de esta vía) se une a sus receptores nucleares y da lugar a la transcripción de múltiples factores que activan la proliferación celular. El gen APC actúa como supresor de tumores al frenar a  $\beta$ -catenina y permitir su degradación. Así, aquellas mutaciones germinales o somáticas de APC provocarán una activación continua de la vía Wnt. En tumores que presentan APC nativo suele producirse una mutación en  $\beta$ -catenina que genera resistencia a su propia degradación, activando pues la vía Wnt. La  $\beta$ -catenina tiene dos funciones distintas: el mantenimiento de la adhesión celular y la mediación en la vía de transducción Wnt /  $\beta$ -catenina. Las propiedades oncogénicas de Wnt /  $\beta$ -catenina se debe a la alteración en la degradación de proteína dependiente de la fosforilación. El complejo  $\beta$ -catenina/Tcf facilita la transcripción de genes diana que codifican para la activación de efectores de la proliferación celular, la invasión y la inhibición de la apoptosis, lo que lleva al desarrollo del cáncer colorrectal. Además, en el frente de invasión tumoral, la  $\beta$ - catenina estabilizada y activada interactúa con otras vías moleculares para facilitar la progresión del tumor (53).

Múltiples factores regulan de forma estricta las funciones de expresión, degradación o estabilización, y la transcripción de  $\beta$ -catenina. Estos factores consisten en distintas moléculas que trabajan en diferentes niveles de regulación de la cascada de señalización y en la

degradación de  $\beta$ -catenina. Algunas de las vías moleculares involucradas en la interacción con  $\beta$ -catenina son la vía de señalización de RAS, la vía mediada por el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), la vía de Quinasa ligada a integrina (ILK) y la vía de interacción con NF- $\kappa$ B.

## **TRATAMIENTO DEL CRLA.**

Una vez que se ha establecido el diagnóstico y se ha completado la estadificación, debe tomarse la decisión sobre si se realizará un abordaje quirúrgico de entrada o se comenzará con un tratamiento neoadyuvante con QTRT. Los principales objetivos que deben plantearse en el tratamiento del CR son: 1) control local; 2) supervivencia a largo plazo; 3) conservación de la función esfinteriana, vesical y sexual, y 4) mantenimiento o mejoría de la calidad de vida. Estos objetivos se pueden alcanzar con mayor garantía si se realiza un abordaje multidisciplinar que permita la individualización del tratamiento en base a localización, estadio y resecabilidad del tumor. Esta estrategia, asociada a la optimización de la cirugía, quimioterapia y radioterapia, ha permitido que en las últimas décadas la recurrencia local haya descendido desde un 50% a menos de un 10% y la supervivencia general haya aumentado de un 50% a cerca de un 80% en los pacientes con cáncer de recto no metastásico.

### **Tratamiento Estadio II-III (cT3-4 y/o N+)**

En este estadio la cirugía sigue siendo el tratamiento fundamental. Sin embargo, debido al reducido espacio de la pelvis menor y a la proximidad de los órganos adyacentes, resulta muy complicado obtener unos márgenes libres de tumor, por lo que la recidiva local es relativamente frecuente sin tratamiento neoadyuvante. Cuando ésta ocurre, las posibilidades de realizar una cirugía de rescate son muy bajas. Es recomendable realizar un abordaje multidisciplinar, que combina la administración de QT-RT con la cirugía, ya que permite reducir la tasa de recidivas locales, aumenta las posibilidades de realizar una cirugía conservadora de esfínter y, probablemente mejora la supervivencia.

De manera general, siguiendo las recomendaciones de guías ESMO y SEOM, los pacientes de riesgo intermedio/alto es decir cT3-cT4, N+, afectación de fascia mesorrectal o IVEM, precisan de tratamiento neoadyuvante con RT de ciclo corto o QTRT según el riesgo. El grupo de

paciente con CR cT2 muy bajo, también se beneficia de tratamiento neoadyuvante, de igual manera que los pacientes con CR cT3a sin factores de riesgo de mal pronóstico de recto medio y superior, puede plantearse tratamiento quirúrgico de entrada (54) (55).

### **Papel de la cirugía**

En los pacientes con CR localmente avanzado debe realizarse una resección radical, bien mediante una resección anterior baja (RAB), una amputación abdominoperineal (AAP) o una exenteración pélvica. El tipo de cirugía dependerá de la localización y extensión de la lesión.

En todos los casos, además, es necesario realizar una ETM. Aunque la ETM consigue márgenes circunferenciales negativos en el 96% de los especímenes resecados, debe prestarse atención a la amplitud de dichos márgenes, ya que si es igual o inferior a 1mm la tasa de recidiva local es del 20%, mientras que si es superior a 1mm disminuye al 5% (56). Por otra parte, habitualmente se considera que el extremo distal de la resección debería situarse a un mínimo de 2 cm de distancia del tumor, ya que en el 10% de los casos se han detectado implantes en la mucosa rectal situada más allá de 1 cm del tumor.

Para que la cirugía sea correcta se considera que es necesario extirpar un mínimo de 12 ganglios linfáticos. La excepción a esta norma, son los pacientes que reciben QT-RT preoperatoriamente, ya que en esta situación se detecta un menor número de ganglios. Cuando se emplea la cirugía radical con ETM cabe esperar supervivencias a 5 años del 70-80%, con tasas de recidivas locales del 3-10% (57).

#### Técnicas quirúrgicas:

- Intervención de Hartman: consiste en la resección de recto dejando el recto remanente cerrado, ciego y sin tránsito digestivo, y haciendo una colostomía terminal en la fosa ilíaca izquierda para la defecación. Las indicaciones más frecuentes en CRLA son la intervención urgente por oclusión intestinal o la intención paliativa. También cuando la condición basal del paciente precise reducir tiempo quirúrgico, contraindique una anastomosis baja (incontinencia previa, edad avanzada) o se desee evitar la morbilidad de una herida perineal.

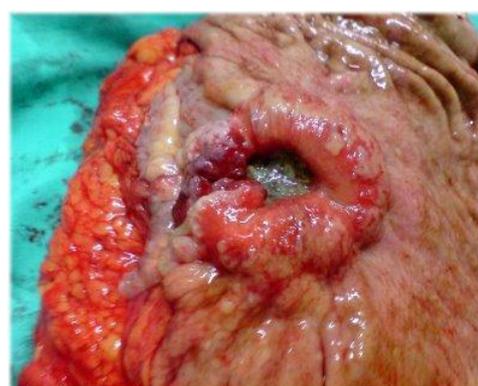
- Amputación Abdominoperineal (AAP) de Miles: La AAP implica la resección en bloque de recto, mesorrecto, canal anal, músculos elevadores, y parte de la grasa isquiorrectal y piel perineal, dejando una colostomía terminal permanente en la pared abdominal.

- Resección anterior Baja: La resección anterior baja (RAB) implica la extirpación del colon sigmoide y el recto hasta un nivel en el que el margen distal está libre de cáncer, seguido por una anastomosis primaria entre el colon descendente y el recto (anastomosis colorrectal) o el esfínter anal (anastomosis coloanal). (Imagen 7)

Imagen 7: A) Pieza de RAB de tercio medio de uno de los pacientes reclutados B) Pieza de resección de Miles de neoplasia de tercio inferior



A



B

Se utiliza un estoma temporal de derivación para proteger la anastomosis si la anastomosis es baja (<5 cm), está bajo tensión o si la prueba de fugas intraoperatoria es positiva. Además, también en aquellos casos con mayor riesgo de dehiscencia de sutura, como los pacientes que han tenido tratamiento nQTRT o que están en tratamiento inmunosupresor crónico como glucocorticoides.

- Resección multivisceral o exenteración pélvica: supone la resección del recto con uno o más órganos adyacentes por infiltración local. Es un procedimiento muy mórbido que solo se realiza cuando otro procedimiento menos radical no es capaz de controlar la enfermedad ni obtener márgenes libres o funcionalidad orgánica. Se puede hacer una exenteración pélvica total o parcial, según la extensión de la enfermedad. Una exenteración pélvica total elimina todos los órganos pélvicos, incluyendo el recto, la vejiga y los órganos reproductivos internos.

## **Papel de QT y RT en la neoadyuvancia. Adyuvancia tras ETM**

### ***QTRT neoadyuvante Versus quimiorradioterapia adyuvante***

La quimiorradioterapia adyuvante era el tratamiento en el CRLA hasta que un ensayo Alemán estableció firmemente el papel de la quimiorradioterapia neoadyuvante. El estudio alemán aleatorizó 823 pacientes con cáncer rectal T3/4 o afectación ganglionar positiva clínicamente, al mismo régimen de quimiorradioterapia administrado preoperatoriamente o postoperatorio: 50,4 Gy en 28 fracciones diarias al tumor y área ganglionar pélvica concurrentes con infusión fluorouracilo (5-FU, 1000mg/m<sup>2</sup> diarios durante cinco días durante la primera y quinta semanas de RT) (1). Todos los pacientes fueron sometidos a escisión total mesorrectal (ETM) y cuatro ciclos adicionales adyuvantes con 5-FU a dosis de 500 mg/m<sup>2</sup> en bolo diariamente durante cinco días, cada cuatro semanas. Sólo un 5% de los pacientes en ambos grupos tenía un estadificación T1/2, con afectación ganglionar positiva. Con una mediana de seguimiento de 46 meses, la QTRTn se asoció con una tasa significativamente menor de recaída pélvica (6% versus 13% con tratamiento postoperatorio); la diferencia persistió con el seguimiento más largo, aunque fue de una menor magnitud a los 10 años (7% versus 10%). La supervivencia libre de enfermedad a cinco años (SLE, 68 versus 65%) y las tasas de supervivencia global (76 frente a 74%) fueron similares en el tratamiento preoperatorio y postoperatorio, respectivamente. Las tasas de SLE a 10 años también fueron comparables (68 % en ambos grupos), así como la supervivencia global a 10 años de aproximadamente 60% (58).

### ***QTRT neoadyuvante vs RT neoadyuvante.***

Varios ensayos aleatorizados y un metaanálisis han evaluado el papel de QT asociada a la RT, abordando directamente la cuestión de si la administración simultánea de quimioterapia con fraccionamiento convencional RT es fundamental para este esquema de tratamiento:

El ensayo más grande, EORTC 22921, examinó tanto el beneficio de la quimiorradioterapia concurrente (usando un régimen de bolus 5-FU y LV de cinco días durante las semanas 1 y 5 de RT) frente a la RT preoperatoria sola (45 Gy durante cinco semanas). También analizó la contribución de la QT adyuvante con cuatro ciclos de bolus 5-FU y LV en un diseño factorial 2x2 (59). En comparación con la RT sola, los pacientes sometidos a quimiorradioterapia

preoperatoria tuvieron una tasa significativamente mayor de RCP (14 frente a 5%); obtuvieron estadios pT y pN significativamente menos avanzado, así como menos casos con invasión venosa, perineural o linfática. Las tasas de fracaso local fueron significativamente más bajas en los tres grupos que recibieron quimioterapia, independientemente de si se administró antes o después de la cirugía. En la última actualización, la incidencia acumulada de recaída local a los 10 años fue del 22,4% con RT sola, en comparación con el 11 al 15% en los tres grupos que recibieron quimioterapia (60). La SLE a diez años así como la SG fue similar en los pacientes que recibieron quimiorradioterapia preoperatoria versus RT sola.

En un metaanálisis posterior de este ensayo y otros cinco ensayos (dos de los cuales compararon RT corta duración con quimiorradioterapia de larga duración), la adición de quimioterapia concomitante a la RT neoadyuvante mejoró el control local y las tasas de RCP (61). Sin embargo, también hubo una mayor tasa de toxicidad aguda de grado 3 o 4 relacionada con el tratamiento con quimiorradioterapia y ningún impacto significativo en las tasas de preservación de esfínter o supervivencia global. Aunque la RCP tiene un valor pronóstico favorable con una menor incidencia de recaídas (locales y/o a distancia) y una mayor SG, no está claro por qué estos estudios no han podido demostrar un aumento de la supervivencia en los pacientes tratados con QTRT preoperatoria. Aun así, la adición de QT a la RT de fraccionamiento convencional se ha convertido en un enfoque estándar de la terapia combinada neoadyuvante.

El tratamiento concomitante con radioterapia se basa en fluoropirimidinas. En caso de uso de 5-FU, se prefiere su uso en infusión en lugar que en bolus por los resultados del estudio *Intergroup* que demostró la superioridad de infusión de 5-FU concomitante con RT versus bolus de 5-FU concomitante con RT en el tratamiento adyuvante del cáncer de recto. Dos ensayos clínicos aleatorizados comparan directamente 5-FU con capecitabina oral 825mg/m<sup>2</sup> dos veces al día, cinco días a la semana, demostrando su equivalencia en resultados terapéuticos con similar tasa de *downstaging*, SG, RL y SLE (62).

### ***Papel de los Fármacos biológicos.***

En cuanto a la asociación de fármacos biológicos al tratamiento nQTRT convencional tampoco se ha demostrado su beneficio. Ensayos Fase I/II sugieren que la adición de bevacizumab previo y concomitante a la QTRT basada en 5-FU preoperatoria puede conseguir RCP prometedoras sin incrementar la toxicidad aguda (63). Respecto al beneficio de añadir anti-EGFR a la QTRT convencional basada en 5-FU, el único ensayo aleatorizado Fase II (EXPERT-C) (64) que lo analiza, no obtiene una mejoría en RCP ni en SLE ni en SG, incluso en los subgrupos con KRAS/NRAF mutados.

### ***Papel de la Intensificación de tratamiento en tumores bulky o cT4***

Para un subgrupo de pacientes con factores de mal pronóstico al diagnóstico (cT4 o voluminosos, afectación ganglionar extensa, sospecha de afectación de MC) el tratamiento con QT neoadyuvante previo a tratamiento con QTRT es una alternativa en evaluación. La intención es incrementar las tasas de resecabilidad, de RCP y abordar la enfermedad micrometastásica. Sin embargo, el régimen de tratamiento citostático y su beneficio a largo plazo está todavía por definir, disponiendo actualmente solo de ensayos Fase II.

Un ensayo exploratorio Fase II con cuatro grupos secuenciales demostró que añadir hasta seis ciclos de QT con FOLFOX6 modificado entre la QTRT preoperatoria y la cirugía aumentaba significativamente la tasa de RCP y era bien tolerado (65). La adición de biológicos en el tratamiento intensificado con QT previa la nQTRT, se ha evaluado también. Un ensayo fase II multicéntrico evaluó la adición o no de cetuximab durante a QT de inducción y nQTRT. El objetivo principal, que era la RCP no se alcanzó, pero los pacientes RAS/BRAF no mutados tratados en el brazo con cetuximab obtuvieron una mayor SG y respuesta radiológica (64). El régimen óptimo de QT de inducción y su impacto en el seguimiento a largo plazo deben ser confirmados en ensayos aleatorizados Fase III.

Tabla 5. Ensayos clínicos Fase II con QT de inducción preoperatoria.

Autor/año		Tamaño muestral	Objetivo Principal	RCP	SLE a 3 años	SG a 3 años	RL a 3 años
<b>Dewdney. 2012. (64)</b>	Capox→QTRT	165	RCP	9%	81%	80% a 5 años	1%
	CapoxCetuxi→QTRT			11%	78%	70% a 5 años	2%
<b>Fdez-Martos. 2015.(66)</b>	CAPOX→QTRT	108	RCP	14%	68%	75%	5%
	QTRT→Qx→CAPOX			13%	65%	78%	2%
<b>G<sup>a</sup> Aguilar. 2015. (65)</b>	QTRT→Qx	259	RCP	11%			
	QTRT-FOLFOX6→Qx			17-38%			

RCP: respuesta completa patológica; SLE: Supervivencia libre de enfermedad; SG supervivencia global; RL: recidiva local.

### ***Papel de la Quimioterapia Adyuvante***

Existe incertidumbre sobre el beneficio de la QT adyuvante en los pacientes sometidos a tratamiento neoadyuvante con QTRT, pero en términos generales, se recomienda la administración de 4 meses de tratamiento basados en fluopirimidina, independientemente de los hallazgos patológicos tras la resección. Normalmente se recomienda un esquema con FOLFOX o Xelox, como extrapolación del beneficio de este doblete en supervivencia en el tratamiento adyuvante en pacientes con cáncer de colon observado en el estudio MOSAIC (67).

## **NUEVAS ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO: *WATCH AND WAIT*.**

Desde que la nQTRT y ETM se adaptara como tratamiento estándar en el CRLA el tratamiento las tasas de recaída local son inferiores al 10%. Los resultados a largo plazo con este enfoque muestran tasas de supervivencia a 5 años específicas del estadio entre el 86% y 77,4% (68). A pesar de excelentes resultados oncológicos, han surgido nuevos planteamientos en el paradigma actual de cirugía, hacia un tratamiento no quirúrgico. Los pacientes que presentan una RCP tras el tratamiento nQTRT y ETM, presentan unas tasas de SLE y recaída a distancia de 89,5% y 10,5% respectivamente, en comparación con las tasas del grupo de pacientes “no respondedores o pobre respondedores”, hasta de un 63% y 39% respectivamente (69). De esta manera, hay cuestiones que se plantean en el terreno quirúrgico: 1) Si los pacientes con un “respuesta adecuada o buena” al tratamiento neoadyuvante, se benefician de una cirugía; 2) Cómo podemos definir una “respuesta adecuada o buena”, y 3) si estos pacientes presentan a largo plazo los mismos resultados oncológicos en términos morbilidad y mortalidad.

Habr-Gama en Brasil, fue la primera en proponer el planteamiento de *Watch and Wait* en el año 2006. Su protocolo, incluía tratamiento con RT con 54 Gy junto con 5-FU-LV, ampliando el tratamiento de quimioterapia durante 3 ciclos tras la neoadyuvancia, un total de 9 semanas. Además, Habr-Gama et al (70) creó un nuevo *endpoint*: la respuesta clínica completa (RCC). Basado en un estricto protocolo, los pacientes se catalogan como respondedores, una vez que se comprueba ausencia de tumor en la exploración rectal digital, el estudio endoscópico y por pruebas de imagen.

Cuando se palpan irregularidades en la exploración rectal (masa, ulceración o estenosis), se considera como resto tumoral. Se inicia entonces una reevaluación periódica si se considera al paciente como respondedor, aplicando entonces el protocolo de seguimiento de *Watch and Wait* (TABLA 6) . En una evaluación inicial, el 68% de los pacientes alcanzaron la respuesta clínica completa (RCC). Tras un seguimiento de 12 meses, el 56% de los pacientes mantenían la RCC. De los que inicialmente tenían RCC, tras un seguimiento de 3 años, las tasas de SG y SLE eran de 90 y 72%.

Tabla 6: Seguimiento del protocolo *Watch and Wait*. Adaptado de Habr-Gama et al (70).

<b>Evaluación respuesta clínica</b>	<b>Evaluación inicial</b>	<b>Primer año</b>	<b>Segundo año</b>	<b>Tercer año y posteriores</b>
<b>Exploración rectal</b>	10 semanas	Cada 1-2 meses	Cada 3 meses	Cada 6 meses
<b>CEA</b>	10 semanas	Cada 1-2 meses	Cada 3 meses	Cada 6 meses
<b>Endoscopia</b>	10 semanas	Cada 1-2 meses	Cada 3 meses	Cada 6 meses
<b>IRM</b>	10 semanas	Cada 6 meses	Cada 6 meses	Cada 6 meses

Otro estudio prospectivo similar se realizó en los Países Bajos con 192 pacientes con CRLA tratados con nQTRT (71). Veintiún pacientes alcanzaron la RCC y tuvieron un seguimiento de 25 +/- 19 meses. La cohorte control consistía en 20 pacientes que alcanzaron la RPC tras la nQTRT y ETM. Un paciente tuvo recaída local sin recaída ganglionar y los 20 restantes no presentaron recaída local ni a distancia. La SG y SLE no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de tratamiento. Dos trabajos retrospectivos en EEUU y UK (72,73) se desarrollaron con el mismo protocolo, con resultados similares en tasas de SG y SLE en el grupo de pacientes que entraban en el protocolo de *Watch and Wait* y los que iban al tratamiento convencional con nQTRT y ETM. La aceptación de este protocolo de *Watch and Wait* está siendo muy limitada, debido a la falta de evidencia científica y a las limitaciones de los trabajos publicados. Solo hay dos trabajos prospectivos con escaso número de pacientes. No hay ensayos clínicos controlados y los estudios están sesgados por la selección de los pacientes según la respuesta al tratamiento y la falta de aleatorización. A pesar de la estrecha vigilancia, debido a la inexactitud de las pruebas de imagen, siempre cabrá la duda si persisten células malignas en el recto o área ganglionar. La aplicación de este tratamiento, precisa de innovaciones en las pruebas de imagen y de ensayos clínicos controlados aleatorizados. La biología molecular también tiene su papel ya que la identificación de un perfil génico que pueda predecir la RCP, ayudaría a la implementación del protocolo de *Watch and Wait* (74).



## **OBJETIVOS**



## OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo es identificar marcadores predictores de respuesta al tratamiento neoadyuvante, de tipo molecular en primer lugar y clínico-radiológico en segundo lugar.

Objetivos concretos:

- Determinar la frecuencia de mutaciones de KRAS y distribución por tipo de mutación en pacientes con CRLA.
- Correlacionar el status mutacional de KRAS, BRAF y NRAS en las muestras tisulares de la biopsia diagnóstica con el grado de respuesta histológica alcanzada y con la RCP.
- Determinar la capacidad de IRM como prueba de imagen para predecir la respuesta al tratamiento de QT-RT de forma global, y la capacidad de predecir la RCP en particular.

Otros Objetivos secundarios son:

- Determinar otros marcadores predictores de respuesta al tratamiento neoadyuvante , tanto clínico como epidemiológicos, incluyendo la relación de los niveles de CEA con el grado de respuesta tumoral.
- Determinar valor pronóstico del grado de respuesta tumoral y analizar la identificación de otros marcadores pronósticos clínicos o moleculares.



## **METODOLOGÍA**



## **METODOLOGÍA.**

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN.**

Se analizará de forma prospectiva los datos clínico-patológicos de los pacientes subsidiarios de tratamiento radical, tanto diagnosticados con cáncer de recto localmente avanzado, como diagnosticados con cáncer metastásico al inicio, siempre y cuando la intención del tratamiento sea radical, bien con cirugía secuencial o en un mismo acto. Se han recogido los datos de los pacientes diagnosticados y tratados entre Junio de 2010 y Diciembre de 2016 que cumplan los siguientes requisitos:

#### Criterios de Inclusión:

- Paciente mayor de 18 años.
- Paciente diagnosticado de adenocarcinoma de recto EII-EIII (cT3-4 +/- N+) sin contraindicación para tratamiento neoadyuvante con QTRT con capecitabina o 5-fluorouracilo.
- Paciente con cáncer de recto metastásico al diagnóstico, susceptible de resección de la enfermedad metastásica de forma sincrónica a la resección de recto o de forma secuencial, ya sea con cirugía secuencial estándar o secuencial inversa, siempre y cuando antes del abordaje quirúrgico del recto se haya realizado un tratamiento neoadyuvante con QT-RT.
- Neoplasia a menos de 12 cm de margen anal por endoscopia.
- Paciente sin contraindicación para cirugía radical de recto.
- Cirugía radical programada.
- Disponibilidad de Muestra tumoral previo a tratamiento para análisis molecular.
- Aportación de consentimiento informado.

#### Criterios de Exclusión

- Cáncer de recto con Estadio I-II susceptible de escisión local.
- Administración previa de radioterapia pélvica por neoplasia metacrónica.
- Contraindicación para tratamiento con fluopirimidinas.
- Cáncer colorrectal hereditario.

- Paciente no candidato a tratamiento neoadyuvante con QTRT o a cirugía radical por comorbilidad, fragilidad o rechazo del paciente.
- RT neoadyuvante de ciclo corto.
- Paciente que no completa el tratamiento neoadyuvante por toxicidad o comorbilidades intercurrentes.
- Paciente que precisa cirugía de urgencia.
- Paciente metastásico no candidato a tratamiento radical de enfermedad local y metastásica.
- Muestra de tumor pre tratamiento no disponible/insuficiente.

Todos los pacientes fueron previamente valorados en el Comité Multidisciplinar de tumores con las pruebas diagnósticas pertinentes (endoscopia, informe de biopsia por anatomía patológica, TC, IRM, EER si precede). De manera consensuada y con la presencia en todos los casos de los mismos cirujanos expertos en coloproctología tumoral, se planifica el tratamiento individualizado del paciente.

El presente estudio fue evaluado y aprobado por el comité de Ética del Hospital Vinalopó (Anexo I). Previo a la recogida de datos y manipulación de bloques de parafina de tumor de cada paciente, se entregó una hoja informativa al paciente del estudio y el consentimiento informado, especificando que se realizará un estudio molecular sobre la muestra tumoral tisular tomada para el diagnóstico (Anexo II). El paciente podía revocar su consentimiento en cualquier momento o autorizar únicamente parte del estudio.

## **EVALUACIÓN**

Todos nuestros pacientes fueron sometidos a una evaluación diagnóstica convencional. El estadio clínico inicial locorregional se basó en colonoscopia y una resonancia magnética pélvica en todos los casos. La realización de la colonoscopia nos permite, no sólo realizar un marcaje tumoral que facilite su localización en el acto quirúrgico, sino el estudio endoscópico completo que descarte lesiones sincrónicas. Se realizó EER en aquellos pacientes que no tienen contraindicación para la misma (estenosis o tercio superior) y en los que existía controversia en la estadificación locorregional por IRM. Se realiza IRM pélvica basal al

diagnóstico con secuencias T1W, T2W y DWI, con cortes axial, coronal y sagital. La misma resonancia se repite tras completar el tratamiento con QTRT, en la quinta semana tras la finalización del tratamiento, especificando su estadificación como mr T y mr N.

Para el estudio de extensión tumoral se realizó TC toracoabdominal, indicándose la realización de PET-TC únicamente en aquellos pacientes metastásicos susceptibles de tratamiento radical de la enfermedad tumoral local y a distancia. El protocolo, incluye además la realización de analítica sanguínea basal con los marcadores tumorales CEA y Ca19.9; los niveles de CEA fueron recogidos, por tanto, antes del comienzo del tratamiento neoadyuvante.

La localización del tumor ha sido definida como la distancia entre el margen distal tumoral y el margen anal, y esto fue medido con la rectoscopia y con la colonoscopia. Con la IRM se confirma la localización tumoral, la extensión circunferencial del tumor, la distancia a la fascia mesorrectal, la longitud tumoral y la afectación ganglionar locorregional. La longitud tumoral ha sido definida como la distancia de ocupación tumoral desde el comienzo del tumor hasta su fin en el diámetro longitudinal del mismo.

#### **Técnica de Imagen por Resonancia Magnética.**

Para la obtención de las imágenes de IRM se utilizó un sistema modelo Achieva 1,5 T versión 2.6.3.9 (Philips *Medical System*, Bes, Netherlands).

Para el estudio el paciente no precisa preparación especial previa domiciliaria y estando en la sala se administra gel ecográfico endorectal. Se posiciona en la camilla de la máquina en decúbito supino, entrando primero los pies y se le coloca la antena de superficie multicanal (*phaseal array*) de 8 canales, cuatro anteriores y cuatro posteriores.

Una vez posicionado, se inicia el estudio con el siguiente protocolo:

- Primera Secuencia: Localizador en eco de gradiente en los tres planos del espacio
- Segunda secuencia: sagital **FAST/TURBO SPIN ECHO T2W** de alta resolución
- Tercera secuencia: axial oblicuo **FAST/TURBO SPIN ECHO T2W** de alta resolución
- Cuarta secuencia: axial **FAST/TURBO SPIN ECHO T2W** de toda la pelvis
- Quinta secuencia: coronal **FAST/TURBO SPIN ECHO T2W** de alta resolución
- Sexta secuencia: axial **FAST/TURBO SPIN ECHO T2W** con saturación de la grasa
- Séptima secuencia: axial **SPIN ECHO T1W** de la zona tumoral

- Octava secuencia: Difusión en planos axial-oblicuos **DWI**.

En la Tabla 7 se encuentran todos los parámetros de las diversas secuencias para la reproducibilidad del estudio

Tabla 7: parámetros por secuencias de IRM

	Localizador	Sagital T2W AR	Axial Oblic. T2W AR	Axial T2W pelvis	Coronal T2W AR	Axial T2W AR Fat Sat.	Axial T1W	DWI
<b>Tipo secuencia</b>	T1 FFE	TSE	TSE	T2SE	TSE	TSE spair	TSE	EPI SE
<b>TR</b>	10 ms	3047msg	3047msg	3047mseg	3051msg	3721msg	574msg	2118msg
<b>TE</b>	5,5msg	100msg	100msg	100mseg	100msg	70msg	10msg	61msg
<b>ETL</b>	-	16	16	16	16	19	3	-
<b>Grosor</b>	10mm	4mm	4mm	5mm	4mm	4mm	5mm	4mm
<b>Separación planos</b>	10mm	1mm	1mm	2mm	1mm	1mm	1mm	1mm
<b>FOV</b>	450mm	250mm	250mm	300- 450mm	250mm	250mm	250mm	375mm
<b>Matriz Adquirida</b>	256x128	312x248	312x248	312x248	312x248	256x199	252x199	124x100
<b>Valor b</b>	-	-	-	-	-	-	-	0;500; 1000;1500
<b>NEX</b>	1	2	2	2	2	2	2	4

Las imágenes obtenidas son transferidas automáticamente al PACS del hospital carestream vue-pacs y desde el mismo, elaboran informe clínico con el RIS de Florence clínico, y se actualiza el informe e imágenes en el sistema de historia electrónica Florence clínico. Para la interpretación de las imágenes y la elaboración del informe, el radiólogo debía seguir los criterios citados por el Consenso St Gallen (5), incluyendo:

- Técnica, resolución, calidad
- Altura del tumor (desde el borde anal)

- Descripción del tumor:
  - Tamaño
  - Ubicación circunferencial
  - Estadio T
  - Profundidad de infiltración más allá de la muscular propia (mm)
- Descripción afectación ganglionar:
  - Ubicación (perirrectal, pelviano)
  - Número
  - Descripción (tamaño, intensidad de señal, borde irregular)
  - Distancia del tumor y MRF
- Invasión vascular extramural
- Estatus MRC (distancia a MRF <1 mm)

#### **TRATAMIENTO NEOADYUVANTE**

Todos los pacientes recibieron tratamiento neoadyuvante combinado con QTRT. La quimioterapia se basó en 5-fluorouracilo intravenoso (425 mg/m<sup>2</sup> cada día) y leucovorín (20 mg/m<sup>2</sup> por día durante la primera y la quinta semanas de la radioterapia) o en capecitabina oral 825mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas los días de radioterapia. El ajuste posológico en función de toxicidad clínica o hematológica se realizó según los grados de toxicidad de *Common Toxicity Criteria* y, según los mismos, siguiendo las recomendaciones de la ficha técnica de la EMA (Agencia Europea del Medicamento).

#### **Técnica de radiación : Radioterapia externa de alta conformación**

Se administra mediante un Acelerador Lineal, empleando radiaciones ionizantes de origen extranuclear, producidas por el frenado brusco de electrones acelerados mediante campos magnéticos y eléctricos. Un cañón acelerador produce el frenado de los electrones y que estos choquen contra un blanco produciendo radiación X, o bien no frenados, siendo estos los electrones. Los fotones poseen mayor capacidad de penetración en la materia que los electrones, estos últimos se reservan para tratamiento superficiales.

Para el diseño de los volúmenes de tratamiento mediante Radioterapia Externa, es necesaria una simulación adecuada llevando a cabo la realización de un TC para la adquisición de imágenes, sobre las que diseñar el volumen de tratamiento y los órganos de riesgo (OAR, *organs at risk*). El paciente requiere de una preparación previa (vejiga confortable y recto vacío), para ello se requiere llenar la vejiga y administrar un enema de limpieza la noche previa y la misma mañana del TC. Se posicional al paciente en decúbito para alejar las asas intestinales de la incidencia del tratamiento. Dicho posicionamiento ha de ser reproducible durante las sesiones de tratamiento.

Las técnicas actuales de tratamiento permiten administrar una dosis mayor (BOOST), a las adenopatías. Se administra una dosis total de 50,4 Gy administrados en dos fases:

- IMRT PTV 45Gy a 1,8 Gy/día
- RT 3D GTV+2cm+espacio presacro (BOOST) 5,4Gy a 1,8Gy/día

La RT se administró en la pelvis incluyendo el tumor primario y los ganglios linfáticos de riesgo con el uso de la técnica de 4 campos (anterior, posterior y dos laterales). El campo de radiación fue el siguiente: el margen superior fue 1.5 cm por encima del promontorio sacro (nivel L5) y el margen lateral fue 1.5 cm lateral al hueso pélvico con el fin de incluir los ganglios linfático pélvicos.

Durante el tratamiento neoadyuvante todos los pacientes fueron evaluados semanalmente en el servicio de oncología radioterápica para describir posible toxicidad y asegurara cumplimiento y quincenalmente en el servicio de oncología médica. Para esto se realizaba un examen físico y un análisis completo de sangre.

Al finalizar el tratamiento neoadyuvante, se realizó IRM de reevaluación a la quinta semana de finalización. Se utilizó la misma estadificación radiológica que en la IRM basal o a través de los criterios RECIST 1.1 (75). Aquellos pacientes que por contraindicación no se puede realizar IRM, se reevalúan con TC. Aquellos pacientes metastásicos al diagnóstico susceptibles de tratamiento quirúrgico radical, se reevaluaban también con TC en lugar de IRM, por lo que la n de pacientes con IRM de reevaluación puede no ser la misma que la n de pacientes con muestra tumoral para análisis molecular.

El tratamiento adyuvante fue recomendado en todos los pacientes debido a su estado patológico pretratamiento neoadyuvante de cáncer rectal loco regionalmente avanzado, no

siendo administrado en aquellos pacientes no candidatos por comorbilidad o fragilidad adquirida o por rechazo del paciente.

## **CIRUGÍA**

La cirugía fue programada entre la séptima y octava semana desde el fin del tratamiento neoadyuvante. Se realizó escisión total del mesorrecto en todos los pacientes. Todas las intervenciones se llevaron a cabo por uno de los dos cirujanos expertos en patología tumoral colorrectal del Hospital Vinalopó. Las técnicas empleadas según localización tumoral y características clínicas y epidemiológicas del paciente eran:

- Resección anterior (RA): Este término incluye una resección de recto con anastomosis, bien sea ésta coloanal o colorrectal. Se contempla la realización de ileostomía temporal en aquellos pacientes con riesgo de dehiscencia de sutura.
- Amputación Abdominoperineal (AAP): Resección del recto y el ano y formación de una colostomía terminal.
- Operación de Hartmann: Resección del recto con cierre del extremo distal y abocamiento del colon proximal formando una colostomía terminal.

## **ESTUDIO HISTOLÓGICO**

El estudio histológico ha sido realizado por tres patólogos especializados en patología colorrectal. La estadificación de los especímenes resecados se ha realizado según la clasificación TNM de la séptima reunión de *Union for International Cancer*. La respuesta al tratamiento neoadyuvante se ha estadificado mediante la clasificación de Mandard de **grados**

### **regresión tumoral (GRT):**

- GRT 1: remisión completa,
- GRT 2: predominio de fibrosis en el espécimen resecado,
- GRT 3: células tumorales aisladas,
- GRT 4: predominio de nidos tumorales,
- GRT 5: ausencia de regresión tumoral tras la terapia neoadyuvante.

Para valorar el grado de respuesta, se ha dividido a los pacientes en dos grupos:

- **Buen Respondedor:** presenta un grado de regresión tumoral según Mandard 1 o 2.

- **Mal respondedor:** presenta un grado de regresión tumoral según Mandard 3 a 5. La **regresión tumoral o *downstaging*** se definió como una disminución del estadio tumoral (disminución del estadio T y/o del N) en el estudio histológico del espécimen resecado comparado con el estadio clínico obtenido en la IRM pretratamiento neoadyuvante.

Se definió la **respuesta patológica completa (RCP)** como la ausencia de células de adenocarcinoma viable en la pared rectal, en el mesorrecto ni en ninguno de los ganglios de la pieza quirúrgica.

Se ha considerado **margen de resección circunferencial (MRC)** a la superficie externa del cilindro de recto y mesorrecto resecados. La distancia del tumor o de los ganglios linfáticos infiltrados al MRC medido por microscopia, permite clasificarlo como invadido o no. Se ha definido que el MRC está invadido cuando esta distancia es:  $\leq$  de 1mm.

El **estadio R**, es el estatus del margen de resección lineal, clasificando a la resección en tres categorías según el tumor residual:

- R0 (no hay tumor macroscópico ni microscópico residual).
- R1 (tumor microscópico residual en el MRC).
- R2 (tumor macroscópico en el MRC).

La evaluación del *downstaging* obtenido se ha hecho analizando el estadio clínico neoadyuvante por IRM y el estadio anatomopatológico postquirúrgico del espécimen resecado, siguiendo la clasificación de TNM. La capacidad de predicción de respuesta de la IRM se obtuvo comparando la estadificación radiológica postratamiento con la estadificación patológica de la pieza quirúrgica.

## **SEGUIMIENTO**

Todos nuestros pacientes fueron seguidos en las consultas de Coloproctología, Oncología Médica y Oncología Radioterápica. Las visitas y exámenes coloproctológicos se realizaron cada 3-6 meses en los primeros tres años tras la cirugía. A continuación, el seguimiento se realizó adaptándonos en función del riesgo individualizado, manteniendo como mínimo controles semestrales hasta los 5 años y a partir de entonces anuales. En cada visita de control se realizó un examen físico, una medición de los niveles de CEA, asociando estudio radiológico intercalado con TC toracoabdominopélvico, al menos, anual o una radiografía de tórax y

ecografía abdominal según comorbilidad, riesgo individualizado y si había completado el tratamiento adyuvante o no. Tras finalización de la adyuvancia se repitió la colonoscopia si la previa era incompleta, independientemente de si se disponía de TC-colonoscopia y se mantenía rectoscopia de control semestral hasta los 3 años y posteriormente anual. Las pruebas de imagen y/o recto-colonoscopia se adelantaban en caso de aparición de síntomas o elevación de CEA.

El seguimiento y recogida de eventos se realizó hasta Enero de 2017, en aquellos pacientes que continuaban vivos, o hasta la fecha del exitus, independientemente de su causa. Los eventos recogidos y analizados fueron:

- Recaída Local: aparición de enfermedad en lecho quirúrgico y área de irradiación, con o sin afectación de órganos adyacentes, incluyendo anastomosis, región presacra y ganglios pélvicos laterales.
- Recaída sistémica: aparición de enfermedad a distancia a nivel visceral, óseo, ganglionar no locorregional o carcinomatosis peritoneal.
- Exitus por enfermedad.
- Exitus por causa diferente a enfermedad.

### **ANÁLISIS MUTACIONAL.**

Para la determinación del estatus mutacional KRAS, NRAS y BRAF, previo consentimiento del paciente, se remitió la muestra tisular de la biopsia conservada en bloque de parafina previa al tratamiento neoadyuvante, a la Unidad de Investigación del Servicio de Oncología del Hospital general de Valencia.

Tras el desparafinado manual de la muestra y la extracción manual del DNA, se procedió a la cuantificación del DNA obtenida de cada muestra con un espectrofotómetro, NanoDrop 2000. El análisis de las mutaciones de RAS se llevó a cabo usando el kit *TheraScreen® KRAS Pyro®* (Qiagen). Este kit se usa para la detección cuantitativa de mutaciones en los codones 12, 13 y 61 del gen KRAS mediante pirosecuenciación. Los codones 12/13 y el codón 61 se amplificaron por PCR usando 5µl de ADN (10ng de ADN genómico), 12.5µl de PyroMark® PCR Master Mix 2x, 2.5µl de Coral Load 10x, 4µl de agua libre de nucleasas y 1µl de cebadores de PCR KRAS 12/13 o 61. Las reacciones se llevaron a cabo en un *MasterCycler® thermocycler*

(Eppendorf, Alemania) siguiendo las condiciones:

Etapa	Tiempo	Temperatura
<b>Activación inicial</b>	15 minutos	95° C
<b>Ciclado en 3 pasos:</b>		
<b>Desnaturalización</b>	20 segundos	95° C
<b>Annealing</b>	30 segundos	53° C
<b>Extensión</b>	20 segundos	72° C
<b>Número de ciclos</b>	42	
<b>Extensión final</b>	5 minutos	72° C

Los amplicones se inmovilizaron con microesferas de Streptavidin Sepharose® High Performance y posteriormente se incubaron con los cebadores de secuenciación correspondientes mediante una placa PyroMark Q24 y una estación de vacío. Después se prepararon los reactivos del PyroMark Gold Q24 (enzima, sustrato y nucleótidos) para cargarlos en el cartucho y poder ser dispensados durante el proceso de secuenciación. Finalmente, la placa y el cartucho se cargaron en el sistema PyroMark Q24 y se empezó el proceso de secuenciación. Las secuencias se analizaron mediante el software proporcionado por el fabricante. En cada carrera, se incluyeron dos controles: un control no metilado de ADN que sirvió como control positivo para las reacciones de secuenciación y PCR, y un control negativo (el ADN fue sustituido por agua libre de nucleasas).

Este kit permite la detección de las mutaciones más frecuentes de los codones 12, 13 y 61. El orden de dispensación de los nucleótidos para la secuenciación de los codones 12/13 fue *TCGACTCAGATCGTAG*, y para el codón 61 fue *GCTCAGTCAGACT*. El análisis de la secuencia para los codones 12/13 fue *GNTGRCGTAGGC*, que permite detectar las mutaciones más frecuentes en el codón 12, nucleótido 35 (segunda posición). Para analizar si las mutaciones estaban presentes en el nucleótido 34 (primera posición), la secuencia de análisis se cambió por *NGTGRCGTAGGC*. En el caso del codón 61, la secuencia de análisis fue *CTCDTGACCTG*, que representa la mutación más frecuente en este codón, detectada en el nucleótido 183 (tercera posición). Para analizar si la mutación estaba en el nucleótido 182

(segunda posición), la secuencia de análisis se cambió por *CTCTHGACCTG* y para analizar si estaba presente en el nucleótido 181 (primera posición), la secuencia fue *CTCTTSACCTG*. Los histogramas esperados para cada secuencia se representan en la Figura 11.

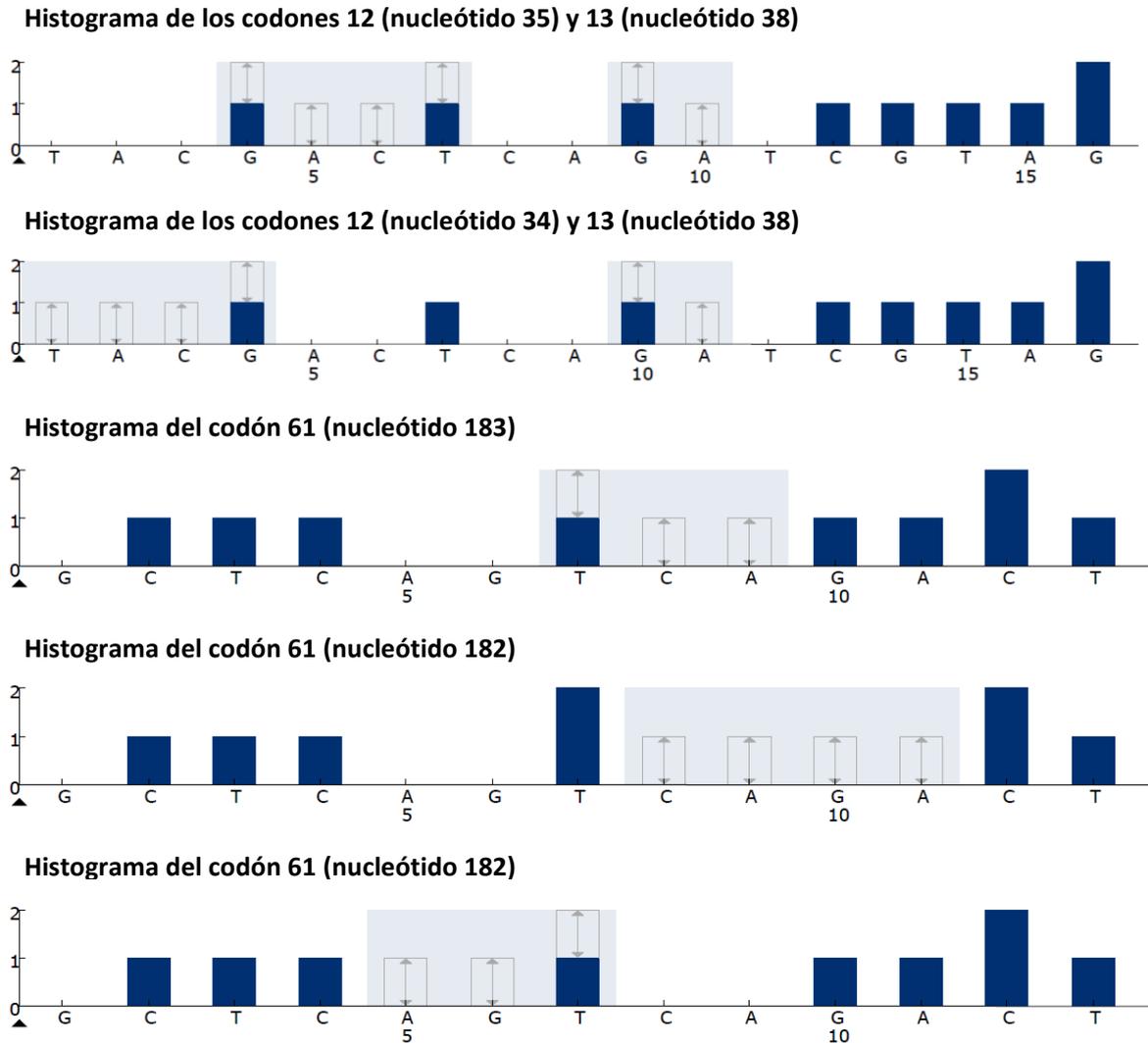


Figura 11. Representación gráfica de los histogramas para los codones y nucleótidos de acuerdo con las secuencias de análisis.

El análisis, detección e interpretación de los resultados se realizó con el software facilitado por el fabricante de PyroMark® Q24. Las muestras en las que no se encontró mutación o no se

hizo en los valores recomendados , así como aquellos casos en los que el software indicaba “erróneo” o “para revisar”, se repitió el análisis. En cada serie analítica se incluye ADN de control no metilado para realizar la comparación y como control para los niveles de referencia. La frecuencia medida de la muestra de control debe ser inferior o igual que el límite de blanco (LOB)

Se han examinado todas las muestras para evaluar el límite de detección (LOD) y los resultados se han interpretado tal y como se indica a continuación:

- Frecuencia de la mutación < LOD: nativa
- Frecuencia de la mutación  $\geq$  LOD y  $\leq$  LOD + 3 unidades porcentuales: posible mutación de bajo nivel
- Frecuencia de la mutación > LOD + 3 unidades porcentuales: mutación

Tabla 8: Valores de los límites LOB y LOD determinados para mutaciones específicas.

Sustitución de ácidos nucleicos	Sustitución de aminoácidos	LOB (unid. %)	LOD (unid. %)	ID COSMIC* (V42)
<b>Codón 12 (GGT)</b>				
GAT	G12D	0,6	2,2	521
GTT	G12V	0,0	1,0 (7) <sup>†</sup>	520
TGT	G12C	0,5	2,1	516
AGT	G12S	0,4	1,9	517
GCT	G12A	0,7	2,3	522
CGT	G12R	0,3	1,8	518
<b>Codón 13 (GGC)</b>				
GAC	G13D	0,3	1,9	532
<b>Codón 61 (CAA), analizado en sentido inverso (TTG)</b>				
GTG	Q61H	0,8	2,8	554
TAG	Q61L	1,2	3,1	553
TCG	Q61R	1,6	3,5	552
ATG	Q61H	0,7	2,6	555
TTC	Q61E	1,2	3,1	550

\* Del catálogo de mutaciones somáticas del cáncer (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) del Instituto Sanger [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/).

† Nivel de mutación mínimo de una muestra que da lugar a una medición de frecuencia >LOD.

A continuación, se muestra resultados representativos del pirograma obtenidos con el software integrado en el sistema PyroMark Q24.

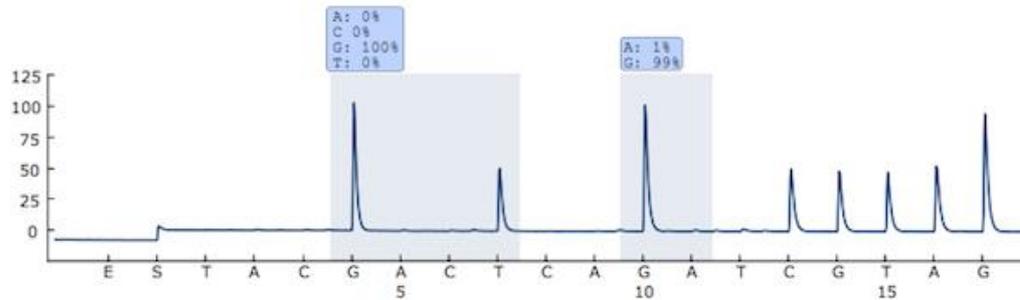


Imagen 8: Gráfica de pirograma de genotipo nativo en los codones 12 y 13

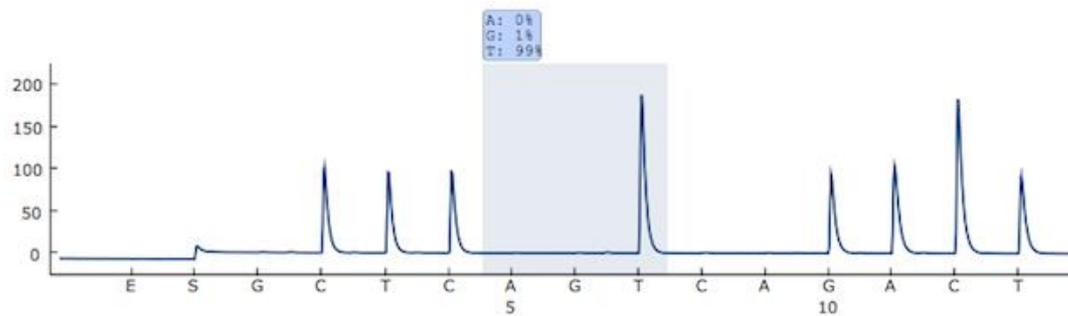


Imagen 9: Gráfica de pirograma de genotipo nativo en el codón 61

La Determinación del estado mutacional de los genes NRAS y BRAF se realizó mediante el sistema automatizado de Biocartis de PCR a tiempo real, Idylla™.

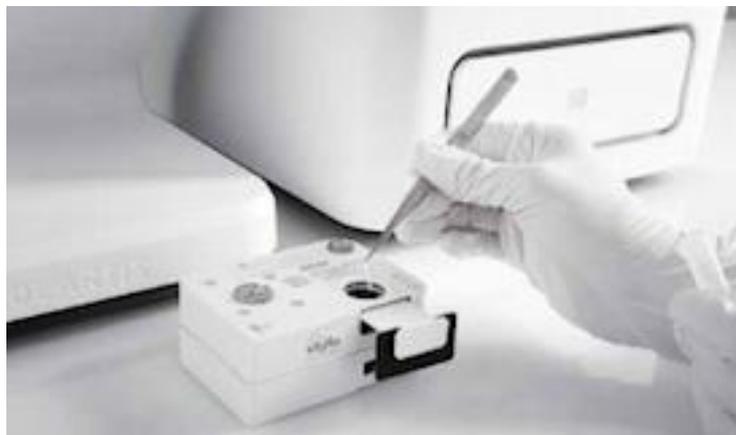


Imagen 10: Inclusión en el Cartucho de Idylla™ de cortes de tejido incluido en parafina

El sistema Idylla™ NRAS-BRAF-EGFR S492R Mutation Assay permite la detección de NRAS, BRAF y EGFR 492 directamente de tejido incrustado en secciones de parafina con formalina. Permite la detección de 8 mutaciones NRAS en codones 12 y 13 (exón 2), de 6 mutaciones NRAS en codones 59 y 61 (exón 3), de 4 mutaciones NRAS mutaciones en los codones 117 y 146 (exón 4), y de 5 mutaciones BRAF en el codón 600 (exón 15). (Figura 12)

Allele detection - NRAS	Codon 12 (exon 2)	G12C (c.34G>T)
		G12S (c.34G>A)
		G12D (c.35G>A)
		G12A (c.35G>C) G12V (c.35G>T)
	Codon 13 (exon 2)	G13D (c.38G>A)
		G13V (c.38G>T) G13R (c.37G>C)
	Codon 59 (exon 3)	A59T (c.175G>A)
	Codon 61 (exon 3)	Q61K (c.181C>A)
		Q61L (c.182A>T)
Q61R (c.182A>G)		
Q61H (c.183A>C; c.183A>T)		
Codon 117 (exon 4)	K117N (c.351G>C; c.351G>T)	
Codon 146 (exon 4)	A146T (c.436G>A) A146V (c.437C>T)	
	NRAS Total (acting as Sample Processing Control)	
Allele detection - BRAF	Codon 600 (exon 15)	V600E (c.1799T>A; c.1799_1800TG>AA) V600D (c.1799_1800TG>AC) V600K (c.1798_1799GT>AA) V600R (c.1798_1799GT>AG)

Figura 12: Tipo de mutación distribuidas por exón y codón detectadas por el Sistema Idylla™ NRAS-BRAF-EGFR S492R Mutation Assay.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se ha realizado un análisis univariante de todas las variables calculando número y porcentaje para las variables cualitativas.

Para evaluar asociaciones entre variables cualitativas, se ha calculado tablas de doble entrada aplicando el test Chi-Cuadrado. Para evaluar diferencias para variables cuantitativas se ha calculado valores mínimo, máximo, medio y desviación estándar, aplicando el test T de Student.

Para estimar la magnitud de las asociaciones entre las variables explicativas y la respuesta, se han ajustado modelos de regresión de Cox, estimando el *Hazard Ratio* (HR) y su intervalo de confianza al 95% (IC 95%), realizando un ajuste simple y un modelo multivariante.

Se ha realizado un análisis de supervivencia estimando curvas de Kaplan-Meier para cada variable explicativa de interés, aplicando el test Log-Rank para evaluar las diferencias entre curvas de supervivencia. Se han estimado tiempos medios de supervivencia, junto con IC 95% en cada categoría de las variables explicativas.

Se ha utilizado para los análisis el programa estadístico SPSS v18 y el programa R v.3.2.3.

La evaluación del *downstaging* obtenido se ha hecho analizando el estadio clínico neoadyuvante por IRM y el estadio anatomopatológico postquirúrgico del espécimen resecado, siguiendo la clasificación de TNM.

La capacidad de predicción de respuesta de la IRM se obtuvo comparando la estadificación radiológica postratamiento con la estadificación patológica de la pieza quirúrgica.

Se analizó la disminución tumoral patológica, tanto de T como de N, el número de adenopatías aisladas, el número de adenopatías afectas y la resección satisfactoria del mesorrecto. Se analizó la tasa de recurrencias locales y a distancia y la supervivencia de los pacientes que alcanzan una mayor respuesta patológica con respecto aquellos que obtienen una respuesta más pobre. Se compara la aparición de recidivas locorregionales y a distancia y la supervivencia en el grupo de pacientes con una RCP en relación al grupo de pacientes que no la presentó.

Para el objetivo principal del estudio, la determinación de marcadores predictivos de respuesta, se analizó la correlación de factores moleculares (presencia y tipo de mutación de RAS, RAF) y factores clínicos (tamaño tumoral, estadio clínico pretratamiento, localización, extensión circunferencial, sexo, niveles de CEA pretratamiento, distancia a la fascia mesorrectal del tumor y tipo de tratamiento neoadyuvante administrado) con el grado de respuesta tumoral y con los pacientes que alcanzan una RCP

La supervivencia global (SG) se calcula como el intervalo de tiempo transcurrido desde la fecha de la cirugía hasta la fecha de último seguimiento o de exitus, independientemente de la causa. La supervivencia específica por el cáncer rectal (SER) se estima como el intervalo de tiempo transcurrido desde la fecha de la cirugía hasta la fecha de exitus por CR o último seguimiento. Los pacientes que hayan fallecido por otras causas serán considerados como censurados. La supervivencia libre de enfermedad (SLE) se considera como el intervalo de tiempo transcurrido desde la fecha de la cirugía hasta la fecha de recidiva locorregional o enfermedad a distancia (metástasis) o último seguimiento.

Los análisis de supervivencia se realizarán mediante el método de Kaplan-Meier usando el estadístico de log-rango. Se ajustaran modelos de regresión de Cox para estimar la supervivencia y la respuesta tumoral según las variables explicativas.

#### **CONSIDERACIONES ÉTICAS. DECLARACIÓN DE BUENAS PRACTICAS CLÍNICAS**

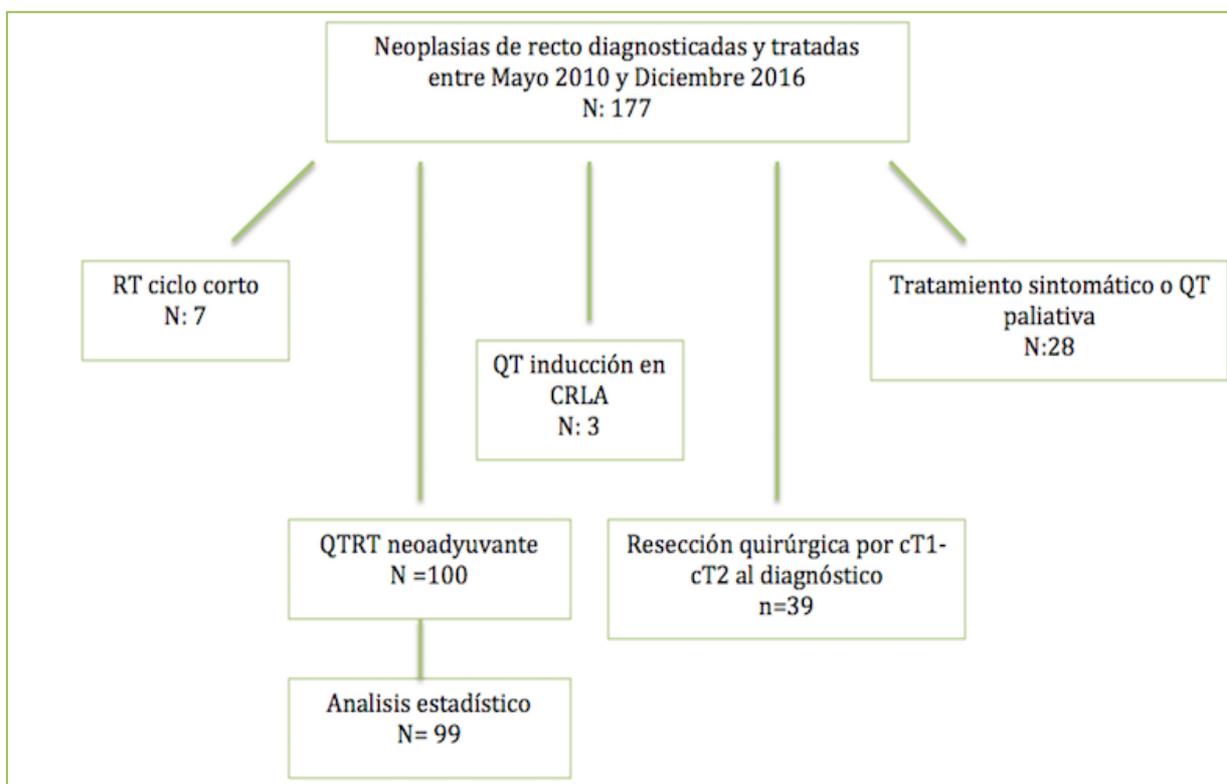
Como investigadora del proyecto de tesis doctoral “Marcadores predictivos de respuesta tras neoadyuvancia en cáncer de recto” me he comprometido a realizarlo en las condiciones de respeto a los derechos fundamentales de la persona y los postulados éticos que afectan a la investigación biomédica con seres humanos, siguiendo los contenidos de la Declaración de Helsinki y las Buenas Prácticas Clínicas de la Unión Europea, como se establece para los ensayos clínicos en el Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero por el que se regulan los requisitos para la realización de ensayos clínicos con medicamentos y art. 60.2 de la Ley 29/2006, de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, y para estudios postautorización en la Orden SAS/3470/2009 de 16 de Diciembre por la que se publican las directrices sobre estudios postautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano, y así mismo conforme al Decreto 73/2009 de 5 de Junio del *Consell de la Generalitat Valenciana*, por el que se regula la gestión de ensayos clínicos y estudios postautorización observacionales con medicamentos y productos sanitarios.

## RESULTADOS



## ANÁLISIS UNIVARIANTE. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE RESULTADOS

Desde Junio de 2010 hasta Diciembre de 2016, se diagnosticaron 177 pacientes con cáncer de recto. De estos pacientes se incluyeron los pacientes que hasta diciembre de 2016, habían completado el tratamiento neoadyuvante con QTRT y la cirugía según el protocolo del estudio, disponiendo de datos anatomopatológicos en el momento del análisis de resultados. Se recogieron datos de un total de 100 pacientes, siendo incluidos para el análisis final 99 pacientes debido a la no intervención de un paciente por progresión tras el tratamiento neoadyuvante. De los 177 pacientes diagnosticados de cáncer de recto, 39 pacientes se sometieron a tratamiento quirúrgico de entrada por estadio localizado y 28 pacientes se sometieron a tratamiento sintomático exclusivo o tratamiento citostático paliativo por enfermedad metastásica irresecable (Diagrama 1).



## Datos demográficos

Se han analizado un total de 99 sujetos, de los que 61,6% fueron hombres. La edad media de la muestra fue de 72,5 años, con un rango de 38 a 66 años. El IMC medio fue de 27,0 con un rango de 16,9 a 37,3. El 56,6% presentaba alguna enfermedad crónica previa. El 21,2% eran fumadores, el 40,4% hipertensos, el 18,2% diabéticos, el 28,3% dislipémicos. El 4,0% presentaban EPOC y el 6,1% IRC. Un 18,2% refería antecedentes familiares de primer grado de cáncer colorrectal.

**Tabla 9: Análisis Univariante de datos demográficos**

	N	%	
EDAD	< 65 años	44	44,4%
	65-74 años	26	26,3%
	>=75 años	29	29,3%
IMC	Normal	30	30,3%
	Sobrepeso	47	47,5%
	Obesidad	22	22,2%
SEXO	Hombre	61	61,6%
	Mujer	38	38,4%
TABAQUISMO	Nunca	75	75,8%
	Fumador	21	21,2%
	Exfumador más 1 año	3	3,0%
ENOLISMO	No	89	89,9%
	Si	10	10,1%
ANTECEDENTES FAMILIARES 1º CÁNCER COLORRECTAL	No	81	81,8%
	Si	18	18,2%
ENFERMEDAD CRÓNICA	No	43	43,4%
	Si	56	56,6%
HTA	No	59	59,6%
	Si	40	40,4%
DM	No	81	81,8%
	Si	18	18,2%
DL	No	71	71,7%
	Si	28	28,3%
EPOC	No	95	96,0%
	Si	4	4,0%
IRC	No	93	93,9%
	Si	6	6,1%
CARDIOVASCULAR	No	86	86,9%
	Si	13	13,1%

## Datos clinicopatológicos

### *Altura de Margen anal*

Según la altura determinada por colonoscopia, 30 pacientes tenían el tumor localizado en tercio inferior (30,3%), 54 pacientes tenían el tumor localizado en tercio medio (54,5%) y 15

pacientes presentaban el tumor en el tercio superior (15,2%). La distancia mediana de tumor a margen anal fue de 8,5 cm, con un rango entre 0 hasta 15 cm (Tabla 10).

### ***Antígeno carcinoembrionario***

En el momento del diagnóstico, 77 pacientes presentaban un valor inferior o igual a 5ng/ml (77,8%) y 22 pacientes presentaban un valor superior a 5ng/ml (22,2%). De estos 22 pacientes con CEA elevado, 8 pacientes eran metastásicos potencialmente resecables a nivel local y a nivel metastásico.

### ***Estadificación tumoral locorregional por IRM***

Se dispone de Estadificación por IRM en el 100% de los pacientes. Según la misma, 11 pacientes tenían una estadificación cT4 (11,1%); 77 pacientes (77,8%) tenían una estadificación tumoral de cT3 y 11 pacientes (11,1%) tenían una estadificación local de cT2. En el 84% de los pacientes había adenopatías sospechosas de afectación metastásica. 25 pacientes (25,25%) fueron estadificados como cN1 y 54 paciente (54,54%) fueron estadificados como cN2. En 5 pacientes (5,05%) sólo se indica en el informe que hay adenopatías sospechosas de malignidad sin estadificar.

### ***Estadificación tumoral a distancia por TC***

De los 99 pacientes analizados, 13 pacientes presentaban enfermedad metastásica resecable y por tanto candidatos a tratamiento radical local del primario y de la enfermedad a distancia. De ellos, 6 pacientes presentaban enfermedad metastásica hepática y 7 pulmonar.

Tabla 10. Análisis Univariante de datos clinicopatológicos

		N	%
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	30	30,3%
	Medio 7-11	54	54,5%
	Superior >11	15	15,2%
cTpre –tratamiento	No	0	0,0%
	cT2	11	11,1%
	cT3	77	77,8%
	cT4	11	11,1%
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	14	14,3%
	cN+	84	85,7%
	No	0	0,0%
cM: METASTASICO	M0	86	86,9%
	M1	13	13,1%
CEA	Normal <= 5ng/ml	77	77,8%
	> 5 ng/ml	22	22,2%
TIENE IMR CONTROL	No	11	20,4%
	Si	43	79,6%

## Datos mutacionales

### ***Estatus mutacional de NRAS***

NRAS se encontró mutado sólo en 2 pacientes de los 99 analizados (2%), en los dos casos en el exón 2, distribuidas una mutación en el codón 12 (exón 2) : G12C (TGT) y otra mutación en el codón 13: G13R (CGT) (Tabla 11).

### ***Estatus mutacional de BRAF***

De los 99 pacientes incluidos para el análisis predictivo final, sólo un paciente presentó mutación en BRAF, correspondiendo a V600E. (Tabla 11). El paciente con BRAF mutado, presentaba al diagnóstico una estadificación cT3cN2 en recto de tercio superior, presentando progresión sistémica a las 5 semanas de la cirugía con metástasis pulmonares y posteriormente cerebrales, con evolución rápidamente desfavorable y exitus a los 9 meses del diagnóstico. Ha sido el caso con peor evolución clínica y supervivencia más recortada de la serie.

Tabla 11. Análisis Univariante de Estatus Mutacional de RAS-RAF

		N	%
KRAS	Wild Type	71	71,7%
	Mutado	28	28,3%
EXÓN MUTADO	Dos	24	85,7%
	Tres	2	7,1%
	Cuatro	2	7,1%
N-RAS	Wild Type	97	98,0%
	Mutado	2	2,0%
B-RAF	Wild Type	98	99,0%
	Mutado	1	1,0%

### ***Estatus mutacional de KRAS.***

De los 99 pacientes analizados, KRAS estaba mutado en 28 pacientes (28,3%). En uno de estos pacientes había una doble mutación de KRAS. La frecuencia de mutaciones encontradas en los exones analizados (exón 2, exón 3 y exón 4) fueron las siguientes. De los pacientes con mutación en KRAS, 24 presentaban mutación en el exón 2 (85,7%), dos pacientes (7,1%) presentaban mutación en el exón 3; dos pacientes (7,1%) presentaban mutación en el exón 4. El paciente que presentaba una doble mutación, eran ambas en el exón 2. La mutación encontrada con mayor frecuencia fue la sustitución G12V (GTT), representando el 11,1% de los mutados (71,7%), seguido por el G12D (GAT) (8,1%) y por G13D (GAC) (4%). (Tabla 12).

Tabla 12: Análisis univariante de Mutaciones de KRAS

		N	%
TIPO MUTACIÓN KRAS-1		71	71,7%
	A146T (ACA)	2	2,0%
	G12D (GAT)	8	8,1%
	G12S (AGT)	1	1,0%
	G12V (GTT)	11	11,1%
	G13D (GAC)	5	4,0%
	Q61H (GTG)	2	2,0%
TIPO MUTACIÓN N-RAS		97	98,0%
	G12C (TGT)	1	1,0%
	G13R (CGT)	1	1,0%

Se ha comparado el tipo de mutación (codón y exón) de KRAS que se asocia con mejor respuesta patológica, pero debido al escaso número de casos no se puede aplicar ningún test para buscar asociación estadística significativa, pudiéndose realizar solo un análisis descriptivo. Relacionado el tipo de codón con los pacientes con RCP, se ve que la mayor incidencia de RCP aparece en la mutación G12D (25%) seguido de la G12V (18,2%) (Tabla 13)

Tabla 13: Distribución de frecuencias mutacionales por codones y RCP

		No RCP		RCP	
		N	%	N	%
Tipo mutación	G12V	9	81,8%	2	18,2%
	G12D	6	75,0%	2	25,0%
	G13D	4	100,0%	0	0,0%

Relacionando el tipo de codón mutado con el grado de respuesta anatomopatológica (buen/mal respondedor) la incidencia de buena respuesta aparece en la mutación G12D con un 50%, seguido de G12V (45,5%) y por último de G13D con el 25%. (Tabla 14)

Tabla 14: Distribución de frecuencias mutacionales por codones y tipo de respuesta

		Mal respondedor		Buen respondedor	
		N	%	N	%
Tipo mutación	G12V	6	54,5%	5	45,5%
	G12D	4	50,0%	4	50,0%
	G13D	3	75,0%	1	25,0%

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

Agrupando por exones, el 20% de las RCP se encuentran en el exón 2 (codones 12 y 13) y el 75% de los pacientes buenos respondedores con KRAS mutado, presentaban mutaciones en exón 2.

### **Datos de reevaluación radiológica**

Se dispone de control radiológico con IRM a las 5 semanas de finalización del tratamiento nQTRT de 82 pacientes. De ellos, el 65,7% se consideró que cumplía criterios RECIST de respuesta parcial; el 15% de enfermedad estable y 2 de respuesta completa radiológica. En los informes radiológicos postneoadyuvancia, se especificaba la estadificación tumoral (ymrT) en 69 pacientes (%). De ellos, 23 se clasificaron con cT2 (23,2%), 32 pacientes (32,3%) como cT3 y 12 pacientes (12,1%) como cT4. (Tabla 15)

Tabla 15: Análisis Univariante de datos de reevaluación radiológica

		n	%
ymr T=cTPost TRATAMIENTO	cTx	2	2,0%
	cT1	0	0,0%
	cT2	23	23,2%
	cT3	32	32,3%
	cT4	12	12,1%
	No indicado	30	30,3%
RECIST	RP	65	65,7%
	EE	15	15,2%
	PE	0	0,0%
	RC	2	2,0%
	No hay IRM	17	17,2%

### **Datos anatomopatológicos tras neoadyuvancia**

#### ***Calidad de cirugía y estatus de mesorrecto***

De los 99 pacientes intervenidos, la cirugía fue R0 en 96 (96,9%). El tiempo medio de espera desde el fin de tratamiento neoadyuvante hasta la intervención fue de 53,7 días (7,6 semanas). La extirpación del mesorrecto fue satisfactoria (exéresis completa al análisis anatomopatológico) en el 77,8% de los pacientes. Al análisis anatomopatológico, se observó afectación del margen de resección circunferencial (MRC) en 11 pacientes (11,1%) de los 99 intervenidos. (Tabla 16)

Tabla 16: Calidad de cirugía y estatus de mesorrecto

	n		%
AFECTACIÓN MRC	No	88	88,9%
	Si	11	11,1%
MESORRECTO COMPLETO	No	22	22,2%
	Si	77	77,8%
GRADO HISTOLÓGICO	No procede (RCP)	23	23,2%
	G1	23	23,2%
	G2	49	49,5%
	G3	4	4,0%

### ***Estadificación patológica y grado histológico.***

De los 99 pacientes intervenidos con adenocarcinoma de recto, la mayoría presentaba un grado moderado de diferenciación (49,5%) y sólo un 4% eran pobremente diferenciados. Un total de 22 pacientes presentaron respuesta completa patológica en el tumor primario (22,2%). En un paciente, no se identificaron depósitos ni células tumorales en la pieza de recto pero sí adenopatías. Un 42,4% presentaron estadificación tumoral ypTis, ypT1 o ypT2. En 33 pacientes (33,3%) la estadificación fue de ypT3 y en sólo dos casos de ypT4 (2,02%).

En cuanto a la estadificación ganglionar patológica, la mayoría de los pacientes no presentaban afectación metastásica ganglionar en la pieza quirúrgica (81,8%). En 11 pacientes la estadificación era ypN1 (11,1%), en 7 pacientes era ypN2 (7,1% y dos de éstos pacientes presentaban además depósitos tumorales en subserosa. La mediana de adenopatías analizadas fue de 9 con un rango entre 2 y 23. (Tabla 17)

En cuanto a invasión linfovascular, 13 (13,1%) pacientes presentaban infiltración de vasos linfáticos, 7 (7,1%) pacientes infiltración venosa y en 6 (6,1%) pacientes coexistían ambas.

Tabla 17: Estadificación patológica y grado histológico.

		N	%
ypT	Respuesta completa	22	22,2%
	T1	7	7,1%
	T2	33	33,3%
	T3a	27	27,3%
	T3b	6	6,1%
	T3c	0	,0%
	T4	2	2,0%
	Tis	2	2,0%
ypN	ypN0	81	81,8%
	ypN1	11	11,1%
	ypN1a	7	7,1%
	ypN1b	4	4%
	ypN1c	2	2%
	ypN2	7	7,1%
	ypN2a	4	4%
	ypN2b	3	3%

***Downstaging tumoral y grado de regresión tumoral.***

La mayoría presentó *Downstaging* tumoral (68%) y/o ganglionar (80%). La mayoría de pacientes presentó algún tipo de regresión tumoral según el grado de regresión tumoral de Mandard (87%). La mayoría (48%) de respuesta moderada o pobre (Mandard 3 o 4) . Un 21,2% presentó un grado completo de regresión (regresión grado 1) y un 11,1%, nula respuesta al tratamiento. Según el grado de Mandard, podemos clasificar a un 40,8% como buen respondedores (regresión grado 1 o 2) y a un 59,2% con pobres respondedores (Mandard grado 3, 4,5) (Tabla 18).

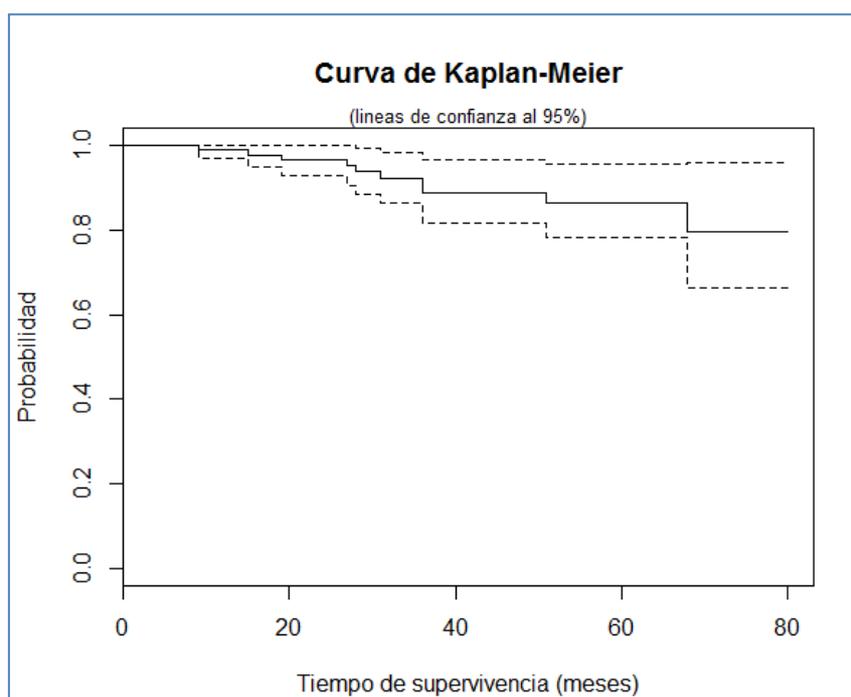
Tabla 18: *Downstaging* tumoral y grado de regresión tumoral.

		N	%
DOWNSTAGING T	No	31	31,3%
	Si	68	68,7%
DOWNSTAGING N	No	19	19,2%
	Si	80	80,8%
REGRESIÓN TUMORAL	No	12	12,1%
	Si	87	87,9%
GRADO REGRESIÓN TUMORAL (Mandard)	1	21	21,2%
	2	19	19,2%
	3	25	25,3%
	4	23	23,2%
	5	11	11,1%
Tipo respuesta	Buen respondedor	40	40,8%
	Mal respondedor	59	59,2%

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

## Datos de resultados oncológicos

La mediana de seguimiento fue de 44,17 meses con un rango entre 6,17 y 85 meses. En el momento del análisis de resultados, de los 99 pacientes analizados, 13 habían fallecido. De los 13 fallecidos, 9 pacientes fallecieron por la neoplasia y 4 pacientes fallecieron por causas no oncológicas ni relacionadas con el tratamiento. La media de supervivencia global fue de 72,5 meses (Gráfica 1).



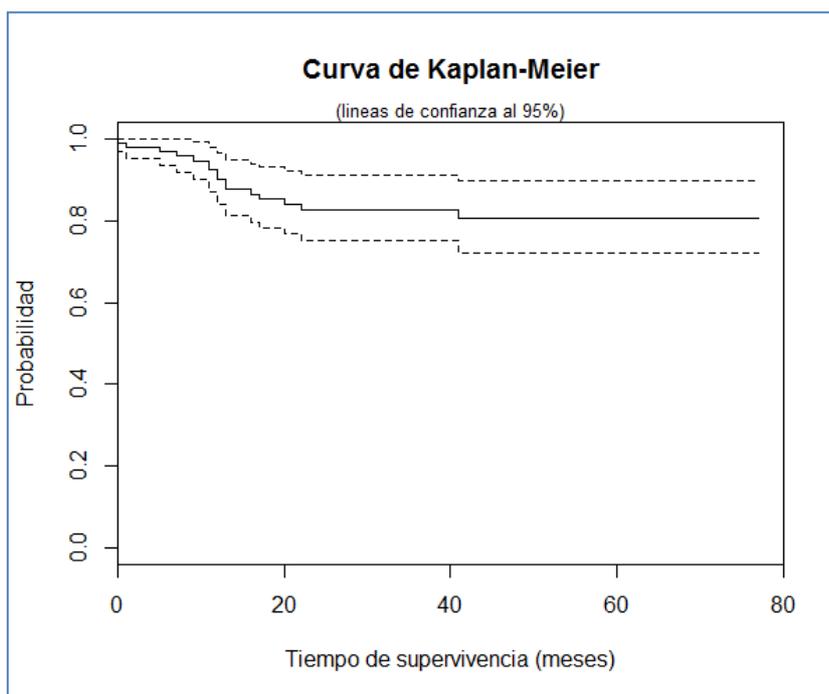
Gráfica 1: curva de Kaplan-Meier para SG de toda la serie

De los 99 pacientes analizados, 16 presentaron recaída durante el seguimiento (16,2%). Un 5,05% de los pacientes, presentaron recaída local y un 11,1 % recaída sistémica. Uno de los pacientes con recaída sistémica, presentó también recidiva local sincrónica. La SLE media para toda la serie fue de 64,9 meses.

De los pacientes que presentaron recaída local, 2 resultaron tener cirugía R1 por el informe de anatomía patológica, pudiendo ser rescatados con cirugía o retratamiento local con QTRT. De los 5 pacientes con recaída local, dos habían fallecido en el momento del análisis del estudio.

De los 11 pacientes con recaída sistémica, aislada o asociada a recaída local, 4 eran pacientes

que debutaron como metastásico y se hizo cirugía secuencial de la metástasis tras el tratamiento nQTRT sobre el cáncer de recto. De estos 4 pacientes metastásicos el diagnóstico que recayeron, 2 fallecieron y los otros dos se pudieron rescatar de nuevo quirúrgicamente estando vivos y libres de enfermedad. De los otros 7 pacientes que presentaron recaída sistémica, 3 se rescataron quirúrgicamente, estando vivos actualmente y 4 no pudieron recibir tratamiento quirúrgico ni local radical, siendo exitus durante el desarrollo del estudio.



Gráfica 2: curva de Kaplan-Meier para SLE de toda la serie

## ANÁLISIS BIVARIANTE.

### Análisis bivalente de Status KRAS

En el análisis bivalente por status de KRAS (mutado/*Wild Type*), no se encontró asociación estadísticamente significativa con variables epidemiológicas ni clínicas pre tratamiento. Los pacientes con KRAS mutado presentaban al diagnóstico un estadio T más precoz que los *Wild Type* (el 21,4% eran cT2 frente el 7% en el grupo *Wild Type*). Un porcentaje mayor de pacientes presentaba valores de CEA por encima de lo normal (>5ng/dl) en el grupo de pacientes con KRAS mutado (28,6%) frente los *Wild Type* (19,7%) (Tabla 19)

Tabla 19: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos clínico-epidemiológicos

		KRAS Wild Type		KRAS Mutado		p-valor
		N	%	n	%	
EDAD	< 65 años	31	43,7%	13	46,4%	0,783
	65-74 años	20	28,2%	6	21,4%	
	>=75 años	20	28,2%	9	32,1%	
IMC	Normal	24	33,8%	6	21,4%	0,408
	Sobrepeso	31	43,7%	16	57,1%	
	Obesidad	16	22,5%	6	21,4%	
SEXO	Hombre	45	63,4%	16	57,1%	0,565
	Mujer	26	36,6%	12	42,9%	
TABAQUISMO	Nunca	57	80,3%	18	64,3%	-
	Fumador	12	16,9%	9	32,1%	
	Exfumador > 1 año	2	2,8%	1	3,6%	
ENOLISMO	No	64	90,1%	25	89,3%	-
	Si	7	9,9%	3	10,7%	
ANT. FAMILIARES 1º CÁNCER COLORREC.	No	55	77,5%	26	92,9%	0,074
	Si	16	22,5%	2	7,1%	
ENFERMEDAD CRÓNICA	No	29	40,8%	14	50,0%	0,408
	Si	42	59,2%	14	50,0%	
HTA	No	42	59,2%	17	60,7%	0,887
	Si	29	40,8%	11	39,3%	
DM	No	58	81,7%	23	82,1%	0,958
	Si	13	18,3%	5	17,9%	
DL	No	49	69,0%	22	78,6%	0,342
	Si	22	31,0%	6	21,4%	
EPOC	No	69	97,2%	26	92,9%	-
	Si	2	2,8%	2	7,1%	
IRC	No	69	97,2%	24	85,7%	-
	Si	2	2,8%	4	14,3%	
CARDIOVASCULAR	No	61	85,9%	25	89,3%	-
	Si	10	14,1%	3	10,7%	
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	20	28,2%	10	35,7%	0,128
	Medio 7-11	37	52,1%	17	60,7%	
	Superior >11	14	19,7%	1	3,6%	
	cT2	5	7,0%	6	21,4%	
	cT3	58	81,7%	19	67,9%	
	cT4	8	11,3%	3	10,7%	
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	10	14,3%	4	14,3%	-
	cN+	60	85,7%	24	85,7%	
cM: METASTASICO	M0	60	84,5%	26	92,9%	-
	M1	11	15,5%	2	7,1%	
CEA	Normal <= 5ng/ml	57	80,3%	20	71,4%	0,340
	> 5 ng/ml	14	19,7%	8	28,6%	

En el grupo de variables de respuesta anatomopatológica y de respuesta oncológica (SG y SLE), sólo se identificó una asociación estadísticamente significativa (p 0,010) entre el grado de regresión tumoral de Mandard 1 y 3 y el status *Wild Type*. Los grados de regresión 2, 4 y 5 se relacionaron con RAS mutado. Mayor número de pacientes con KRAS *Wild Type* presentaron RCP que en el grupo de KRAS mutado (22,9% versus 17,9%). El grupo *Wild Type* también presentó mayor porcentaje de *Downstaging* de T (71,8 versus 60,7%) y de

*Downstaging* de N (83,1% versus 75%) que el grupo KRAS Mutado. El porcentaje de pacientes que presentó regresión tumoral en cualquier grado, también fue mayor en el grupo *Wild Type* (91,5% versus 78,6%) sin diferencias estadísticamente significativas. Este grupo de pacientes también presentó mayor porcentaje de exéresis satisfactoria (completa) de mesorrecto (78,9% frente 75%) y un menor porcentaje de pacientes con grado histológico pobremente diferenciado (1,4 versus 10,7%). (Tabla 20)

Tabla 20: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos anatomopatológicos

		KRAS Wild Type		KRAS Mutado		p-valor
		N	%	N	%	
ypT	Respuesta completa	17	23,9%	5	17,9%	0,159
	T1,T2,Tis	33	46,5%	9	32,1%	
	Resto	21	29,6%	14	50,0%	
ypN	Cero	60	84,5%	21	75,0%	0,269
	>= 1	11	15,5%	7	25,0%	
AFECTACIÓN MRC	No	65	91,5%	23	82,1%	-
	Si	6	8,5%	5	17,9%	
DOWNSTAGING T	No	20	28,2%	11	39,3%	0,283
	Si	51	71,8%	17	60,7%	
DOWNSTAGING N	No	12	16,9%	7	25,0%	0,357
	Si	59	83,1%	21	75,0%	
REGRESIÓN TUMORAL (SI/NO)	No	6	8,5%	6	21,4%	-
	Si	65	91,5%	22	78,6%	
GRADO REGRESIÓN TUMORAL Mandard	1	16	22,5%	5	17,9%	0,010*
	2	12	16,9%	7	25,0%	
	3	24	33,8%	1	3,6%	
	4	14	19,7%	9	32,1%	
	5	5	7,0%	6	21,4%	
MESORRECTO COMPLETO	No	15	21,1%	7	25,0%	0,676
	Si	56	78,9%	21	75,0%	
GRADO HISTOLÓGICO	No procede	18	25,4%	5	17,9%	-
	G1	19	26,8%	4	14,3%	
	G2	33	46,5%	16	57,1%	
	G3	1	1,4%	3	10,7%	
RCP	1	16	22,9%	5	17,9%	0,586
No RCP	2,3,4,5	54	77,1%	23	82,1%	

En cuanto a las variables de supervivencia, los pacientes con KRAS mutado presentaron mayor porcentaje de recaída global (sistémica o local) 21,4% versus 14,1%. Analizando por tipo de recaída, los pacientes con KRAS mutado presentaron mayor tendencia a recaída local (14,3% versus 1,4%) mientras que el grupo de pacientes con KRAS *Wild Type* presentan mayor tendencia a recidiva sistémica (12,7% versus 7,1%), siendo mayor el porcentaje de paciente fallecidos por la neoplasia al finalizar el estudio en el grupo de KRAS mutado (14,8% versus 8,8%). (Tabla 21)

Tabla 21: Análisis bivariante de Status KRAS. Datos de supervivencia

		KRAS Wild Type		KRAS Mutado		p-valor
		N	%	N	%	
RECAIDA (global)	No	61	85,9%	22	78,6%	-
	Si	10	14,1%	6	21,4%	
RECAIDA local	No	70	98,6%	24	85,7%	-
	Si	1	1,4%	4	14,3%	
RECAIDA sistémica	No	62	87,3%	26	92,9%	-
	Si	9	12,7%	2	7,1%	
EXITUS	Vivo	62	91,2%	23	85,2%	-
	Exitus por neo	6	8,8%	4	14,8%	

- $p < 0,05$

### Análisis bivariante de Status NRAS

Debido a escaso número de pacientes con NRAS mutado, no se puede aplicar ningún test estadístico ni establecer ninguna asociación entre variable. Se encontró mutación de NRAS en dos pacientes. Los dos pacientes presentaban afectación ganglionar, no tenían afectación metastásica al diagnóstico y el valor de CEA era normal. Los dos pacientes presentaron respuesta parcial radiológica al tratamiento neoadyuvante con un grado de regresión tumoral de Mandard 3. Ninguno de los dos pacientes ha presentado recaída durante el periodo que ha durado el seguimiento. (Tabla 22 y 23)

Tabla 22: Análisis bivariante de Status NRAS con variables clínicas.

		N-RAS WT		N-RAS Mutado		p-valor
		N	%	N	%	
SEXO	Hombre	59	60,8%	2	100,0%	-
	Mujer	38	39,2%	0	,0%	
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	29	29,9%	1	50,0%	-
	Medio 7-11	53	54,6%	1	50,0%	
	Superior >11	15	15,5%	0	0,0%	
	cT2	10	10,3%	1	50,0%	
	cT3	76	78,4%	1	50,0%	
	cT4	11	11,3%	0	0,0%	
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	14	14,6%	0	0,0%	-
	cN+	82	85,4%	2	100,0%	
cM: METASTASICO	M0	84	86,6%	2	100,0%	-
	M1	13	13,4%	0	0,0%	
CEA	Normal $\leq 5$ ng/ml	75	77,3%	2	100,0%	-
	> 5 ng/ml	22	22,7%	0	0,0%	
MR T=cTPost TRATAMIENTO	Respuesta completa	2	2,1%	0	0,0%	-
	cT1	0	,0%	0	0,0%	
	cT2	22	22,7%	1	50,0%	
	cT3	31	32,0%	1	50,0%	
	cT4	12	12,4%	0	0,0%	
	No indicado	30	30,9%	0	0,0%	

Tabla 23: Análisis bivariante de Status NRAS con variables de respuesta

		N-RAS Wild		N-RAS Mutado		p-valor
		N	%	N	%	
RECIST	RP	63	64,9%	2	100,0%	-
	EE	15	15,5%	0	0,0%	
	PE	0	,0%	0	0,0%	
	RC	2	2,1%	0	0,0%	
	No indicado	17	17,5%	0	0,0%	
ypT	Respuesta completa	22	22,7%	0	0,0%	-
	T1,T2,Tis	41	42,3%	1	50,0%	
	Resto	34	35,1%	1	50,0%	
ypN	Cero	80	82,5%	1	50,0%	-
	>= 1	17	17,5%	1	50,0%	
AFECTACIÓN MRC	No	86	88,7%	2	100,0%	-
	Si	11	11,3%	0	0,0%	
DOWNSTAGING T	No	29	29,9%	2	100,0%	-
	Si	68	70,1%	0	0,0%	
DOWNSTAGING N	No	19	19,6%	0	0,0%	-
	Si	78	80,4%	2	100,0%	
REGRESIÓN TUMORAL (SI/NO)	No	12	12,4%	0	0,0%	-
	Si	85	87,6%	2	100,0%	
GRADO REGRESIÓN TUMORAL Mandard	1	21	21,6%	0	0,0%	-
	2	19	19,6%	0	0,0%	
	3	23	23,7%	2	100,0%	
	4	23	23,7%	0	0,0%	
	5	11	11,3%	0	0,0%	
MESORRECTO COMPLETO	No	21	21,6%	1	50,0%	-
	Si	76	78,4%	1	50,0%	
GRADO HISTOLÓGICO	No procede	23	23,7%	0	0,0%	-
	G1	23	23,7%	0	0,0%	
	G2	47	48,5%	2	100,0%	
	G3	4	4,1%	0	0,0%	
RCP	Si	21	21,9%	0	0,0%	-
	No	75	78,1%	2	100,0%	
Tipo respuesta	Buen respondedor	40	41,7%	0	0,0%	-
	Mal respondedor	56	58,3%	2	100,0%	
RECAIDA (global)	No	81	83,5%	2	100,0%	-
	Si	16	16,5%	0	0,0%	
EXITUS neo	Vivo	83	89,2%	2	100,0%	-
	Exitus por neo	10	10,8%	0	0,0%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

### Análisis Bivariante de Respuesta Completa Patológica.

En el estudio bivariante de Pacientes con respuesta completa patológica, no se obtuvo ninguna relación estadísticamente significativa, probablemente por el escaso número de casos.

Del total de pacientes analizados, 21 pacientes obtuvieron respuesta completa patológica tras el tratamiento neoadyuvante, la mayoría de ellos, (62%) de más de 65 años.

El 71,4% de los pacientes con respuesta completa patológica, presentaba el tumor primario en recto medio, frente el 50,6% de los pacientes que No alcanzaron RCP. Similar porcentaje de afectación ganglionar se observó en el grupo de pacientes con RCP y No RCP (85,7% versus 86,8%). El 100% de los pacientes presentaba un CEA normal. La escisión de mesorrecto fue completa en el 100% y ninguno de los pacientes presentó recaída local o sistémica durante el seguimiento. (Tabla 24)

Tabla 24: Análisis Bivariante de Respuesta Completa Patológica.

		Respuesta 1		Respuesta 2,3,4,5		p-valor
		N	%	N	%	
EDAD	< 65 años	8	38,1%	36	46,8%	0,767
	65-74 años	6	28,6%	20	26,0%	
	>=75 años	7	33,3%	21	27,3%	
IMC	Normal	5	23,8%	25	32,5%	0,385
	Sobrepeso	9	42,9%	37	48,1%	
	Obesidad	7	33,3%	15	19,5%	
SEXO	Hombre	10	47,6%	50	64,9%	0,149
	Mujer	11	52,4%	27	35,1%	
TABAQUISMO	Nunca	16	76,2%	58	75,3%	-
	Fumador	5	23,8%	16	20,8%	
	Exfumador > 1 año	0	,0%	3	3,9%	
ENOLISMO	No	19	90,5%	69	89,6%	-
	Si	2	9,5%	8	10,4%	
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	3	14,3%	26	33,8%	0,180
	Medio 7-11	15	71,4%	39	50,6%	
	Superior >11	3	14,3%	12	15,6%	
	cT2	2	9,5%	9	11,7%	
	cT3	18	85,7%	58	75,3%	
	cT4	1	4,8%	10	13,0%	
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	3	14,3%	10	13,2%	-
	cN+	18	85,7%	66	86,8%	
cM: METASTASICO	M0	20	95,2%	65	84,4%	-
	M1	1	4,8%	12	15,6%	
CEA	Normal <= 5ng/ml	21	100,0%	55	71,4%	-
	> 5 ng/ml	0	,0%	22	28,6%	
RECAIDA (global)	No	21	100,0%	61	79,2%	-
	Si	0	,0%	16	20,8%	
EXÓN MUTADO	Dos	4	80,0%	20	87,0%	-
	Tres	0	,0%	2	8,7%	
	Cuatro	1	20,0%	1	4,3%	

Tras el cálculo de Odds Ratio e intervalos de confianza para valorar la magnitud de la asociación predictiva entre variables clínico-demográficas, no se encontraron resultados estadísticamente significativos, pero se observa una mayor asociación entre la localización tumoral en tercio medio y la posibilidad de RCP, encontrándose en estos pacientes una probabilidad triplicada para dicha respuesta. (Tabla 25)

Tabla 25: Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para RCP

		OR	IC 95%	p-valor
SEXO	Hombre	1		
	Mujer	2,04	(0,77-5,41)	0,153
TABAQUISMO	Nunca	1		
	Fumador	1,13	(0,36-3,57)	0,831
ENOLISMO	Exfumador más 1 año	-	-	-
	No	1		
ALTURA RECTO	Si	0,91	(0,18-4,64)	0,908
	Inferior 0-6	1		
	Medio 7-11	3,33	(0,88-12,67)	0,077
	Superior >11	2,17	(0,38-12,35)	0,384
cTpre –tratamiento	cT2	1		
	cT3	1,40	(0,28-7,06)	0,686
	cT4	0,45	(0,03-5,84)	0,542
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	1		
	cN+	0,91	(0,23-3,66)	0,893
cM: METASTASICO	M0	1		
	M1	0,27	(0,03-2,21)	0,223

Relacionado con el IMC, se observó que por cada unidad que incrementa el IMC basal incrementa el riesgo de RCP en un 11%. (Tabla 26)

Tabla 26: Odds Ratio e IC para variables continuas.

RCP	OR	IC 95%	p-valor
EDAD al dx	1,00	(0,98-1,01)	0,688
IMC	1,11	(0,98-1,25)	0,099

### **Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor.**

En el análisis bivariante relacionando el grado de respuesta con las variables epidemiológicas basales no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes buen respondedores (Grado de regresión tumoral de Mandard 1 y 2) y mal respondedores (grado de regresión tumoral de Mandard 3, 4 y 5)

El porcentaje de pacientes con elevación basal de CEA era significativamente menor en el grupo de pacientes que alcanzaron una buena respuesta patológica (5%) versus los que alcanzaron una mala respuesta patológica (34,5%). El porcentaje de pacientes metastásicos con buena respuesta patológica también era significativamente menor en el primer grupo (5% versus 19%). (Tabla 27)

Tabla 27: Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor. Variable clínico-epidemiológica.

		Buen respondedores		Mal respondedores		p-valor
		N	%	n	%	
EDAD	< 65 años	15	37,5%	29	50,0%	0,473
	65-74 años	12	30,0%	14	24,1%	
	>=75 años	13	32,5%	15	25,9%	
IMC	Normal	10	25,0%	20	34,5%	0,391
	Sobrepeso	18	45,0%	28	48,3%	
	Obesidad	12	30,0%	10	17,2%	
SEXO	Hombre	23	57,5%	37	63,8%	0,530
	Mujer	17	42,5%	21	36,2%	
TABAQUISMO	Nunca	31	77,5%	43	74,1%	-
	Fumador	8	20,0%	13	22,4%	
	Exfumador > 1 año	1	2,5%	2	3,4%	
ENOLISMO	No	36	90,0%	52	89,7%	-
	Si	4	10,0%	6	10,3%	
ANT. FAMILIARES CÁNCER COLORREC. 1º	No	34	85,0%	46	79,3%	0,475
	Si	6	15,0%	12	20,7%	
ENFERMEDAD CRÓNICA	No	15	37,5%	27	46,6%	0,373
	Si	25	62,5%	31	53,4%	
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	12	30,0%	17	29,3%	0,861
	Medio 7-11	21	52,5%	33	56,9%	
	Superior >11	7	17,5%	8	13,8%	
	cT2	5	12,5%	6	10,3%	
	cT3	33	82,5%	43	74,1%	
	cT4	2	5,0%	9	15,5%	
cN pre-TRATAMIENTO	cN0	7	17,5%	6	10,5%	0,373
	cN+	33	82,5%	51	89,5%	
cM: METASTASICO	M0	38	95,0%	47	81,0%	0,045*
	M1	2	5,0%	11	19,0%	
CEA	Normal <= 5ng/ml	38	95,0%	38	65,5%	0,001*
	> 5 ng/ml	2	5,0%	20	34,5%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

La mayoría de pacientes buen respondedores, presentaron una estadificación tumoral final Tis-T1-T2 (45% de los casos, frente un 39% en los mal respondedores). Tres pacientes buen respondedores (7,55%) presentaban persistencia de enfermedad ganglionar pese una buena respuesta tumoral en el primario, mientras que la afectación ganglionar patológica fue del 25,9% en el grupo de pacientes con mala respuesta, con diferencias estadísticamente significativa. Ninguno de los pacientes recidivó durante el seguimiento del grupo de pacientes buen respondedores, frente el 27,6%, siendo las diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 28)

Tabla 28: Análisis Bivariante según Tipo de Respuesta: Buen respondedor versus mal respondedor. Variables anatomopatológicas y de supervivencia

		Buen respondedores		Mal respondedores		p-valor
		n	%	N	%	
ypT	Respuesta completa	21	52,5%	1	1,7%	<0,001*
	T1,T2,Tis	18	45,0%	23	39,7%	
	Resto	1	2,5%	34	58,6%	
ypN	Cero	37	92,5%	43	74,1%	0,021*
	>= 1	3	7,5%	15	25,9%	
AFECTACIÓN MRC	No	37	92,5%	50	86,2%	-
	Si	3	7,5%	8	13,8%	
MESORRECTO COMPLETO	No	10	25,0%	12	20,7%	0,615
	Si	30	75,0%	46	79,3%	
GRADO HISTOLÓGICO	No procede	21	52,5%	2	3,4%	-
	G1	10	25,0%	12	20,7%	
	G2	8	20,0%	41	70,7%	
	G3	1	2,5%	3	5,2%	
RECAIDA (global)	No	40	100,0%	42	72,4%	<0,001*
	Si	0	,0%	16	27,6%	
EXITUS neo	Vivo	39	100,0%	45	81,8%	-
	Exitus por neo	0	,0%	10	18,2%	
KRAS	Mutado	12	29,3%	16	27,5%	-
	Wild Type	28	68,3%	42	72,4%	
EXÓN MUTADO	Dos	11	91,7%	13	81,3%	-
	Tres	0	,0%	2	12,5%	
	Cuatro	1	8,3%	1	6,3%	

\* p < 0,05; Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

Con el cálculo de Odds Ratio e intervalos de confianza al 95% para la variable buen respondedor, se encontró que la presencia de un CEA basal al diagnóstico normal aporta una probabilidad 10 veces superior para presentar una buena respuesta patológica, y que el incremento por unidad de IMC aporta una probabilidad mayor de buen respondedor en un 12%. (Tabla 29 y 30)

Tabla 29: Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables clínico epidemiológicas.

		OR	IC 95%	p-valor
SEXO	Hombre	1		
	Mujer	1,30	(0,57-2,97)	0,530
TABAQUISMO	Nunca	1		
	Fumador	0,85	(0,32-2,31)	0,755
	Exfumador >1 año	0,69	(0,06-7,99)	0,769
ENOLISMO	No	1		
	Si	0,96	(0,25-3,66)	0,956
ANT. FAM 1º COLORREC.	No	1		
	Si	0,68	(0,23-1,98)	0,476
ENFERMEDAD CRÓNICA	No	1		
	Si	1,45	(0,64-3,3)	0,374
ALTURA RECTO	Inferior 0-6	1		
	Medio 7-11	0,90	(0,36-2,26)	0,825
	Superior >11	1,24	(0,35-4,35)	0,737
cTpre -tratamiento	cT2	1		
	cT3	0,92	(0,26-3,28)	0,899
	cT4	0,27	(0,04-1,85)	0,181
cN pre-TRATAMIENTO	N0	1		
	cN+	0,55	(0,17-1,8)	0,325
cM: METASTASICO	M0	1		
	M1	0,22	(0,05-1,08)	0,062
CEA	Normal <= 5ng/ml	1		
	> 5 ng/ml	0,10	(0,02-0,46)	0,003*

Tabla 30: Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables clínicas continuas

BUEN RESPONDEDOR	(Mandard 1 y 2)	OR	IC 95%	p-valor
EDAD al dx	1,00		(0,98-1,01)	0,551
PESO KG	1,02		(0,99-1,05)	0,185
TALLA M	1,00		(0,99-1,00)	0,479
IMC	1,12		(1,01-1,24)	0,036*

\* p < 0,05

En las variables patológicas, el *Downstaging* tumoral es el que mayor probabilidad aporta a un buen grado de respuesta tumoral, como es de esperar, con diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 31)

Tabla 31: Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para buen respondedores y variables patológicas

		OR	IC 95%	p-valor
AFECTACIÓN MRC	No	1		
	Si	0,51	(0,13-2,04)	0,339
DOWNSTAGING T	No	1		
	Si	19,00	(4,19-86,2)	<0,001*
DOWNSTAGING N	No	1		
	Si	2,02	(0,66-6,21)	0,219
MESORRECTO COMPLETO	No	1		
	Si	0,78	(0,30-2,04)	0,616
KRAS	Wild Type	1		
	Mutado	1,12	(0,46-2,73)	0,795

\* p < 0,05

### Modelo Multivariante según tipo de respuesta (buen respondedores/Mal respondedores)

En el modelo multivariante logístico, ajustado a edad, sexo e IMC, tanto CEA normal basal como un *Downstaging* tumoral se relacionan estadísticamente con ser buen respondedor (Tabla 32)

Tabla 32: Análisis multivariante para Tipo de respuesta (Buen/mal respondedor)

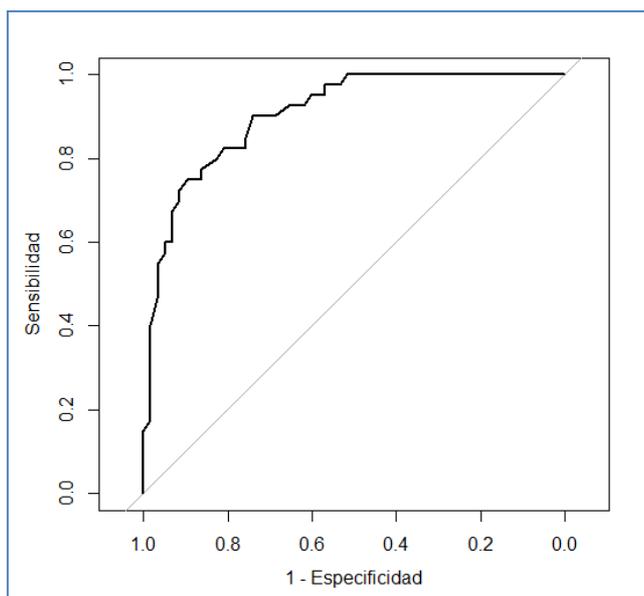
		OR	IC 95%	p-valor
EDAD	< 65 años	1		
	65-74 años	1,309	(0,311-5,52)	0,713
	>=75 años	3,848	(0,825-17,951)	0,086
IMC	Normal	1		
	Sobrepeso	0,656	(0,163-2,648)	0,554
	Obesidad	1,208	(0,225-6,487)	0,825
SEXO	Hombre	1		
	Mujer	1,321	(0,389-4,487)	0,655
CEA	> 5 ng/ml	1		
	Normal <= 5ng/ml	6,069	(1,034-35,636)	0,046*
DOWNSTAGING T	No	1		
	Si	10,286	(1,731-61,114)	0,010*

\* p < 0,05; Mal respondedor: Mandard 3,4 y 5; Buen respondedor: Mandard 1 y 2

Para confirmar que el modelo multivariante ajusta bien los datos y posee una alta capacidad predictiva para ser buen respondedor se elaboró una Curva ROC que confirma dicha alta capacidad predictiva (Tabla 33)

Tabla 33: Curva ROC del modelo predictivo buen respondedor

N	n Respuesta 1,2	Chi2	p-valor	área ROC	IC 95%
98	40	56,9	< 0,001	0,9065	(0,8496-0,9633)



### ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GLOBAL

Para el análisis de supervivencia Global se incluyeron los pacientes que durante el seguimiento habían fallecido por la neoplasia (10 pacientes) excluyendo 4 pacientes que habían fallecido por otras causas diferentes a la neoplasia. El análisis se realizó sobre 85 pacientes.

De éstos pacientes analizados, el análisis descriptivo según las variables predictivas analizadas, mostró que un 14,8% de los pacientes fallecidos presentaban KRAS mutado frente a un 8,8% de los pacientes que eran KRAS *Wild Type*. Las diferencias no eran estadísticamente significativas, pero en el análisis de regresión logística se vio un riesgo incrementado de 1,77 veces de fallecer por neoplasia en aquellos pacientes KRAS Mutado. Como era de esperar ningún paciente con respuesta completa o buen respondedor, había fallecido por la neoplasia en el momento del cierre de seguimiento. (Tabla 34)

Tabla 34: Distribución exitus neoplasia por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.

		Vivo		Exitus por neo		p-valor
		N	%	N	%	
KRAS	Wild Type	62	91,2%	6	8,8%	-
	Mutado	23	85,2%	4	14,8%	
CEA	<= 5ng/ml	67	91,8%	6	8,2%	-
	> 5 ng/ml	18	81,8%	4	18,2%	
RCP	NO	63	86,3%	10	13,7%	-
	Si	21	100,0%	0	,0%	
Tipo respuesta	Mal respondedor	45	81,8%	10	18,2%	-
	Buen respondedor	39	100,0%	0	,0%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

En el análisis de regresión de Cox, además de un riesgo incrementado para fallecer en el grupo KRAS mutado, se observó un riesgo incrementado de fallecer en 2,72 veces, en el grupo de pacientes que presentaban al diagnóstico un CEA >5ng/dl, sin ser las diferencias estadísticamente significativas. El incremento de riesgo de muerte atribuido según la regresión de Cox elaborada, para los grupos de pacientes mal respondedores o sin RCP se asume que está sobreestimada por la n del estudio. (Tabla 35)

Tabla 35: Regresión de Cox. Ajuste simple para exitus por neoplasia.

		HR	IC 95%	p-valor
KRAS	Wild Type	1		
	Mutado	1,778	(0,501-6,317)	0,373
CEA	<= 5ng/ml	1		
	> 5 ng/ml	2,728	(0,768-9,692)	0,121
RCP	Si	1		
	No	33,180	(0,08-1246)	0,247
Tipo respuesta	Buen respondedor	1		
	Mal respondedor	55,799	(0,332-9380)	0,124

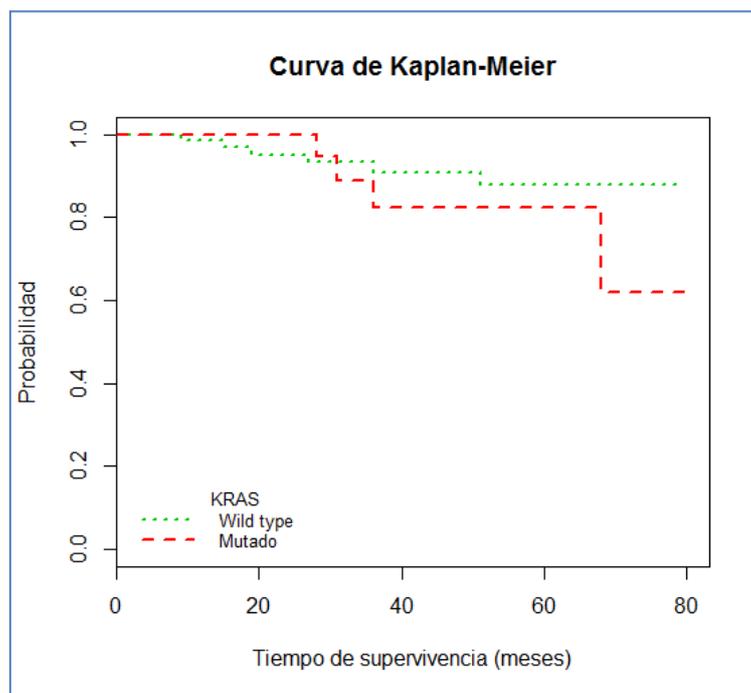
Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

A continuación se muestran las curvas de Supervivencia Kaplan-Meier para el exitus por neoplasia, distribuido por población KRAS, por estatus de CEA por buen/mal respondedor y por grupo de RCP. En la única que se obtiene resultados estadísticamente significativos es cuando diferenciamos la población entre buen y mal respondedores (66 meses vs 79 meses; p 0,003).

Roza la significación estadísticamente y probablemente no se alcance por la n de pacientes (69 meses versus 79 meses; p 0,53) cuando diferenciamos entre pacientes con RCP y no RCP. (Gráfica 3, 4,5 y 6)

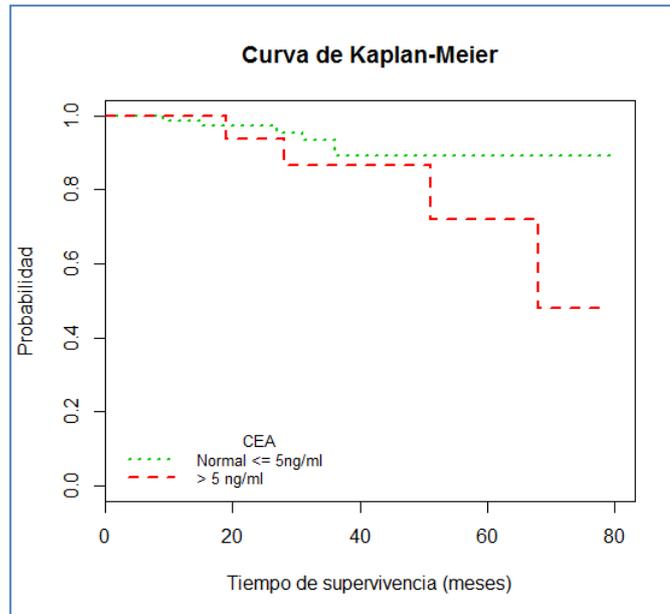
Gráfica 3: Curva Kaplan-Meier de SG por status de KRAS

	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
KRAS Wild Type	68	6	73,4	2,35	0,366
KRAS Mutado	27	4	68,8	4,61	



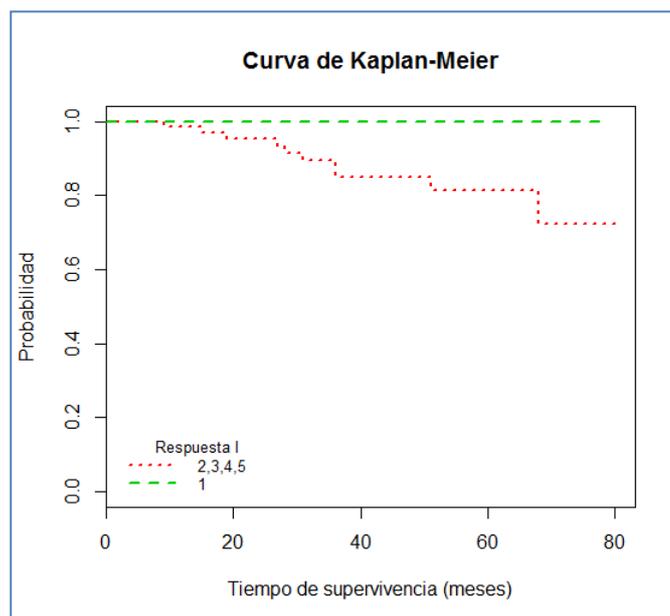
Gráfica 4: Curva de Kaplan-Meier de SG por nivel de CEA basal

	n	Events	Tiempo medio	error	p-valor
CEA <=5ng/ml	73	6	73,9	2,19	0,105
CEA >5ng/ml	22	4	65,1	5,80	



Gráfica 5: Curva de Kaplan-Meier de SG según RCP o No RCP

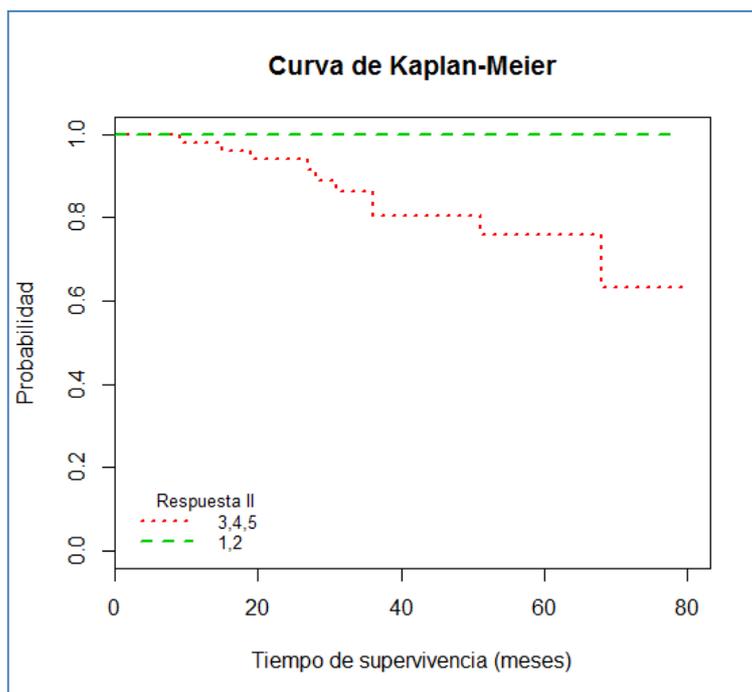
	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
RCP No	73	10	69,1	2,82	0,053
RCP Sí	21	0	79,0	0,00	



Gráfica 6: Curva de Kaplan-Meier de SG según buen/mal respondedor

	n	Events	Tiempo medio	error	p-valor
Mal respondedor	55	10	66,0	3,53	0,003*
Buen respondedor	39	0	79,0	0,00	

\*p<0,05; Mal respondedor: Mandard 3, 4 y5; Buen respondedor Mandard 1 y 2



## ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

En el análisis bivalente de SLE con los factores predictivos analizados, el único que mostró una asociación estadísticamente significativa es el tipo de respuesta (buen /mal respondedor). No se encontró ninguna recaída en pacientes buen respondedores con una  $p < 0,001$ . Sin poder aplicar test estadístico por pocos casos mutados, el grupo de pacientes KRAS mutado, presentaba mayor número de recidivas (21,4%) que el grupo de pacientes *Wild Type* (14,1%). (Tabla 36).

Tabla 36: Distribución frecuencia recaídas por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.

		Recaída No		Recaída SI		p-valor
		N	%	N	%	
KRAS	Wild Type	61	85,9%	10	14,1%	-
	Mutado	22	78,6%	6	21,4%	
CEA	<= 5ng/ml	66	85,7%	11	14,3%	-
	> 5 ng/ml	17	77,3%	5	22,7%	
RCP	NO	61	79,2%	16	20,8%	-
	SI	21	100,0%	0	0,0%	
Tipo Respuesta	Mal respondedor	42	72,4%	16	27,6%	<0,001*
	Buen respondedor	40	100,0%	0	0,0%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

Realizando el ajuste simple para supervivencia por regresión de Cox, el único factor que presenta de manera significativa incremento de riesgo de recaída de cualquier tipo (local o sistémica) es ser un mal respondedor (p 0,048). El valor de HR obtenido de 58,9 con IC 95% (1,042-333,8), probablemente esté sobreestimado aunque sea realmente un factor de riesgo. Tanto presentar un CEA basal elevado como presentar KRAS mutado, son factores de riesgo de recidiva, con HR de 2,10 y HR de un 1,74, respectivamente, sin llegar a tener significación estadística. (Tabla 37)

Tabla 37: Regresión de Cox. Ajuste simple para riesgo recaída de enfermedad

		HR	IC 95%	p-valor
KRAS	Wild Type	1		
	Mutado	1,744	(0,633-4,806)	0,282
CEA	<= 5ng/ml	1		
	> 5 ng/ml	2,104	(0,727-6,090)	0,170
RCP	SI	1		
	NO	32,754	(0,290-3695)	0,148
Tipo respuesta	Buen respondedor	1		
	Mal respondedor	58,963	(1,042-333,8)	0,048*

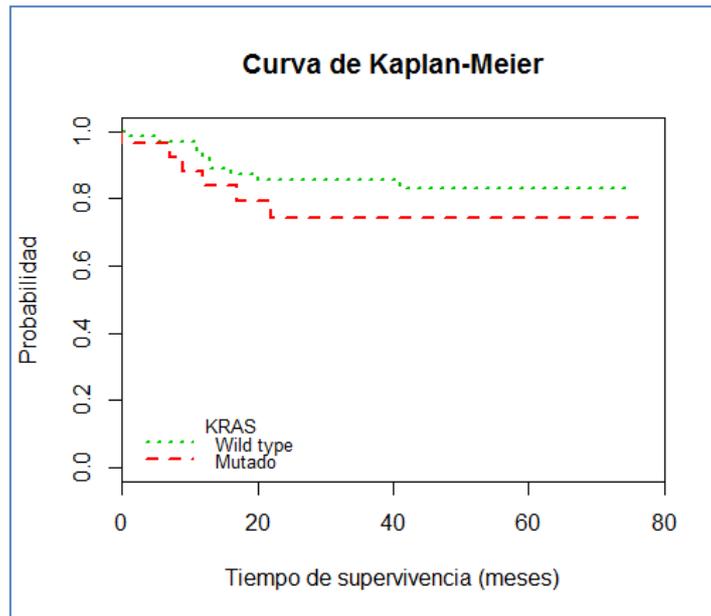
Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

A continuación se muestran las curvas Kaplan Meier de SLE según los factores predictivos analizados previamente, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas únicamente al analizar por tipo de respuesta (buen/mal respondedor) con diferencias en SLE de 54,9

meses versus 76 meses  $p < 0.001$  a favor del grupo buen respondedor; y distribuyendo la SLE por RCP si/No, con valores de SLE de 60 meses vs 76 meses  $p 0.016$ . (Gráficas 7, 8, 9 y 10)

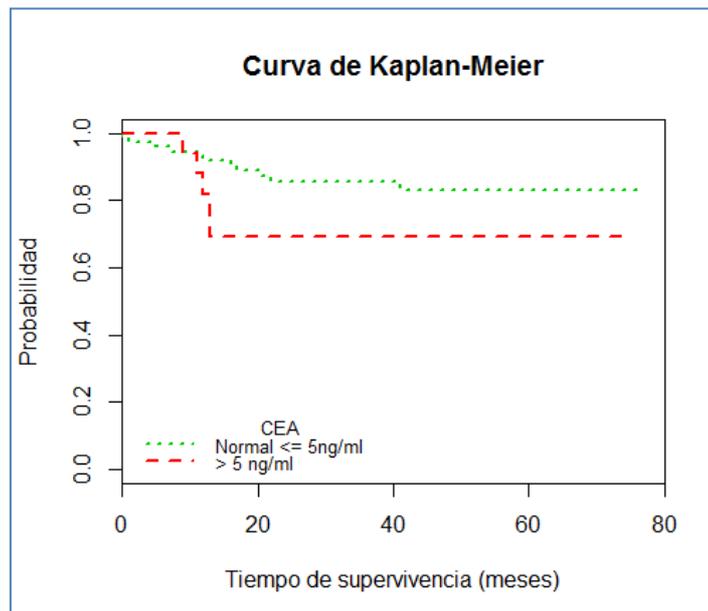
Gráfica 7: Curva Kaplan Meier de SLE por KRAS.

	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
KRAS Wildt type	71	10	65,8	2,9	0,275
KRAS Mutado	28	6	59,6	5,8	



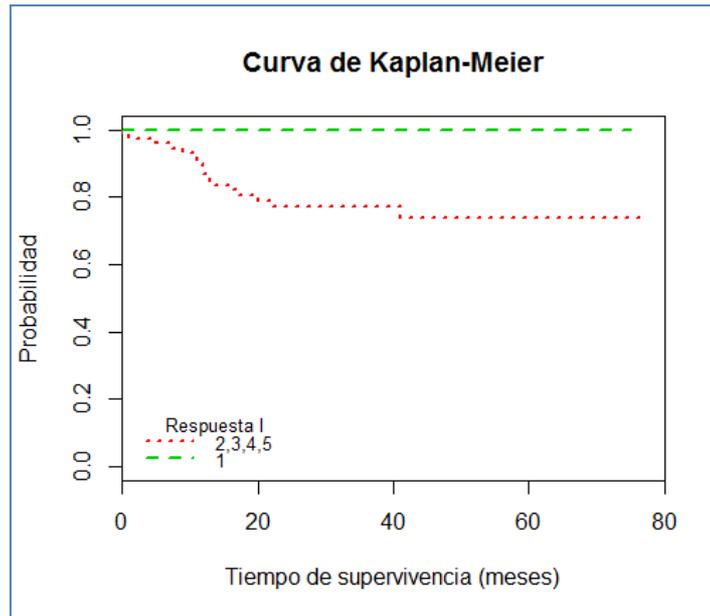
Gráfica 8: Curva de Kaplan Meier de SLE por nivel basal de CEA.

	N	Events	Tiempo medio	Error	p-valor
CEA $\leq 5$ ng/ml	77	11	65,9	2,8	0,160
CEA $> 5$ ng/ml	22	5	56,3	7,4	



Gráfica 9: Curva de Kaplan Meier de SLE por RCP

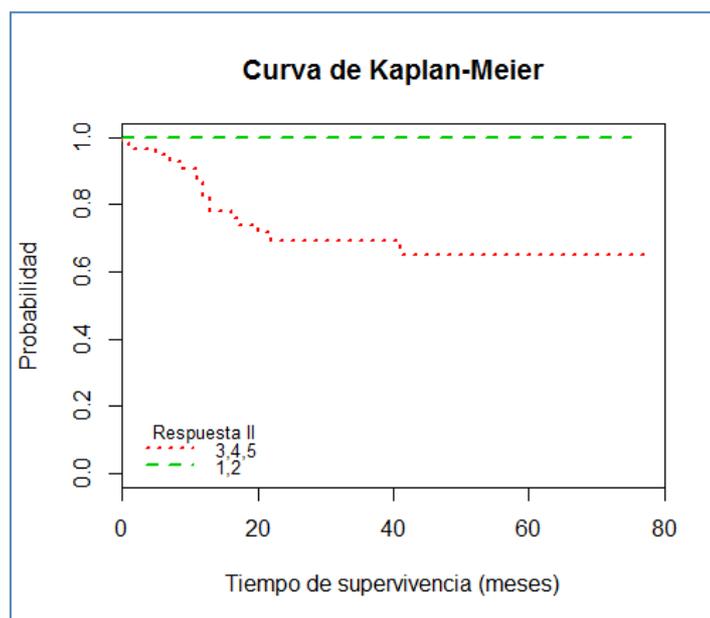
	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
RCP no	77	16	60,1	3,4	0,016*
RCP Si	21	0	76	0	



Gráfica 10: Curva de Kaplan Meier de SLE por tipo de respuesta (Buen/mal respondedor)

	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
Mal respondedor	58	16	54,9	4,3	<0,001*
Buen respondedor	40	0	76	0	

\* p < 0,05; Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2



## ANÁLISIS DE SLE POR TIPO DE RECAÍDA: LOCAL O SISTÉMICA.

### Análisis de SLE para recaída local (RL).

En el análisis bivariante por marcadores predictivos analizados, no se puede aplicar test estadístico por falta de eventos. En el análisis descriptivo se puede observar una mayor incidencia de recaídas locales en el grupo de pacientes Kras Mutado (14,3%) frente *Wild Type* (1,4%), al igual que una mayor incidencia de recidivas en el grupo de pacientes con CEA elevado (9,1% versus un 3,9%) (Tabla 38).

Tabla 38: Distribución frecuencia RL por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.

		Recaída local No		Recaída local SI		p-valor
		n	%	N	%	
KRAS	Wild Type	70	98,6%	1	1,4%	-
	Mutado	24	85,7%	4	14,3%	
CEA	<= 5ng/ml	74	96,1%	3	3,9%	-
	> 5 ng/ml	20	90,9%	2	9,1%	
RCP	No	72	93,5%	5	6,5%	-
	SI	21	100,0%	0	,0%	
Tipo Respuesta	Mal respondedor	53	91,4%	5	8,6%	-
	Buen respondedor.	40	100,0%	0	,0%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

En el ajuste simple por regresión de Cox, tanto CEA elevado como KRAS mutado incrementaban el riesgo de recidiva local (HR de 3,4 y HR 11,88 respectivamente), siendo únicamente estadísticamente significativo para status de KRAS mutado. (Tabla 39)

Tabla 39: Regresión de Cox. Ajuste simple para recaída local.

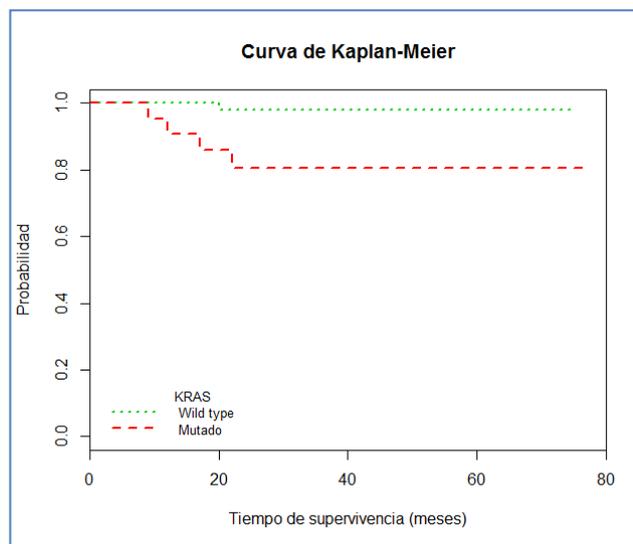
		HR	IC 95%	p-valor
KRAS	Wild Type	1		
	Mutado	11,889	(1,328-106,409)	0,027*
CEA	<= 5ng/ml	1		
	> 5 ng/ml	3,423	(0,569-20,587)	0,179
RCP	Si	1		
	No	33,338	(0,008-1373)	0,409
Tipo Respuesta	Buen respondedor	1		
	Mal respondedor	62,184	(0,047-8315)	0,261

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

A continuación se muestran las curvas Kaplan Meier de SLE para los pacientes con recaída local según las variables predictivas analizadas. Se observa una diferencia estadísticamente significativa en el grupo analizado por KRAS (74,9 meses versus 64,2 meses; p 0,005) a favor del grupo KRAS WT y en el grupo analizado por tipo de respuesta (buen/mal respondedor) de 68,3 meses versus 76 meses p 0,029. (Gráficas 11, 12,13 y 14)

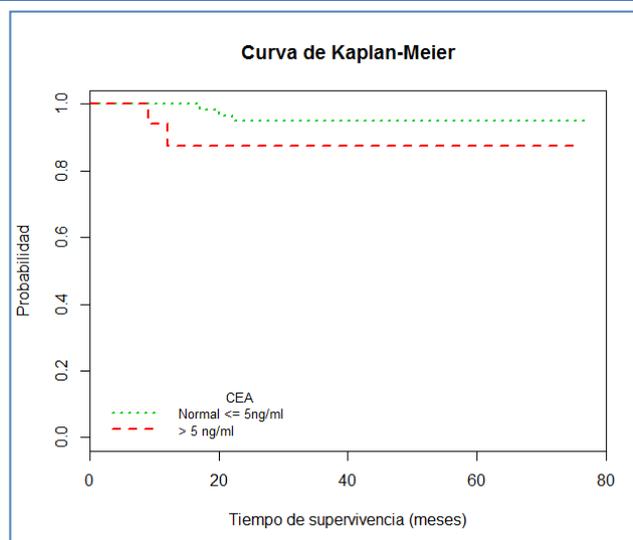
Gráfica 11: Curva Kaplan Meier de SLE en recaída local por status KRAS.

	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
KRAS Wild Type	71	1	74,9	1,1	0,005*
KRAS Mutado	28	4	64,2	5,3	



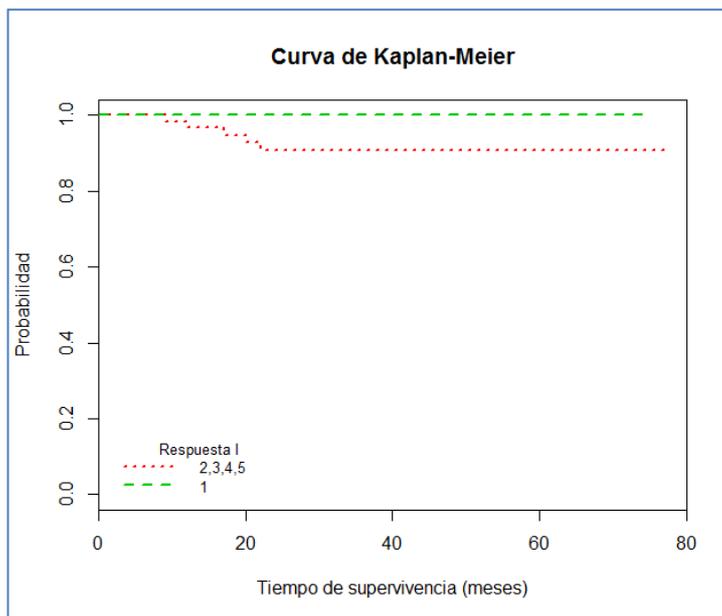
Gráfica 12: Curva de Kaplan Meier de SLE en recaída local por nivel de CEA

	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
CEA <=5ng/ml	77	3	73,1	1,6	0,153
CEA >5ng/ml	22	2	67,8	5,4	



Gráfica 13: Curva de Kaplan Meier de SLE en recaída local por RCP Si/no

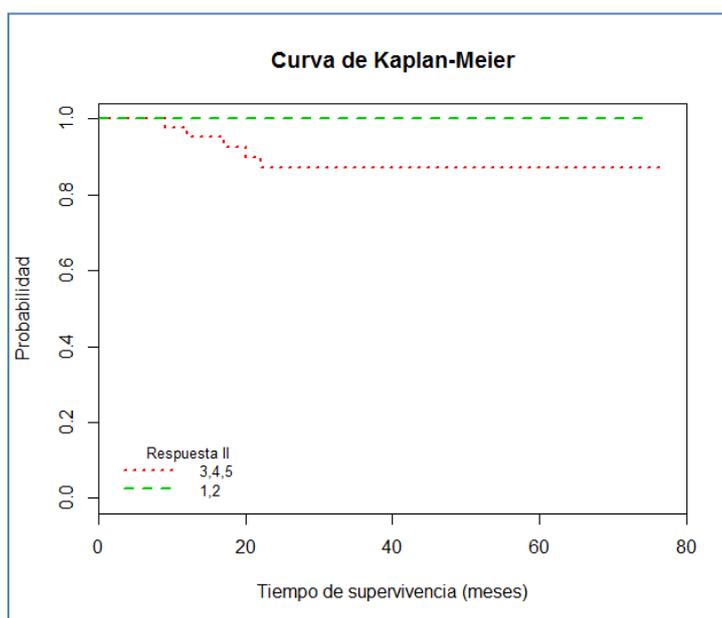
	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
RCP no	77	5	70,5	2,3	0,169
RCP Sí	21	0	76,0	0,0	



Gráfica 14: Curva de Kaplan Meier de SLE en recaída local por tipo respuesta (Buen/mal respondedor)

	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
Mal respondedor	58	5	68,3	3,2	0,029*
Buen respondedor	40	0	76,0	0,0	

\*  $p < 0,05$ ; Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2



### Análisis de SLE para recaída sistémica.

En el análisis bivariante de recaída sistémica, al igual que en recidiva local, debido al escaso número de eventos no se puede aplicar ningún test para la obtención de resultados estadísticamente significativos. En el análisis descriptivo, se observa un mayor porcentaje de paciente Wild Type con recaída sistémica (12,7%) frente un 7,1% de pacientes con KRAS mutado con recaída sistémica. (Tabla 40)

Tabla 40: Distribución frecuencia recaída sistémica por factor predictivo analizado y tipo de respuesta.

		Recaída sistémica No		Recaída sistémica SI		p-valor
		N	%	N	%	
KRAS	Wild Type	62	87,3%	9	12,7%	-
	Mutado	26	92,9%	2	7,1%	
CEA	<= 5ng/ml	69	89,6%	8	10,4%	-
	> 5 ng/ml	19	86,4%	3	13,6%	
RCP	No	66	85,7%	11	14,3%	-
	Si	21	100,0%	0	0,0%	
Tipo Respuesta	Mal respondedor	47	81,0%	11	19,0%	-
	Buen respondedor	40	100,0%	0	0,0%	

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

Aplicando un ajuste simple por regresión de Cox, presentar Kras mutado presenta una HR de 0,63 con IC (0,137-2,98) sin resultar estadísticamente significativo. (Tabla 41)

Tabla 41: Regresión de Cox. Ajuste simple para recaída sistémica.

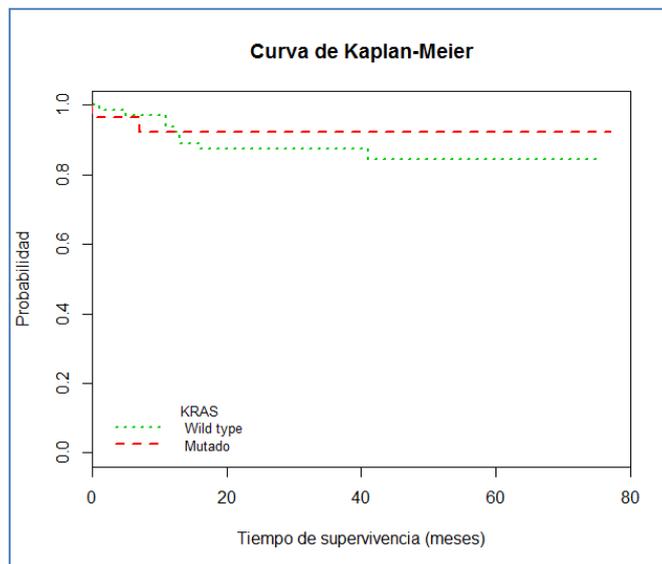
		HR	IC 95%	p-valor
KRAS	Wild Type	1		
	Mutado	0,638	(0,137-2,986)	0,565
CEA	<= 5ng/ml	1		
	> 5 ng/ml	1,655	(0,436-6,284)	0,459
RCP	Si	1		
	No	32,478	(0,104-1011)	0,235
Tipo de Respuesta	Buen respondedor	1		
	Mal Respondedor	57,517	(0,439-7538)	0,103

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

A continuación se muestran las curvas de Kaplan Meier de SLE para recaída sistémica por variables predictivas analizadas, Observándose diferencias estadísticamente significativas únicamente en los curvas por grupos RCP Si/No y por tipo de respuesta (buen/mal respondedor) (Gráfica 15, 16, 17 y 18).

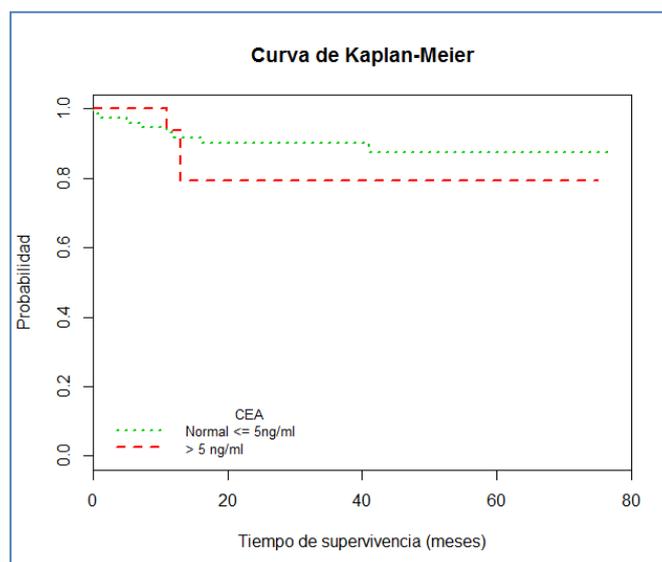
Gráfica 15: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por status de KRAS

	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
KRAS Wild Type	71	9	66,8	2,8	0,561
KRAS Mutado	28	2	70,5	3,7	



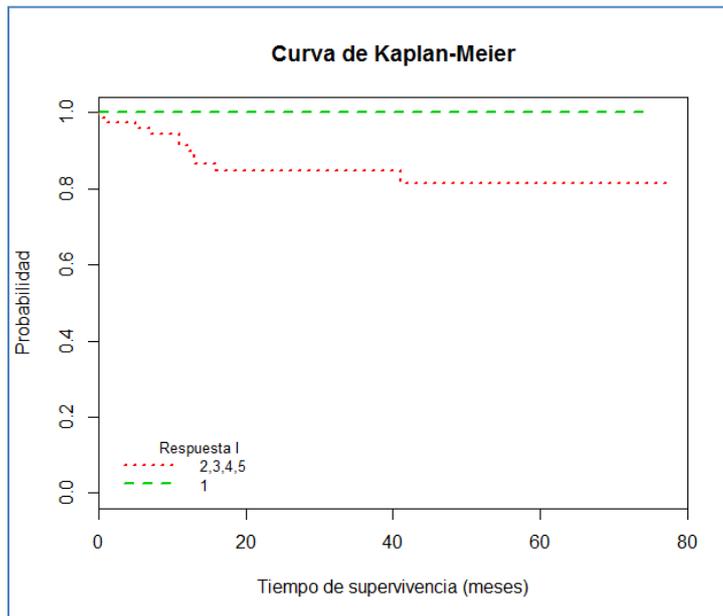
Gráfica 16: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por nivel basal de CEA.

	N	Events	Tiempo medio	error	p-valor
CEA <=5ng/ml	77	8	68,4	2,5	0,453
CEA >5ng/ml	22	3	62,9	6,8	



Gráfica 17: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por RCP si/no

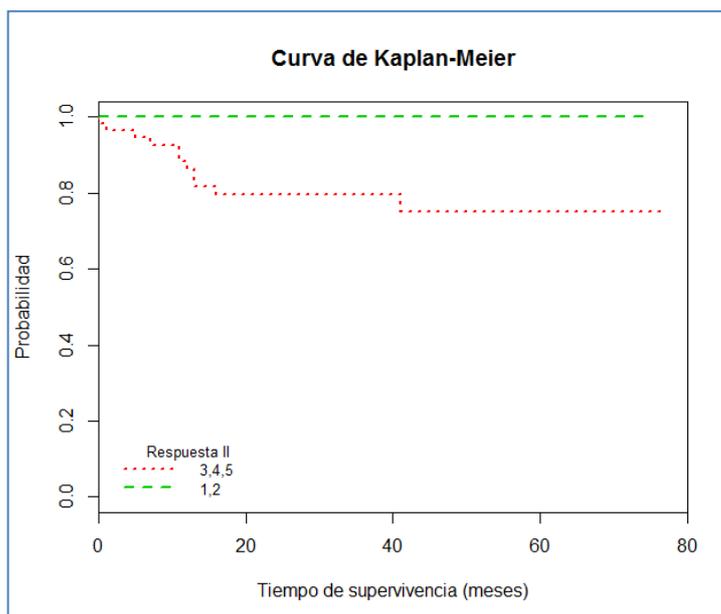
	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
RCP NO	77	11	64,7	3,1	0,049*
RCP Si	21	0	76,0	0,0	



Gráfica 18: Curva de Kaplan Meier de SLE por recaída sistémica por tipo de respuesta (buen/mal respondedor)

	N	events	Tiempo medio	error	p-valor
Mal respondedor	58	11	50,8	4,0	0,002*
Buen respondedor.	40	0	76,0	0,0	

\*  $p < 0,05$ ; Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2



## VALOR PREDICTIVO DE LA IRM

Se realiza análisis descriptivo de la estadificación tras neoadyuvancia realizada por IRM, tanto con estadificación de AJCC como por criterios RECIST, y se compara cada caso con el resultado anatomopatológico. Debido a falta de IRM de control en todos los pacientes, y por tanto pérdida de casos, o falta de datos en algunos informes radiológicos, no se puede aplicar test estadístico, por lo que no se puede valorar si hay diferencias estadísticas.

Se dispone de IRM de control en 82 pacientes. De éstos, se dispone de estadificación según criterios RECIST en 82, y además de estadifica el tumor según AJCC en 69 casos.

En el grupo de pacientes con estadificación radiológica postratamiento como respuesta completa radiológica (2 casos con desaparición radiológica de tumor) uno presentaba estadificación patológica ypT2 y otro ypT3a.

Los 23 pacientes estadificados como ymrT2 resultaron ser, en un 34,8% de los casos ypT0; en un 13% ypT1; en un 39,1% ypT2, en un 8, % ypT3a y en un 4,3% Tis.

De los 32 pacientes estadificados como ymrT3, el 37,5% corresponden a ypT2 y el 37,5% a ypT3.

De los 12 pacientes estadificados como ymrT4, ninguno resultó ser ypT4 y dos de ellos presentaron RCP. (Tabla 42)

Tabla 42: Concordancia ymrT con ypT por estadificación AJCC (76)

ymrT	TOTAL	RCP		ypT1		ypT2		ypT3		ypT4		ypTis	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
RC	2	0	0%	0	0%	1	50%	1	50%	0	0%	0	0%
ymrT2	23	8	34,8%	3	13%	9	39,1%	2	8,7%	0	0%	1	4,3%
ymrT3	32	8	25%	0	0%	12	37,5%	12	37,5%	0	0%	0	0%
ymrT4	12	2	16,7%	2	16,7%	3	25%	5	41,6%	0	0%	0	0%
No indicado	30	4	13,3%	2	6,7%	8	26,7%	15	50%	0	0%	1	4,3%

Los pacientes evaluados con criterios RECIST (incluye los 69 pacientes evaluados por estadificación AJCC y 13 pacientes más tipificados en reevaluación sólo por RECIST) se compararon con el grado de respuesta tumoral (buen/mal respondedor) con intención de ver si los pacientes catalogados como pacientes con EE eran identificados anatomopatológicamente como mal respondedores y los que presentaban respuesta parcial como buen respondedores.

Por el tamaño muestral no se puede aplicar ningún test estadístico pudiendo realizarse exclusivamente análisis descriptivo sobre la muestra.

De los 2 pacientes identificados por RECIST como pacientes con respuesta completa radiológica, los dos presentaron RCP. De los 15 paciente catalogados como pacientes con EE, 11 (73,3%) fueron mal respondedores y 4 (26,7%) fueron buen respondedores. De los 65 paciente identificados como pacientes con criterios RECIST para RP, 34 (52,3%) fueron tipificados como mal respondedores y 31 (47,7%) como buen respondedores. (Tabla 43)

Tabla 43: Concordancia respuesta radiológica por RECIST con grado de respuesta tumoral.

RECIST (n)	Mal respondedor		Buen respondedor	
	N	%	N	%
RP: 65	34	52,3%	31	47,7%
EE: 15	11	73,3%	4	26,7%
RC: 2	0	,0%	2	100,0%
No indicado: 17	13	81,3%	3	18,8%

Mal respondedor: Mandard 3, 4 y 5; Buen respondedor Mandard 1 y 2

## DISCUSIÓN



## **DISCUSIÓN.**

Es conocida la implicación de la mutación del oncogen KRAS en la transición de adenoma a carcinoma en el cáncer colorrectal. Su valor pronóstico y predictivo en el cáncer colorrectal metastásico ha sido ampliamente estudiado y demostrado en múltiples ensayos y estudios, sin embargo, ha sido escaso el desarrollo de la misma línea en el cáncer de recto localmente avanzado. Por este motivo, he centrado el trabajo en analizar el status del oncogén KRAS como marcador predictivo biológico de respuesta al tratamiento neoadyuvante con QTRT basada en fluopirimidinas.

La tasa de RCP en nuestra serie es de un 21,2%, con un tiempo medio desde el fin de tratamiento neoadyuvante hasta la cirugía de 7,6 semanas. Se desconoce el intervalo óptimo entre la finalización del fraccionamiento convencional neoadyuvante de la RT y la cirugía en el adenocarcinoma rectal. Tradicionalmente, este intervalo ha sido de seis semanas (aproximadamente de 11 a 12 semanas después del inicio de la RT), ya que esta fue la duración utilizada en el ensayo alemán de Sauer et al (1). Sin embargo, el proceso de regresión tumoral puede tardar más de seis semanas, por lo que hay resultados que sugieren que podría ser beneficioso retrasar la cirugía más allá de seis semanas. Un metaanálisis de 13 ensayos no controlados (77), concluyó, que retrasar la cirugía a las ocho semanas de finalización de la nQTRT incrementaba las tasas de RCP en un 6% sin incrementar las tasas de complicaciones postquirúrgicas con similares resultados de cirugía R0, SLE y SG. Aunque no existe consenso internacional comparando guías norteamericanas y europeas, las directrices de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) (55) sugieren esperar de seis a ocho semanas desde la finalización de la quimiorradioterapia, habiendo sido este el periodo aplicado en nuestro protocolo.

La frecuencia de mutación de KRAS es variable según los trabajos revisados. La incidencia de KRAS mutado en nuestra serie es de 28,3%, Revisando los trabajos que analizan dicha incidencia, nos encontramos con frecuencias variables, de un 19 a un 48%, según diferentes series. En 2013, Clancy et al (78), elaboró un metaanálisis analizando todos los estudios que evaluaban el estatus de KRAS y su efecto sobre las respuesta al tratamiento neoadyuvante y en la supervivencia. Este metaanálisis incluye estudios realizados en los 10

años previos, incluyendo únicamente aquellos en los que se utilizaba tratamiento neoadyuvante con ciclo largo de radioterapia en 5 semanas. Se incluyeron en el metaanálisis finalmente 9 publicaciones, suponiendo un total de 696 pacientes. Cada trabajo utilizaba un régimen de neoadyuvancia diferente y el intervalo desde la fecha de finalización del tratamiento hasta la cirugía variaba de 4 a 16 semanas. En este meta análisis, la presencia de mutación de KRAS fue de un 33.2+/-11,8% de pacientes con cáncer de recto, por lo que nuestro resultado se encontraría dentro de lo esperado.

El exón más frecuentemente mutado en nuestra serie es el exón 2, en un 85,7%, siendo el codón 12 el que está mutado con mayor frecuencia. Por cambio de nucleótido, el tipo de mutación más frecuentemente detectada en el codón 12 es G12V (39,2%) seguido por G12D. En el codón 13, la mutación más frecuentemente encontrada es G13D. Aunque la mayoría de los trabajos revisados analizan el status de KRAS incluyendo como mínimo el análisis de los codones 12 y 13, son muy pocos los que hacen referencia a la distribución de las mutaciones por codones. Gaedcke et al. (79) observaron una frecuencia de mutaciones de KRAS del 48% en su trabajo sobre 94 pacientes con biopsias pretratamiento. Presentaban mutación en el codón 12 el 64% de los mutados, encontraron 10 mutaciones (22%) en el codón 13, y 3 mutaciones (7%) en cada uno los codones 61 y 146. Tiempo después, Dundulao et al. (80) en 2013, presentaron su trabajo realizado en la misma línea de investigación, siendo hasta la fecha el que presenta mayor número de pacientes reclutados. Actualmente, el único trabajo que había analizado los tipos de mutación de KRAS en este contexto era el de Gaedcke et al. (79), arriba referenciado. Este nuevo trabajo, incluía a 148 pacientes con cáncer de recto estadio II-III pertenecientes a un ensayo clínico fase II que incluía diferentes cohortes de pacientes en las que se ampliaba progresivamente el periodo de tiempo hasta la cirugía radical desde el fin del tratamiento de QTRT y que incorporaba tratamiento citostático en ese tiempo de espera. En este trabajo, el 41% de los pacientes presentaba mutación de KRAS. El 67% en el codón 12, el 20% en el codón 13, 8% en el codón 61 y un 2% en los codones 6,22 y 64. La mutación más frecuentemente encontrada fue G12D en el codón 12, siendo la mutación G13D del codón 13 la segunda en frecuencia. Otras mutaciones detectadas del codón 12 fueron G12V, G12A y G12S. El último trabajo europeo publicado que analiza la frecuencia de mutaciones por codón e intercambio de nucleótido es el de Martellucci et al. (81). Su trabajo

sobre 76 pacientes obtuvo una tasa de mutación de KRAS del 33%, en ningún caso múltiple y con una mayor frecuencia de mutaciones en el codón 12 respecto al codón 13 (73% y 23%).

Considerando el tipo de intercambio de nucleótido, las mutaciones más frecuentes en el codón 12 eran G12D, seguida de G12V, siendo la G13D la más frecuente en el codón 13. A diferencia de las series analizadas, nuestra serie muestra una menor frecuencia de mutaciones en el codón 12 respecto a otros estudios, encontrando una frecuencia de mutación de G12V superior a la habitual. Estos resultados se podrían atribuir al tamaño muestral aunque nuestra serie analiza un número superior de pacientes que la mayoría de trabajos publicados, siendo el único trabajo que lo supera y que analiza la distribución por codones de la mutación de KRAS, el de Dundulao et al, con 148 pacientes. En el metanálisis de Clancy et al, por desgracia, no se realizó subanálisis sobre los tipos de codones mutados ni su posible implicación en diferencias de radiosensibilidad tumoral.

Respecto a los pacientes con RCP (21,2%), más pacientes WT KRAS alcanzaron RCP que pacientes KRAS mutados (24% vs 18%). El grupo de pacientes WT KRAS también presentó mayor grado de Downstaging y regresión tumoral en cualquier grado, siendo estadísticamente significativa para el grado de regresión Mandard 1 y 3. En los pacientes mutados que alcanzaron RCP, la mutación presente con mayor frecuencia fue G12D, seguida de G12V. Ningún paciente mutado en G13D alcanzó RCP. La mutación que se asocia con un mejor grado de regresión tumoral (con Mandard 1 y 2), es la mutación G12D, siendo la mutación G13D la que se asocia con una predecible peor respuesta al tratamiento (GRT Mandard 3,4 ó 5), sin haber podido analizar la significación estadística por el bajo número de casos. Sin embargo, estos resultados están en línea con los encontrados en trabajos con series más recortadas o con menos homogeneidad de reclutamiento de los pacientes. García-Aguilar et al. (82) publicaron su análisis sobre biopsias pretratamiento en 132 pacientes con CRLA e informaron que las mutaciones de KRAS eran más frecuentes en tumores de pacientes sin RCP, es decir en los tumores resistentes. En el trabajo presentado por Duldulao et al (80), globalmente, la presencia de mutación de KRAS supone una menor probabilidad de alcanzar RCP que los pacientes *Wild Type*. En concreto, ninguno de los pacientes con mutación en el codón 13 presentó RCP. De igual modo, en el trabajo más reciente publicado por Martellucci (81), no se encontraron diferencias en cuanto a tasas de RCP, *downstaging* de tumor, SG o SLP

según el estatus mutado o *Wild Type* de KRAS. Sin embargo, se pudo asociar de manera estadísticamente significativa ( $p = 0,02$ ) la presencia de G13D con un peor *downstaging* tumoral y ganglionar. Contradictoriamente, en el trabajo realizado por Gaedcke et al. (79) sobre los 94 pacientes, identificaron una diferente sensibilidad al tratamiento en función del intercambio de aminoácidos correspondiente: la mutación G12V parecía estar asociada con peores tasas de regresión tumoral que las mutaciones de G13D ( $p = 0,012$ ).

Respecto a la correlación del status de KRAS con la SG y SLE en CRLA, son pocos los trabajos que la analizan en profundidad. En nuestra serie, los pacientes con KRAS mutado presentan un mayor riesgo de recaída en términos globales, siendo la asociación estadísticamente significativa para la recaída local (HR=11,88; IC:1,32-106,4;  $p=0,027$ ) sin embargo la recaída sistémica es más frecuente en el grupo de pacientes con Kras WT. Estos resultados son congruentes si recordamos que el status WT presenta mejor grado de respuesta tumoral. Si por un status WT de KRAS reducimos el riesgo de recaída local por obtener mejor respuesta patológica, se está incrementando de manera relativa el riesgo de recidiva sistémica en este subgrupo de pacientes, ya que hay que recordar que el tratamiento neoadyuvante con QTRT controla mejor la enfermedad local, reduciendo el riesgo de recidiva local pero no reduce el riesgo de recidiva sistémica. Respecto a la supervivencia global, sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas, el grupo de pacientes KRAS WT presenta mayor tasa de SG que el grupo KRAS mutado (73,4 meses versus 68,8 meses). Este resultado, está refrendado de manera indirecta por el análisis de regresión logística, en el que, sin ser estadísticamente significativo, el estatus KRAS mutado incrementa el riesgo de fallecer por la neoplasia en 1,77 veces. De los trabajos analizados en el metáanálisis de Clancy (78), solamente 5 estudios incluían algún dato de mortalidad, no obteniendo relación estadísticamente significativa entre el status de KRAS y SG o SLE. El trabajo de Martellucci et al., de los pocos más actuales que relaciona supervivencia con status de KRAS, tampoco encuentra ninguna asociación.

La influencia de mutaciones en BRAF en la respuesta a la neoadyuvancia con QTRT en CRLA ha sido menos evaluada, debido a la baja presencia de mutaciones BRAF en cáncer de recto. La frecuencia de esta mutación disminuye conforme pasamos de colon derecho a colon izquierdo y recto. En nuestra serie, sólo un paciente presentaba mutación de BRAF

(V600E). Se trataba de un paciente con cáncer de recto en tercio superior cuya evolución fue muy desfavorable siendo el paciente con menor tiempo de supervivencia desde el diagnóstico. La frecuencia encontrada de mutaciones BRAF en CRLA varía según estudios, pero es baja o inexistente en la mayoría de ellos, según el tamaño muestral analizado. Se ha reportado desde un 2%, como en el trabajo de Derbel et al (83), incluso un 0% como el de Gaedcke et al (79) . La diferencia de resultados se puede atribuir además, a la localización de la toma de biopsias. El trabajo de Gaedcke, reclutaba CRLA de tercio medio e inferior, lo que explica que no encontraran mutaciones de BRAF, ya que la mayoría se atribuyen al tercio superior de recto. En ninguno de los estudios se hace referencia alguna sobre la relación entre estatus de BRAF y grado de regresión tumoral, ya que la baja frecuencia de esta mutación, hace pensar que presenta poca relevancia en la carcinogénesis del CRLA.

La presencia de mutaciones en NRAS en CRLA ha sido todavía menos evaluada. En nuestra serie, sólo un 2% de los pacientes (dos pacientes) presentaban mutación en NRAS. Ninguno de los dos pacientes presentaron RCP, su GRT fue Mandard 3 pero no presentaron recaída durante el periodo de seguimiento. El único trabajo encontrado en el que se analiza el estado mutacional de NRAS es el de Russo et al en 2014 (84). En este trabajo en que se analizaban 47 muestras de pacientes con CRLA (26 muestras eran previas al tratamiento QTRTn y 21 muestras eran posteriores al tratamiento neoadyuvante) se encontró NRAS mutado en un paciente de cada grupo, en total en un 4%. Ninguno alcanzó la RCP, sin especificar la supervivencia o evolución posterior de este subgrupo minoritario. El trabajo presentado, es por tanto el primero que analiza el status de NRAS y su valor predictivo de respuesta en un grupo homogéneo de pacientes con CRLA.

Los datos variables y contradictorios respecto la radiosensibilidad adquirida por mutación en KRAS son justificados por varios puntos. Se trata de trabajos con diferentes esquemas de tratamiento neoadyuvante, algunos con diferentes esquemas dentro del mismo trabajo, reclutando cohortes de diferentes ensayos clínicos y pudiendo incluir trabajos con tratamiento con antiEGFR dentro de ensayo clínico. La técnica para la determinación de mutación de KRAS no es siempre la misma. El número de pacientes incluidos en la mayoría es limitado. La

cirugía tampoco se planifica en un *timing* similar, aunque este hecho sólo puede variar el porcentaje de RCP alcanzada en cada muestra. En pocos trabajos se analiza el tipo de intercambio de nucleótido por codón mutado, indicando la mayoría únicamente si el status de KRAS es mutado o WT, y en una minoría , el porcentaje de mutaciones globales de cada codón analizado (normalmente codones 12 y 13). Solo dos trabajos encuentran asociación estadísticamente significativa entre estado KRAS mutado y la ausencia de RCP, y otro más entre mutación en G13D con peor grado de respuesta tumoral. El pequeño tamaño muestral global que se reduce más con los porcentajes obtenidos de mutación de KRAS/BRAF/NRAS hace que en muchos trabajos no se puedan aplicar análisis estadístico o que sus resultados no puedan ser concluyentes. En la Tabla 11 se adjunta un resumen de las características de los trabajos europeos y de EEUU de los últimos años, que analizan el papel de KRAS en la respuesta a la neoadyuvancia en CRLA.

Tabla 44: Características de los últimos trabajos europeos y de EEUU, que analizan el papel de KRAS en la respuesta a la neoadyuvancia en CRLA.

Autor/País	N para análisis/N M1	QT y tpo.Qx	% KRAS mut	Codones testados	Braf V600E testado/%mut	Codón 12 y 13	Seguimiento	Relación status Mut-GRT
<b>Gaedcke K.</b> <b>Alemania/'09. (79)</b>	94/3	Folfox 4-6 semanas	48%	12,13,61,146	Si/0	64% y 22%	30,7m (3-86m)	No. Tendencia G12V peor GRT
<b>Bengala C.</b> <b>Italia/'10 (85)</b>	146/4	5-Fu/FOLFOX 6-8 semanas	19,2%	12,13	-		4,45 años (0,29-10,6)	No. Tampoco factor pronostico
<b>Erben Ph.</b> <b>Alemania/'11 (86)</b>	57	Capiri-cetuxi 4-6 semanas	31,6%	12,13	Si/0		29,4m	No. Tampoco en SLP
<b>Garcia-Aguilar.</b> <b>USA/'11 (82)</b>	132/0	FOLFOX.tres grupos 11-16 sem.	43%	-	Si/1	-	-	Mut No RCP
<b>Hu-Lieskovans.</b> <b>Alemania/'11 (87)</b>	130/15	QT-cetuxi: 3 protocolos 4-8 sem	42%	12,13	Si/0	-	-	No.

Continuación Tabla 44

Autor/País	N para análisis/N M1	QT y tpo.Qx	% KRAS mut	Codones testados	Braf V600E testado/%mut	Codón 12 y 13	Seguimiento	Relación status Mut-GRT
<b>Davies JM, USA'11 (88)</b>	67/6	5-Fu	36%	12,13,61	Si/3	-	42m	KRASwt mejor GRT
<b>Derbel O. Francia'13 (83)</b>	98/0	5-Fu/cape 6 semanas	23,5%	12,13,61	Si/2	57 y 43%	28,3m 84- 74m)	No.
<b>Marjun MD. USA'13 (80)</b>	148/0	Fu-FOLFOX Incremento secuencial tpo a QX y nº ciclos QT: 6-16 sem	41%	12,13,61	-	67 y 20		Mut KRAS peor GRT
<b>Demes M. Alemania'13 (89)</b>	25 /2	5-Fu-RT	36% pre y 44% post	12,13,61 MMR	Si/0	20 y 16%	-	No
<b>Russo A. USA'14. (84)</b>	47	5-Fu-FOLFOX +-Beva	46% pre 38% post		Si/ 0			No
<b>Martelluci J. Italia'15. (81)</b>	76	5-Fu >6 sem	33%	12,13,61,146	No	73 y 23%	33m (12-72)	No . Mut G13D peor GRT

En cuanto a marcadores clínicos predictivos de respuesta de nuestro trabajo, el CEA basal dentro de la normalidad ( $<5\text{ng/dl}$ ) mostró ser predictivo de buena respuesta con una asociación estadísticamente significativa ( $p<0,001$ ). Muchos estudios se han centrado en el valor predictivo de respuesta de los niveles de CEA pretratamiento, siendo nuestros resultados concordantes con los hallazgos de la literatura. El único punto en el que no hay uniformidad de resultados es en el punto de corte. En 2013, Lee et al (90), concluyeron sobre una muestra de 345 pacientes, que los niveles de CEA basales inferiores a  $5\text{ng/dl}$  eran predictores de RCP, mientras que en el trabajo de Kim et al de 2015 (90) , eran los niveles de CEA inferiores a  $3\text{ng/dl}$  los que se asociaban significativamente con incremento de las tasas de RCP. El análisis de regresión logística mostró que un valor elevado de CEA era solo predictor de una mala respuesta al tratamiento neoadyuvante.

Entre los marcadores clínico-patológicos pronósticos, el grado de respuesta tumoral (buen o mal respondedor) se asocian de manera estadísticamente significativa con la SG y la SLE. Previamente ya se ha comentado la asociación entre el status mutado de KRAS y la recidiva local. La mayoría de los estudios apoyan que los pacientes que alcanzan RCP o respuesta parcial al tratamiento neoadyuvante tiene una mejor SLP. En 2014, Santos M. et al (35), sobre 139 pacientes demostraron que el grupo de pacientes con buena respuesta según Mandard presentaban mejor SG y SLE respecto el grupo de pacientes mal respondedores. El trabajo más recientemente publicado en esta línea sobre 127 paciente es el de Jalilian et al. (91). En este trabajo se observa también una mejor SG y SLE en el grupo de pacientes con RCP , sin alcanzar la significación estadística probablemente porque divide a la población del estudio en tres grupos con la consecuente disminución del tamaño muestral: RCP, respondedores parciales y no respondedores, en lugar de aplicar los grupos de respuesta de Mandard de buen y mal respondedor.

Respecto a la capacidad de la IRM post-tratamiento de predecir el grado de respuesta histopatológico, los resultados del trabajo son pobres. El grado de concordancia de la ymrT con la ypT es bajo siendo más frecuente la concordancia con la respuesta patológica al aplicar

criterios RECIST 1.1. Sin embargo, los últimos trabajos publicados al respecto, han propuesto un sistema de clasificación del grado de regresión por IRM que supone una adaptación de la clasificación de Mandard del grado de respuesta tumoral histopatológico (GRT). Este sistema (MR TRG) clasifica los cambios observados en las imágenes de IRM tras el tratamiento neoadyuvante en cinco categorías, basándose en la proporción de fibrosis identificada por la señal de IRM:

- TRG1: regresión total del tumor que muestra como cicatriz de baja intensidad de señal de línea en alta resolución
- TRG2: fibrosis de baja densidad sin evidencia de Intensidad de señal intermedia macroscópica dentro de ella;
- TRG3: la IRM muestra la señal de fibrosis predominante con áreas de intensidad de señal intermedia;
- TRG4/5: predominantemente Intensidad de señal intermedia, regresión menor, fibrosis mínima.

En el estudio MERCURY (92), se demostró además que MR TRG es un factor pronóstico independiente de la supervivencia libre de enfermedad. Sin embargo, todavía es una clasificación pendiente de validar y de confirmar su reproducibilidad y variabilidad interobservador, pero sin duda es una herramienta que se deberá intentar implementar en la reevaluación tras tratamiento neoadyuvante en cáncer de recto localizado.

El trabajo presentado tiene algunas limitaciones a considerar. Una de ellas es que se trata de un estudio unicéntrico y por tanto su pequeño tamaño muestral. Aunque el número de pacientes reclutados es superior a la mayoría de los trabajos publicados, para poder establecer análisis estadísticos determinantes debería haberse obtenido un mayor número de pacientes con status KRAS o haber estimado el tamaño muestral en el diseño inicial teniendo en cuenta el porcentaje estimado de pacientes con KRAS mutado. El ser unicéntrico en este caso, por contrapartida homogeneiza los resultados y evita las variables interobservador al aplicar las escalas de regresión tumoral. Como ejemplo de la importancia de dicha variabilidad son los pobres resultados obtenidos en la valoración de respuesta radiológica, ya que no siempre se han realizado por el mismo radiólogo ni por el mismo radiólogo que valoró la resonancia

magnética previa al tratamiento, lo que , junto al pequeño tamaño muestral de este subanálisis por pérdida de casos no reevaluados, hace que este apartado no sea valorable para obtener conclusiones válidas.

Por otro lado, el trabajo presentado, es el primer trabajo con una población homogénea de pacientes con CRLA tratados con el esquema convencional de QTRTn con fluopirimidinas en el que no sólo se analiza KRAS con sus codones mutados y su intercambio de aminoácidos, sino que además analiza el status BRAF y NRAS en esta población, incluyendo además un análisis de supervivencia por status de KRAS y grado de respuesta tumoral.

La capacidad de predecir la respuesta al tratamiento neoadyuvante está adquiriendo mayor interés con la intención de poder intensificar el tratamiento en los pacientes con escasa respuesta prevista, buscando maximizar el beneficio de los tratamientos neoadyuvantes o aplicar terapias intensivas como en los pacientes de alta carga tumoral. Así mismo, también es importante validar y homogeneizar los criterios de respuesta tumoral aplicados, tanto a nivel radiológico como histopatológico, de manera que permita implementarlos en los futuros ensayos clínicos. El disponer de herramientas clínico biológicas predictivas de respuesta y pronósticas, permitiría por otro lado continuar en la investigación de técnicas de preservación de órgano, como la línea de trabajo de *"Wait and see"* , y poder establecer una estrategia según el riesgo, de manera que se puedan crear programas de seguimiento más estrecho o poder establecer diferentes opciones de tratamiento adyuvante no solo orientadas por la estadificación clínica pretratamiento.



## **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

1ª- El espectro mutacional es diferente en CRLA que en cáncer de colon metastásico: 28,3% versus 40%.

- El exón más frecuentemente mutado es el exón 2 (85,7%).
- La mutación más frecuentemente mutada es G12V (11,1% de los mutados), seguida de G12D (8,1%). Más casos KRAS WT alcanzaron la RCP que pacientes KRAS mutado.

2ª- La presencia de mutación en KRAS modifica el pronóstico del CRLA y su evolución:

- Presentan mayor riesgo de recaída local.
- Presentan menor riesgo de recaída sistémica.
- Tienen mayor riesgo de muerte por cáncer de recto.
- Tienen menor probabilidad de alcanzar RCP.

3ª- Hay relación significativa entre status WT de KRAS y el GRT de Mandard:

- En KRAS mutado la mutación que más frecuentemente se asocia a Mandard 1 y Mandard 2 es G12D.

4º- De los otros parámetros analizados, sólo el CEA basal <5ng/dl y el status mutado de KRAS, parecían predecir la respuesta.

5ª- El tipo de respuesta evaluado por Mandard fue factor pronóstico de SG y SLE (buen/mal respondedor), sin embargo, no existe concordancia entre ymrT con ypT.



## **BIBLIOGRAFÍA**



## BIBLIOGRAFÍA.

1. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(17):1731–40.
2. Cunningham D, Atkin W, Lenz H, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet*. 2010;375(9719):1030–47.
3. Rodel C, Martus P, Papadoupolos T, Fuzesi L, Klimpfinger M, Fietkau R, et al. Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(34):8688–96.
4. Balyasnikova S, Brown G. Optimal Imaging Strategies for Rectal Cancer Staging and Ongoing Management. *Curr Treat Options Oncol*. 2016; 17: 32.
5. Lutz MP, Zalcborg JR, Glynne-Jones R, Ruers T, Ducreux M, Arnold D, et al. Second St. Gallen European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Cancer Conference: Consensus recommendations on controversial issues in the primary treatment of rectal cancer. *Eur J Cancer*. 2016;63:11–24.
6. Habr-Gama A, Sabbaga J, Gama-Rodrigues J, São Julião GP, Proscurshim I, Bailão Aguilár P, et al. Watch and Wait Approach Following Extended Neoadjuvant Chemoradiation for Distal Rectal Cancer. *Dis Colon Rectum*. 2013;56(10):1109–17.
7. Grade M, Wolff HA, Gaedcke J, Ghadimi BM. The molecular basis of chemoradiosensitivity in rectal cancer: Implications for personalized therapies. *Langenbeck's Arch Surg*. 2012;397(4): 543-555.
8. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359–86.
9. Kosinski L, Habr-Gama A, Ludwig K, Perez R. Shifting concepts in rectal cancer management: a review of contemporary primary rectal cancer treatment strategies. *CA*

- Cancer J Clin. 2012;62(3):173–202.
10. Wei EK, Giovannucci E, Wu K, Rosner B, Fuchs CS, Willett WC, et al. Comparison of risk factors for colon and rectal cancer. *Int J Cancer*. 2004;108(3):433–42.
  11. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*. 2008;371(9612):569–78.
  12. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? *Am J Gastroenterol*. 2011;106(11):1911–22.
  13. Matkowskyj KA, Chen ZE, Rao MS, Yang GY. Dysplastic lesions in inflammatory bowel disease: molecular pathogenesis to morphology. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(3):338–50.
  14. Munkholm P. Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;18(2):1–5.
  15. Guillén-Ponce C, Serrano R, Sánchez-Heras AB, Teulé A, Chirivella I, Martín T, et al. Clinical guideline seom: hereditary colorectal cancer. *Clin Transl Oncol*. 2015;17(12):962–71.
  16. The Cancer Genome Network Atlas. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330–7.
  17. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Song S, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350–6.
  18. Müller MF, Ibrahim AEK, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Archiv*. 2016;469(2):125–34.
  19. Bipat S, Glas AS, Slors FJM, Zwinderman AH, Bossuyt PMM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and

- MR imaging--a meta-analysis. *Radiology*. 2004;232(3):773–83.
20. Bullard Dunn K; Rothenberger D. Colon, Recto y Ano. En Brunnicardi F.C., Andersen D., Billiar T.R., Dunn D., Hunter J., Matthews J., et al. *Principios de cirugía*. 10ªe. McGraw-Hill Interamericana. 2015; 1689-1699.
  21. Shihab OC, Taylor F, Bees N, Blake H, Jeyadevan N, Bleehen R et al. MERCURY Study Group. Relevance of magnetic resonance imaging-detected pelvic sidewall lymph node involvement in rectal cancer. *Br J Surg* 2011;98(12): 1798–1804.
  22. Al-Sukhni E, Milot L, Fruitman M, Beyene J, Victor JC, Schmocker S, et al. Diagnostic Accuracy of MRI for Assessment of T Category, Lymph Node Metastases, and Circumferential Resection Margin Involvement in Patients with Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(7):2212–23.
  23. Puli SR, Reddy JBK, Bechtold ML, Choudhary A, Antillon MR, Brugge WR. Accuracy of endoscopic ultrasound to diagnose nodal invasion by rectal cancers: a meta-analysis and systematic review. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(5):1255–65.
  24. Merkel S, Mansmann U, Siassi M, Papadopoulos T, Hohenberger W, Hermanek P. The prognostic inhomogeneity in pT3 rectal carcinomas. *Int J Colorectal Dis*. 2001;16(5):298–304.
  25. MERCURY Study Group, Group MS. Diagnostic accuracy of preoperative magnetic resonance imaging in predicting curative resection of rectal cancer: prospective observational study. *BMJ*. 2006;333(7572):779.
  26. Balyasnikova S, Brown G. Imaging Advances in Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2016;12:162–9.
  27. Lambregts DMJ, Vandecaveye V, Barbaro B, Bakers FCH, Lambrecht M, Maas M, et al. Diffusion-weighted MRI for selection of complete responders after chemoradiation for locally advanced rectal cancer: a multicenter study. *Ann Surg Oncol*. 2011.;18(8):2224–31.
  28. Brown G, Davies S, Williams GT, Bourne MW, Newcombe RG, Radcliffe AG, et al.

- Effectiveness of preoperative staging in rectal cancer: digital rectal examination, endoluminal ultrasound or magnetic resonance imaging? *Br J Cancer*. 2004;91(1):23–9.
29. Nagtegaal ID, Quirke P. What is the role for the circumferential margin in the modern treatment of rectal cancer? *J Clin Oncol*. 2008;(2): 303–12.
  30. Cecil TD, Sexton R, Moran BJ, Heald RJ. Total mesorectal excision results in low local recurrence rates in lymph node-positive rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2004;47(7):1145-1149.
  31. Bown EJ, Lloyd GM, Boyle KM, Miller AS. Rectal cancer: Prognostic indicators of long-term outcome in patients considered for surgery. *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(2):147–55.
  32. Dhadda AS, Dickinson P, Zaitoun AM, Gandhi N, Bessell EM. Prognostic importance of Mandard tumour regression grade following pre-operative chemo/radiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Eur J Cancer*. 2011;47(8):1138–45.
  33. Martin ST, Heneghan HM, Winter DC. Systematic review and meta-Analysis of outcomes following pathological complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *Br J Sur*. 2012;99(7): 918–28.
  34. Siddiqui MR, Bhoday J, Battersby NJ, Chand M, West NP, Abulafi AM, et al. Defining response to radiotherapy in rectal cancer using magnetic resonance imaging and histopathological scales. *World J Gastroenterol*. 2016;22(37):8414–34.
  35. Santos MD, Silva C, Rocha A, Matos E, Nogueira C, Lopes C. Prognostic value of mandard and dworak tumor regression grading in rectal cancer: study of a single tertiary center. *ISRN Surg*. 2014;2014:310542.
  36. Gavioli M, Luppi G, Losi L, Bertolini F, Santantonio M, Falchi AM, et al. Incidence and clinical impact of sterilized disease and minimal residual disease after preoperative radiochemotherapy for rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(10):1851–7.
  37. Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in

- stage III colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(11):2847–55.
38. Govindarajan A, Goñen M, Weiser MR, Shia J, Temple LK, Guillem JG, et al. Challenging the feasibility and clinical significance of current guidelines on lymph node examination in rectal cancer in the era of neoadjuvant therapy. *J Clin Oncol*. 2011;29(34):4568–73.
  39. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Schlemmer A, Rehak P, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: Prognostic significance and quality of pathology reporting. *Cancer*. 2012;118(3):628–38.
  40. Moureau-Zabotto L, Farnault B, De Chaisemartin C, Esterni B, Lelong B, Viret F, et al. Predictive factors of tumor response after neoadjuvant chemoradiation for locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;80(2):483–91.
  41. Rebischung C, Gérard JP, Gayet J, Thomas G, Hamelin R, Laurent-Puig P. Prognostic value of P53 mutations in rectal carcinoma. *Int J Cancer*. 2002;100(2):131–5.
  42. Chen MB, Wu XY, Yu R, Li C, Wang LQ, Shen W, et al. P53 status as a predictive biomarker for patients receiving neoadjuvant radiation-based treatment: a meta-analysis in rectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(9):e45388.
  43. Bertolini F, Bengala C, Losi L, Pácano M, Lachetta F, Dealis C, et al. Prognostic and Predictive Value of Baseline and Posttreatment Molecular Marker Expression in Locally Advanced Rectal Cancer Treated With Neoadjuvant Chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007;68(5):1455–61. .
  44. Oikonomou E, Koustas E, Goulielmaki M, Pintzas A. BRAF vs RAS oncogenes: are mutations of the same pathway equal? Differential signalling and therapeutic implications. *Oncotarget*. 2014;5(23):11752–77.
  45. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P, Leung K, Bindal N, Boutselakis H, et al. COSMIC: Exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(DI):D805–11.

46. Morkel M, Riemer P, Bläker H, Sers C. Similar but different: distinct roles for KRAS and BRAF oncogenes in colorectal cancer development and therapy resistance. *Oncotarget*. 2015;6(25):20785–800.
47. Luna-Pérez P, Segura J, Alvarado I, Labastida S, Santiago-Payán H, Quintero A. Specific c-K-ras gene mutations as a tumor-response marker in locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol*. 2000;7(10):727–31.
48. Zauber NP, Marotta SP, Berman E, Grann A, Rao M, Komati N, et al. Molecular Genetic Changes Associated With Colorectal Carcinogenesis Are Not Prognostic for Tumor Regression Following Preoperative Chemoradiation of Rectal Carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009;74(2):472–6.
49. Sclafani F, Gonzalez D, Cunningham D, Hulkki Wilson S, Peckitt C, Giralt J, et al. RAS mutations and cetuximab in locally advanced rectal cancer: Results of the EXPERT-C trial. *Eur J Cancer*. 2014;50(8):1430–6.
50. Helbling D, Bodoky G, Gautschi O, Sun H, Bosman F, Gloor B, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with or without panitumumab in patients with wild-type KRAS, locally advanced rectal cancer (LARC): A randomized, multicenter, phase II trial SAKK 41/07. *Ann Oncol*. 2013;24(3):718–25.
51. Barnett GC, Coles CE, Elliott RM, Baynes C, Luccarini C, Conroy D, et al. Independent validation of genes and polymorphisms reported to be associated with radiation toxicity: A prospective analysis study. *Lancet Oncol*. 2012;13(1):65–77.
52. Zlobec I, Vuong T, Compton CC, Lugli A, Michel RP, Hayashi S, et al. Combined analysis of VEGF and EGFR predicts complete tumour response in rectal cancer treated with preoperative radiotherapy. *Br J Cancer*. 2008;98(2):450–6.
53. Fuchs SY, Ougolkov A V., Spiegelman VS, Minamoto T. Oncogenic beta-catenin signaling networks in colorectal cancer. *Cell cycle*. 2005;4(11):1522–39.

54. González-Flores E, Losa F, Pericay C, Polo E, Roselló S, Safont MJ, et al. SEOM Clinical Guideline of localized rectal cancer (2016). *Clin Transl Oncol*. 2016;18(12):1163-71.
55. Glimelius B, Tiret E, Cervantes A, Arnold D. Rectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013;24(6):vi81-8.
56. Wibe A, Rendedal PR, Svensson E, Norstein J, Eide TJ, Myrvold HE, et al. Prognostic significance of the circumferential resection margin following total mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg*. 2002;89(3):327–34.
57. Martling AL, Holm T, Rutqvist LE, Moran BJ, Heald RJ, Cedemark B. Effect of a surgical training programme on outcome of rectal cancer in the County of Stockholm. Stockholm Colorectal Cancer Study Group, Basingstoke Bowel Cancer Research Project. *Lancet*. 2000;356(9224):93–6.
58. Sauer R, Liersch T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W, Hess C, et al. Preoperative Versus Postoperative Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: Results of the German CAO/ARO/AIO-94 Randomized Phase III Trial After a Median Follow-Up of 11 Years. *J Clin Oncol* 2012;30(16): 1926–33.
59. Bosset JF, Collette L, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevich-Jelic L, et al. Chemotherapy with Preoperative Radiotherapy in Rectal Cancer. *N Engl J Med*. 2006;355(11):1114–23.
60. Bosset JF, Calais G, Mineur L, Maingon P, Stojanovic-Rundic S, Bensadoun RJ, et al. Fluorouracil-based adjuvant chemotherapy after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer: Long-term results of the EORTC 22921 randomised study. *Lancet Oncol*. 2014;15(2):184–90.
61. McCarthy K, Pearson K, Fulton R, Hewitt J. Pre-operative chemoradiation for non-metastatic locally advanced rectal cancer. *Cochrane database Syst Rev*. 2012;12(12):CD008368.

62. Hofheinz RD, Wenz F, Post S, Matzdorff A, Laechelt S, Hartmann JT, et al. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: A randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(6):579–88.
63. Nogué M, Salud A, Vicente P, Arriví A, Roca JM, Losa F, et al. Addition of bevacizumab to XELOX induction therapy plus concomitant capecitabine-based chemoradiotherapy in magnetic resonance imaging-defined poor-prognosis locally advanced rectal cancer: the AVACROSS study. *Oncologist.* 2011;16(5):614–20.
64. Dewdney A, Cunningham D, Taberero J. Multicenter Randomized Phase II Clinical Trial Comparing Neoadjuvant Oxaliplatin, Capecitabine, and Preoperative Radiotherapy With or Without Cetuximab. *J Clin Oncol.* 2012; 30(14):1620-7.
65. Garcia-Aguilar J, Chow OS, Smith DD, Marcet JE, Cataldo PA, Varma MG, et al. Effect of adding mFOLFOX6 after neoadjuvant chemoradiation in locally advanced rectal cancer: A multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(8):957–66.
66. Fernández-Martos C, Garcia-Albeniz X, Pericay C, Maurel J, Aparicio J, Montagut C, et al. Chemoradiation, surgery and adjuvant chemotherapy versus induction chemotherapy followed by chemoradiation and surgery: Long-term results of the Spanish GCR-3 phase II randomized trial. *Ann Oncol.* 2015;26(8):1722–8.
67. André T, Boni C, Navarro M, Taberero J, Hickish T, Topham C, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(19):3109–16.
68. Marks JH, Huang R, McKeever D, Greenfield M. Outcomes in 132 patients following laparoscopic total mesorectal excision (TME) for rectal cancer with greater than 5-year follow-up. *Surg Endosc.* 2016;30(1):307–14.
69. Fokas E, Liersch T, Fietkau R, Hohenberger W, Beissbarth T, Hess C, et al. Tumor regression grading after preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal carcinoma revisited: Updated results of the CAO/ARO/AIO-94 trial. *J Clin Oncol.*

2014;32(15):1554–62.

70. Habr-Gama A, São Julião GP, Perez RO. Nonoperative management of rectal cancer: Identifying the ideal patients. *Hematol Oncol Clin North Am*;29(1): 135–51.
71. Maas M, Beets-Tan RG, Lambregts DM, Lammering G, Nelemans PJ, Engelen SM et al. Wait-and-see policy for clinical complete responders after chemoradiation for rectal cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(35):4633–40.
72. Smith JD, Ruby JA, Goodman KA, Saltz LB, Guillem JG, Weiser MR, et al. Nonoperative Management of Rectal Cancer With Complete Clinical Response After Neoadjuvant Therapy. *Ann Surg*. 2012;256(6):965–72.
73. Dalton RSJ, Velineni R, Osborne ME, Thomas R, Harries S, Gee AS, et al. A single-centre experience of chemoradiotherapy for rectal cancer: Is there potential for nonoperative management? *Colorectal Dis*. 2012;14(5):567–71.
74. Pozo ME, Fang SH. Watch and Wait approach to rectal cancer: A review. *World J Gastrointest Surg*. 2015;7(11):306–12.
75. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228–47.
76. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471–4.
77. Petrelli F, SgROI G, Sarti E, Barni S. Increasing the Interval Between Neoadjuvant Chemoradiotherapy and Surgery in Rectal Cancer: A Meta-Analysis of Published Studies. *Ann Surg*. 2016;263(3):458-64.
78. Clancy C, Burke JP, Coffey JC. KRAS mutation does not predict the efficacy of neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Surg Oncol*. 2013.;22(2):105–11.

79. Gaedcke J, Grade M, Jung K, Schirmer M, Jo P, Obermeyer C, et al. KRAS and BRAF mutations in patients with rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Radiother Oncol.* 2010;94(1):76–81.
80. Duldulao MP, Lee W, Nelson R a, Li W, Chen Z, Kim J, et al. Mutations in specific codons of the KRAS oncogene are associated with variable resistance to neoadjuvant chemoradiation therapy in patients with rectal adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(7):2166–71.
81. Martellucci J, Alemanno G, Castiglione F, Bergamini C, Valeri A. Role of KRAS mutation as predictor of pathologic response after neoadjuvant chemoradiation therapy for rectal cancer. *Updates Surg.* 2015;67(1):47–53.
82. Garcia-Aguilar J, Chen Z, Smith DD, Li W, Madoff RD, Cataldo P, et al. Identification of a biomarker profile associated with resistance to neoadjuvant chemoradiation therapy in rectal cancer. *Ann Surg.* 2011;254(3):486–93.
83. Derbel O, Wang Q, Desseigne F, Rivoire M, Meeus P, Peyrat P, et al. Impact of KRAS, BRAF and PI3KCA mutations in rectal carcinomas treated with neoadjuvant radiochemotherapy and surgery. *BMC Cancer.* 2013;13:200.
84. Russo AL, Ryan DP, Borger DR, Wo JY, Szymonifka J, Liang WY, et al. Mutational and clinical predictors of pathologic complete response in the treatment of locally advanced rectal cancer. *J Gastrointest Cancer.* 2014;45(1):34–9.
85. Bengala C, Bettelli S, Bertolini F, Sartori G, Fontana a, Malavasi N, et al. Prognostic role of EGFR gene copy number and KRAS mutation in patients with locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Br J Cancer.* 2010;103(7):1019–24.
86. Erben P, Ströbel P, Horisberger K, Popa J, Bohn B, Hanfstein B, et al. KRAS and BRAF mutations and PTEN expression do not predict efficacy of cetuximab-based chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(4):1032–8.

87. Hu-Lieskovan S, Vallbohmer D, Zhang W, Yang D, Pohl A, Labonte MJ, et al. EGF61 polymorphism predicts complete pathologic response to cetuximab-based chemoradiation independent of KRAS status in locally advanced rectal cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2011;17(15):5161–9.
88. Davies JM, Trembath D, Deal AM, Funkhouser WK, Calvo BF, Finnegan T, et al. Phospho-ERK and AKT status, but not KRAS mutation status, are associated with outcomes in rectal cancer treated with chemoradiotherapy. *Radiat Oncol.* 2011;6(1):114.
89. Demes M, Scheil-Bertram S, Bartsch H, Fisseler-Eckhoff A. Signature of microsatellite instability, KRAS and BRAF gene mutations in German patients with locally advanced rectal adenocarcinoma before and after neoadjuvant 5-FU radiochemotherapy. *J Gastrointest Oncol.* 2013;4(2):182–92.
90. Kim NK, Hur H. New perspectives on predictive biomarkers of tumor response and their clinical application in preoperative chemoradiation therapy for rectal cancer. *Yonsei Med J.* 2015;56(6):1461–77.
91. Jalilian M, Davis S, Mohebbi M, Sugamaran B, Porter IW, Bell S, et al. Pathologic response to neoadjuvant treatment in locally advanced rectal cancer and impact on outcome. *J Gastrointest Oncol.* 2016;7(4):603–8.
92. Patel UB, Taylor F, Blomqvist L, George C, Evans H, Tekkis P, et al. Magnetic resonance imaging-detected tumor response for locally advanced rectal cancer predicts survival outcomes: MERCURY experience. *J Clin Oncol.* 2011;29(28):3753–60.



**ANEXOS**



## **ANEXO I**

### **Dictamen del Comité ético de Investigación clínica del Hospital del Vinalopó**



## DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D<sup>a</sup>. Belén Sánchez Rodríguez, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica **CEIC**  
de los Departamentos de Salud de Torrevieja y del Vinalopó (Elche)

### CERTIFICA

Que este Comité, en su reunión extraordinaria de fecha 6 de Mayo de 2013 ha evaluado la documentación remitida por D<sup>a</sup> María Nieves del Pozo Alonso; Facultativo Especialista de Área adscrita al Servicio de Oncología Médica del Hospital del Vinalopó; para la realización del estudio titulado: “**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**”; estudio que formará parte de su Tesis Doctoral

- **Protocolo del estudio versión de 29 de Abril de 2013**
- **Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado: Versión de 2 de Mayo de 2013**

Y teniendo en consideración las siguientes cuestiones:

1. Cuestiones relacionadas con la idoneidad del investigador y de sus colaboradores
2. Cuestiones relacionadas con la idoneidad de las instalaciones.
3. La realización del estudio no supone ningún gasto extraordinario para el Centro Sanitario
4. La confidencialidad de los datos de los sujetos participantes está garantizada.
5. Lo establecido en Ley 14/ 2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y demás normativa aplicable este tipo de estudios.

**EMITE UN DICTAMEN FAVORABLE**, para la realización del citado estudio, por D<sup>a</sup>. **María Nieves del Pozo Alonso**; Facultativo Especialista de Área adscrita al Servicio de Oncología Médica del Hospital del Vinalopó

Que el comité tanto en su composición como en sus PNTs cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95); con el RD 223/2004 así como la normativa autonómica en materia de investigación aplicable de la Comunitat Valenciana; y su composición actual es la siguiente:

**Presidente:** Dr. Juan Carlos Toral Peña; Jefe de Oncología Médica H Torrevieja H Vinalopó

**Secretaria:** D<sup>a</sup> Belén Sánchez Rodríguez; Licenciada en Derecho; Unidad de Investigación de H Torrevieja H Vinalopó

**Vocales:**

- Dr. Frank Leyn Van Der Swalm; Director Gerente Hospital de Torrevieja
- Dr. Ramón Navarro Gómez; Director Gerente Hospital del Vinalopó
- Dra. Maria Angeles Peña Pardo; Adjunta Servicio Farmacología Clínica HGUA
- Dra. Amelia García Luque; Farmacóloga Clínica Hospital Gómez Ulla de Madrid



- Dr. Eduardo Cazorla Amorós; Jefe de Servicio de Ginecología de H Torrevieja H Vinalopó
- Dr. Julio César Blázquez Encinar; Jefe de Servicio Medicina Interna de H Torrevieja H Vinalopó
- D<sup>a</sup> Noemí Pérez Prior Farmacéutica Atención Primaria H Torrevieja
- D<sup>a</sup> Hélène Gisbert Rosique; DUE H Torrevieja
- D. Javier López Solís; Matrón de H Torrevieja
- Dra. María Marín Palazón; F.E.A adjunta al Servicio de Ginecología de H Torrevieja
- Dr. Miguel Ochando Gómez; Jefe de Servicio de Laboratorio H Torrevieja H Vinalopó
- D. Joaquín Quiles; miembro lego externo a los dos centros sanitarios
- Inmaculada Gema Pérez Pérez; Farmacéutica Hospitalaria.
- Dra. María Almendro Candell, médico de familia vía MIR, del CS de Toscar (Dpto. Vlopo)
- Dra. Simona Mas Antón; jefa Pediatría H Torrevieja y H Vinalopó
- Dra. Maria del Carmen Alvarado Valero; oftalmología H Vinalopó
- Dr. Antonio Martínez Lorente; Jefe de Servicio A Pat H Torrevieja H Vinalopó
- D<sup>a</sup>. Mireia J. Ladios Martín; DUE H del Vinalopó, H de Torrejón
- Dr. José Vicente Tuells; Medicina Preventiva H Torrevieja H Vinalopó
- Dr. Andrés Tomás Gómez. Cirugía General H Vinalopó



Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que en el caso de evaluación de algún estudio del que algún integrante del equipo investigador forme parte de este CEIC, este se ausentará durante la deliberación y votación del mismo

2

Lo que firmo en Torrevieja (Alicante) a 7 de Mayo de 2013  
Firmado: LA SECRETARIA  
Belén Sánchez Rodríguez



## **ANEXO II**

### **Hoja de Información al paciente y Consentimiento informado**



## **HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE**

La Doctora M<sup>a</sup> Nieves del Pozo Alonso, su ONCOLOGA del Hospital del Vinalopó; está llevando a cabo un proyecto de Investigación titulado: *“Marcadores predictivos de respuesta tras neoadyuvancia en cáncer de recto”*. La realización del mismo obedece a la realización de la Tesis Doctoral de su oncóloga

El objetivo de este documento es informarle sobre el estudio en el que se le está invitando a participar.

Por favor, tómese el tiempo necesario para leer la siguiente información, y si hay algo que no entienda, por favor, pregúntele a su médico que le ha invitado a participar en este estudio.

La participación en este estudio es totalmente voluntaria y en caso que decida participar, debe saber que, puede retirarse en el momento en que crea oportuno, sin tener que dar ningún tipo de explicación, y solicitar que sus datos recogidos en su Historial Clínico dejen de ser utilizados para este estudio..

Este estudio cuenta con todas las aprobaciones que requiere la ley para puesta en marcha de este tipo de estudios; y cumple con todos los requisitos establecidos en la normativa vigente aplicable.

1

### **INTRODUCCION**

Actualmente disponemos de multitud de medios de prueba para diagnosticar la enfermedad y en función de eses diagnostico decidir la terapia más adecuada para cada paciente, pero no disponemos todavía suficientes medios que nos ayuden a predecir cómo será la respuesta de determinados tratamientos sin tener que llegar a utilizar medios diagnósticos que conlleven cierto tipo de cirugía.

La identificación además de nuevos factores, tanto clínicos como biológicos, pronósticos y predictivos de respuesta puede ser de gran utilidad en la práctica clínica para poder determinar con mayor precisión tanto el pronóstico como la estrategia terapéutica en pacientes con cáncer de recto.

### **OBJETIVOS:**

El objetivo principal del trabajo es establecer la capacidad para predecir la respuesta a los tratamientos de quimioterapia y radioterapia con la Resonancia Magnética y con Estudios Moleculares

## **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

El estudio molecular se realizara sobre una parte de la muestra de tejido que dispongamos de la biopsia que se realizó para su diagnóstico.

No se espera que su participación en el estudio le suponga a Ud. un beneficio potencial directo; dado que en todo momento se le estará tratando del mismo modo en que sería tratado si decidiese no participar. Del mismo modo no se espera que le suponga ningún inconveniente. Ni le supondrá ningún gasto.

### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:**

Su participación en este estudio no implica que vaya a ser sometido a ningún estudio diagnóstico o de tratamiento adicional que no corresponda al manejo clínico habitual de la enfermedad que usted presenta.

Si Ud. decide participar en este estudio, utilizaríamos datos recogidos en su historia clínica. Incluidos datos radiológicos. Para la revisión de los hallazgos radiológicos, se realizara un estudio de concordancia entre dos observadores independientes cualificados en Resonancia Magnética. Esto significa que n primer lugar será revisada por un radiólogo del Hospital del Vinalopó; y después será revisada por un radiólogo del Hospital General Universitario de Valencia. Ello implica que necesitaremos enviar sus resonancias magnéticas a dicho Hospital. Para garantizar en todo momento su anonimato, y por tanto la confidencialidad de sus datos, sus resonancias magnéticas serán enviadas sustituyendo cualquier dato que le pueda identificar por un código.

Adicionalmente utilizaríamos también datos clínico-patológicos, y resultados del estudio molecular y genético obtenido del análisis de su muestra de tejido. Ud, puede decidir participar en el estudio, pero no permitir que para el mismo utilicemos parte de la muestra de tejido que se tomó en la biopsia diagnostica.

Si decide permitir que podamos utilizar datos Clínico-Patológicos, debe saber que, para ello necesitaremos enviar una parte de la muestra del tumor extraído en la biopsia. Esa parte de tumor que utilizaremos formará parte del total de material que se extraiga en la biopsia de la práctica habitual. La implicación de que Ud. decida consentir, implicará que nos autorice a enviar una parte de esa muestra de tejido (siempre y cuando haya material suficiente) a la Unidad de Investigación del Servicio de Oncología del Hospital General de Valencia, para proceder al estudio genético y determinación molecular de Kras, Braf y Nras.( alteraciones genéticas en el tejido tumoral)

## **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

Se le garantiza además que la misma solo será utilizada para este estudio concreto y para ningún otro estudio.

Dicha muestra una vez analizada, le será devuelta a través del Servicio de Anatomía Patológica de este Hospital, donde estará almacenada y custodiada del mismo modo que lo está el resto de la muestra que se tomó en la biopsia diagnóstica.

Ud. tiene derecho a que si se dispone de nueva información que pueda modificar su decisión de continuar en el estudio, la misma le sea facilitada.

### **CONFIDENCIALIDAD:**

También debe saber que con la firma de este documento, Ud. está autorizando a que una serie de personal; además de la Investigadora, tengan acceso a los datos contenidos en su Historial Clínico, tratados los mismos siempre de manera confidencial. Las personas que podrán tener acceso a su historial podrían ser los siguientes:

Los auditores (un auditor es una persona que no forma parte del estudio, pero que puede acceder a sus datos para comprobar que los mismos están siendo tratados por la investigadora de la del modo debido y cumpliendo la Ley) y que serán nombrados por el Centro y/o las Autoridades Competentes,

Los miembros del Comité Ético de Investigación Clínica (que es un órgano colegiado encargado de velar por el cumplimiento de la ley y de la ética de la investigación) sin cuya autorización previa este estudio no podría haber dado comienzo y que puede revisar que el estudio se está llevando a cabo como es debido.

Y las autoridades competentes cuya misión es la verificación de los procedimientos y/o datos del estudio,

Todos estos podrán acceder a su Historial Clínico sin violar la confidencialidad de su identidad y sus datos, y siempre dentro de lo permitido por la normativa pertinente.

Existe la posibilidad de que se presenten los resultados de este estudio en reuniones y/o publicaciones científicas, sin que su identidad sea desvelada en ningún momento.

Los datos clínicos recogidos en su Historial Clínico; y los derivados del análisis de la muestra de tumor, en el caso que nos autorice a utilizarlos, serán tratados de manera confidencial y serán utilizados para la evaluación y análisis del estudio sin desvelar en ningún momento su identidad. Dichos datos no se podrán relacionar directamente con su Identidad, o dato alguno que los relacione con su identidad, para ello se utilizará un código, que sustituirá aquellos datos que le pudiesen identificar.

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE  
RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

Ud. tiene derecho a ser informado de cualesquiera planes para nuevos análisis sobre el su muestra de tumor que no estando previstas en este momento pudiesen surgir durante el desarrollo de este estudio, en ese caso su doctora le tendría que pedir un nuevo consentimiento y el Ud. tiene el derecho a rechazar nuevos análisis, de acuerdo con la legislación nacional.

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE**

Yo (nombre y apellidos del paciente)

.....  
*(Escrito del puño y letra del paciente)*

**DECLARO**

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado que puedo participar en el estudio con independencia de que también permita la utilización de parte de la muestra de tumor.
- He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.
- He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con:

.....  
*(nombre del investigador)*

- He comprendido que mi participación es voluntaria y puedo revocar mi consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- Que libre y voluntariamente acepto participar en el estudio en una de las dos siguientes condiciones:

**(Marque el cuadro de la opción que haya decidido)**

Acepto que sea utilizada una parte del tumor extraída en la biopsia diagnóstica; además del estudio clínico

No acepto que sea utilizada; ni parte ni en su totalidad; la muestra de mi tumor. Solo acepto participar en el estudio clínico

**Firma del paciente:**

**Firma del investigador:**

**Nombre:**

*(Escrito de puño y letra del paciente)*

**Nombre:**

**Fecha:**

**Fecha:**

\*NOTA Este documento se firmará por duplicado un ejemplar para el Centro otro para el interesado.

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DE FAMILIAR**

Yo (nombre y apellidos del familiar)

.....

*(Escrito de su puño y letra)*

En calidad de.....

*(Relación con el paciente)*

De: (nombre y apellidos del paciente)

.....

**DECLARO**

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado que puede participar en el estudio con independencia de que también permita la utilización de parte de la muestra de tumor.
- He comprendido las explicaciones se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo
- He podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que he planteado
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con:

.....

*(nombre del investigador)*

- He comprendido que la participación del paciente es voluntaria.
- He comprendido que su participación es voluntaria y puede revocar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

En mi presencia se ha dado a.....

*(nombre del paciente)* toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar. Presto mi conformidad para que

.....

*(nombre del paciente)* participe en este estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de los datos en las condiciones detalladas en una de las dos siguientes condiciones:

**(Marque el cuadro de la opción que el paciente haya decidido)**

Acepto que sea utilizada una parte del tumor extraída en la biopsia diagnóstica; además del estudio clínico

No acepto que sea utilizada; ni parte ni en su totalidad; la muestra de mi tumor. Solo acepto participar en el estudio clínico

**Firma de.....:**

*(Indicar Relación con el paciente)*

**Firma del investigador:.....**

**Nombre: .....**

*(Escrito de su puño y letra)*

**Nombre: .....**

**Fecha:**

**Fecha:**

\*NOTA Este documento se firmará por duplicado un ejemplar para el Centro otro para el interesado

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: MARCADORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA TRAS NEOADYUVANCIA EN CÁNCER DE RECTO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO ORAL ANTE TESTIGOS**

Yo (nombre y apellidos del testigo)

.....  
*(Escrito del puño y letra del testigo)*

**DECLARO**

Bajo mi responsabilidad que: .....  
*(nombre y apellidos del paciente)*

- Ha leído (ó se le ha leído) la hoja de información que se le ha entregado.
- Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.
- Ha sido informado por el profesional de salud abajo mencionado que puede participar en el estudio con independencia de que también permita la utilización de parte de la muestra de tumor.
- Ha comprendido las explicaciones que se le han facilitado en un lenguaje claro y sencillo.
- Ha podido realizar observaciones y me han sido aclaradas todas las dudas que ha planteado.
- Ha recibido suficiente información sobre el estudio.
- He hablado con:

.....  
*(nombre del investigador)*

- Ha comprendido que su participación es voluntaria y puede revocar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Que libre y voluntariamente acepta participar en el estudio en una de las dos siguientes condiciones:

7

**(Marque el cuadro de la opción que haya decidido)**

- Acepta que sea utilizada una parte del tumor extraída en su biopsia diagnostica; además del estudio clínico
- No acepta que sea utilizada; ni parte ni en su totalidad; parte de la la muestra de su tumor. Solo acepta participar en el estudio clínico

**Firma del testigo:**

**Firma del investigador:**

**Nombre:**

**Nombre:**

*(Escrito de puño y letra del testigo)*

**Fecha:**

**Fecha:**

\*NOTA Este documento se firmará por duplicado un ejemplar para el Centro otro para el interesado

