

# TESIS DOCTORAL

**“Relación del estrés oxidativo y lesión del material genético  
con la patogénia del tumor colorrectal”**

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR-INCLIVA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

---



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

---

**DOCTORANDA: Delia Acevedo León**

**DIRECTORES: Prof. Dr. Guillermo Sáez Tormo  
Dra. Celia Bañuls Morant**

**VALENCIA, marzo de 2019**





Servicio de Análisis Clínicos

## FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

### DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.

Programa de Doctorado: BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGIA (Código 3102).

**Dña. Celia Bañuls Morant**, Doctora por la Universidad de Valencia e Investigadora Postdoctoral del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario Dr. Peset-FISABIO de Valencia y

**D. Guillermo Sáez Tormo**, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia,

### CERTIFICAN:

Que la tesis titulada “Relación del estrés oxidativo y lesión del material genético con la patogenia del tumor colorrectal” presentada por **Dña. Delia Acevedo León**, licenciada en Medicina y Cirugía, ha sido realizada, para optar al Grado de Doctor, bajo nuestra dirección en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Dr. Peset y la Unidad de Patología Oxidativa de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado, en Valencia, a 11 de marzo de 2019.

Fdo. Dra. Celia Bañuls Morant

Fdo. Dr. Guillermo Sáez Tormo



*“Me lo contaron y lo olvidé;  
lo vi y lo entendí;  
lo hice y lo aprendí.”*

(Confucio. Filósofo chino. 551 - 479 a. C.)



A mi marido Fernando,  
por las horas de atención que le ha robado este trabajo  
y por su apoyo comprensivo.  
A mis hijos Delia y Fernando.

Gracias por formar parte de mi vida.



## **Agradecimientos**

La presente tesis es el fruto del trabajo propio y de muchos profesionales, sin los cuales no hubiera sido posible.

En primer lugar quiero agradecer al Dr. Guillermo Sáez Tormo, impulsor del proyecto, su confianza en mí y apoyo constante; por introducirme en el mundo de la investigación y por sus continuas palabras de ánimo. Sin él, esta tesis no hubiera comenzado jamás.

A la Dra. Celia Bañuls Morant, brillante profesional, muy conocedora no sólo de la metodología investigadora, sino también del mundo de la estadística. Gracias a ella he aprendido muchísimo de estos campos y ha hecho que me entusiasme por ellos. Sin ella, esta tesis no hubiera sido posible.

Del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Dr. Peset quiero agradecer especialmente al Dr. Segundo Ángel Gómez Abril, excelente profesional e increíble persona, pilar importante de este proyecto por la coordinación en el reclutamiento de pacientes; por su interés e implicación en este proyecto, siempre dispuesto a ayudar y facilitar todo lo que he necesitado, mil gracias. También quiero agradecer al resto del equipo de cirujanos, médicos Adjuntos y Residentes: Carmen Payá Llorente, Antonio Vázquez Torrejón y Gonzalo Garrigós Ortega; lo mismos que a los administrativos del Servicio, Merche, Antonio y Lola, por su inestimable ayuda. Gracias a todos, pues sin vosotros este trabajo no hubiera siquiera empezado.

Del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Dr. Peset, agradecer a las Dras. Natalia Camarasa Lillo, Marisa Pérez Ebri y al Dr. Jorge Escandón Álvarez, por su implicación y facilitarme todos los medios y datos necesarios para el desarrollo del trabajo. Muchas gracias.

Del laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Dr. Peset, agradecer la colaboración de la especialista en Análisis Clínicos Sara Ferrer Suay; también a mi compañera Técnico especialista de Laboratorio Eva Naranjo y a las enfermeras Nati Lerma y especialmente a Adela Montagud, por ser siempre tan serviciales y ayudarme no sólo en la extracción de las muestras de los pacientes, sino también en su análisis. Y por último a mi jefa, la Dra. Nuria Estañ Capell, por facilitarme el trabajo compartido investigador / asistencial.

Del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular-INCLIVA, Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia, también quiero agradecer el trabajo e interés de Paula García López (Técnico de Laboratorio), Beatriz Domínguez Galván y especialmente Lidia Monzó Beltrán (ambas graduadas en Biotecnología), por su tesón y su bien hacer. Te deseo mucha suerte, Lidia, en tu proyecto.

Y, por último, agradecer a mis hijos su apoyo constante y especialmente a mi marido Fernando, su comprensión y paciencia conmigo.

Y a todas las personas y amigos que han puesto su granito de arena para que este trabajo pudiera llegar a buen puerto.

Muchas gracias a todos.



# INDICE

---



	Pág.
ÍNDICE.....	1
ABREVIATURAS Y SIGLAS .....	11
LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS.....	19
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>29</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>37</b>
2.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.....	39
2.2 CÁNCER COLORRECTAL. ....	42
2.2.1 ANATOMIA-FISIOLOGÍA DEL INTESTINO GRUESO. ....	42
2.2.2 INCIDENCIA/PREVALENCIA. ....	44
2.2.2.1 Cifras en España.....	45
2.2.2.2 Cifras en la Comunidad Valenciana. ....	47
2.2.3 MORTALIDAD.....	49
2.2.3.1 Cifras en España.....	49
2.2.3.2 Cifras en la Comunidad Valenciana. ....	52
2.2.4 HISTOLOGÍA. ....	54
2.2.4.1 Lesiones premalignas. ....	54
2.2.4.2 Lesiones malignas. ....	55
2.2.5 NEOPLASIAS MALIGNAS MÚLTIPLES.....	57
2.2.6 PRONÓSTICO.....	58
2.2.6.1 Afectación de la pared. ....	58
2.2.6.2 Afectación ganglionar.....	66
2.2.6.3 Infiltración linfovascular y perineural. ....	68
2.2.6.4 Grado de diferenciación. ....	69
2.2.6.5 Márgenes del tumor. ....	70
2.2.6.6 Inestabilidad de microsatélites. ....	71

2.2.6.7 Localización colon derecho (proximal) / izquierdo (distal).	73
2.2.6.8 Tamaño.	74
2.2.6.9 Marcadores tumorales.	74
2.2.7 ETIOLOGÍA.	76
2.2.7.1 TIPOS DE CÁNCER COLORRECTAL.	76
2.2.7.1.1 Hereditario.	76
2.2.7.1.2 Familiar.	80
2.2.7.1.3 Esporádico.	81
2.2.7.2 FACTORES DE RIESGO.	81
2.2.7.2.1 Factores no modificables.	81
2.2.7.2.2 Factores modificables.	89
2.2.8 CUADRO CLÍNICO DEL CCR.	92
2.2.8.1 Colon derecho.	92
2.2.8.2 Colon izquierdo.	93
2.2.8.3 Recto.	93
2.2.9 DIAGNÓSTICO.	94
2.2.9.1 Sospecha clínica.	94
2.2.9.2 Exploración física.	99
2.2.9.3 Analítica sanguínea.	100
2.2.9.4 Confirmación diagnóstica y estudio de extensión.	100
2.2.10 TRATAMIENTO.	106
2.2.10.1 QUIRÚRGICO.	107
2.2.10.2 NEOADYUVANTE.	111
2.2.10.3 ADYUVANTE.	112
2.2.11 PREVENCIÓN.	114

2.2.11.1	Primaria: estilos de vida saludable.....	114
2.2.11.1.1	Dieta mediterránea.....	115
2.2.11.2	Secundaria: cribado del CCR.....	118
2.2.11.3	Terciaria: vigilancia. ....	121
2.3	ESTRÉS OXIDATIVO. ....	122
2.3.1	ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO. ....	122
2.3.1.1	Radicales libres.....	124
2.3.2	DAÑO CELULAR PRODUCIDO POR LAS EROs. ....	132
2.3.2.1	Lípidos. ....	132
2.3.2.1.1	F2-Isoprostanos. ....	135
2.3.2.2	Proteínas.....	136
2.3.2.3	Glúcidos. ....	138
2.3.2.4	ADN ....	139
2.3.2.4.1	8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina.....	140
2.3.3	MECANISMOS DE PROTECCIÓN FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO (ANTIOXIDANTES).....	146
2.3.3.1	Antioxidantes enzimáticos.....	150
2.3.3.1.1	Catalasa.....	150
2.3.3.2	Antioxidantes no enzimáticos.....	151
2.3.3.2.1	Antioxidantes endógenos. ....	151
2.3.3.2.1.1	Glutati3n reducido (GSH). ....	151
2.3.3.2.2	Antioxidantes ex3genos ....	157
2.4	ESTRÉS OXIDATIVO Y C3NCER.....	160
2.4.1	MECANISMOS DE LAS EROs EN LA PATOG3NESIS DEL C3NCER.....	160
2.4.1.1	Daño celular producido por las EROs.....	160

2.4.1.2 Modulación de la señalización celular.....	162
2.4.2 ESTRÉS OXIDATIVO Y CARCINOGENESIS COLORRECTAL.....	163
2.4.2.1 Fuentes de radicales libres en colon.....	165
2.4.2.2 Efectos nocivos, beneficiosos y modificadores. ....	167
2.4.2.3 Microbiota intestinal. ....	167
2.4.2.4 Inflamación.....	168
2.4.2.5 Alimentación. ....	172
2.4.2.6 Obesidad.....	173
2.4.2.7 Envejecimiento.....	174
2.4.2.8 Actividad física. ....	174
<b>3. HIPÓTESIS. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>177</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>181</b>
4.1 PRINCIPALES.....	183
4.2 SECUNDARIOS.....	183
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>185</b>
5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO. ....	187
5.2 MATERIAL. SELECCIÓN DE MUESTRAS DEL ESTUDIO....	187
5.2.1 Pacientes. ....	187
5.2.1.1 Tamaño muestral. ....	187
5.2.1.2 Criterios de inclusión.....	188
5.2.1.3 Criterios de exclusión.....	188
5.2.2 Controles sanos .....	189
5.3 PROTOCOLO DEL ESTUDIO .....	190
5.4 MÉTODOS.....	191
5.4.1 Recogida de datos. Historia clínica.....	191

5.4.2	Reclutamiento de los pacientes. Extracción y preparación de las muestras. ....	193
5.4.3	Análisis de las muestras. ....	193
5.4.3.1	Estudio bioquímico.....	193
5.4.3.2	Estudio hematológico.....	196
5.4.3.3	Estudio de estrés oxidativo. ....	197
5.4.4	Análisis estadístico de los datos .....	205
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>209</b>
6.1	ANÁLISIS COMPARATIVO DE PACIENTES Y CONTROLES EN PERIODO BASAL. ....	211
6.1.1	Características demográfico-antropométricas. ....	211
6.1.2	Marcadores bioquímicos, hematológicos y tumorales. .	212
6.1.3	Marcadores de estrés oxidativo. ....	214
6.2	VARIABLES ESTUDIADAS EN LOS PACIENTES.....	214
6.2.1	PARÁMETROS ANALÍTICOS BASALES PATOLÓGICOS .....	214
6.2.2	PARÁMETROS CLÍNICOS.....	215
6.2.2.1	Signos/síntomas iniciales.....	215
6.2.2.2	Comorbilidades. ....	216
6.2.2.3	Hábitos tóxicos.....	217
6.2.2.4	Adherencia a la dieta mediterránea. ....	218
6.2.2.5	Variables referidas al tumor. ....	218
6.2.2.5.1	Antecedentes familiares de CCR. ....	218
6.2.2.5.2	Tamaño tumoral.....	219
6.2.2.5.3	Histología. ....	219
6.2.2.5.4	Estadio tumoral.....	220

6.2.2.5.5 Localización. ....	221
6.2.2.5.6 Afectación peritumoral. ....	222
6.2.2.5.7 Tipo de cirugía. ....	222
6.2.2.5.8 Tratamiento pre y postcirugía (neoadyuvante y adyuvante). ....	223
6.2.2.5.9 Lesiones asociadas.....	224
6.2.2.5.10 Estudio de IMS, KRAS, NRAS, BRAF y Kit	225
6.2.2.5.11 Evolución post-tratamiento.....	225
6.2.3 COMPARACIÓN ADENOMAS/CARCINOMAS. ....	226
6.2.4 COMPARACIÓN DEL TUMOR GIST CON ADENOMAS/CARCINOMAS. ....	229
6.2.5 CORRELACIÓN DE LA HEMOGLOBINA.....	230
6.2.6 CORRELACIÓN DE MARCADORES DE INFLAMACIÓN CON MARCADORES TUMORALES.....	233
6.2.7 ASOCIACIONES DE LA DIETA MEDITERRÁNEA. ....	233
6.2.8 RELACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO CON DISTINTOS FACTORES CLÍNICOS DE LOS PACIENTES.....	237
6.2.8.1 Con las comorbilidades y factores de riesgo.....	238
6.2.8.2 Con factores con potencial preventivo de CCR .....	239
6.2.8.3 Con factores relacionados con el tumor.....	241
6.2.8.4 Con localización derecha/izquierda de colon. ....	242
6.2.9 CORRELACIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO CON OTROS MARCADORES.....	244
6.2.9.1 Con marcadores tumorales.....	244
6.2.9.2 Con marcadores de inflamación. ....	247
6.2.9.3 Con marcadores de anemia.....	248

6.2.10 ASOCIACIÓN CON ESTADIO TUMORAL. ....	249
6.2.10.1 Comorbilidades y factores de riesgo.....	250
6.2.10.2 Variables referidas al tumor. ....	251
6.2.10.3 Marcadores bioquímicos de anemia e inflamación .....	252
6.2.10.4 Marcadores de estrés oxidativo .....	254
6.2.10.5 Marcadores tumorales. ....	255
6.3 ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE DISTINTOS ANALITOS EN LOS PACIENTES ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA. ....	256
6.3.1 Marcadores de estrés oxidativo. ....	256
6.3.2 Marcadores tumorales. ....	258
6.3.3 Marcadores de inflamación sistémica. ....	259
6.3.4 Marcadores de anemia. ....	260
6.4 EVALUACIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO: TABLAS DE CONTINGENCIA Y CURVAS ROC. ....	262
6.5 ANÁLISIS INFERENCIAL .....	264
6.5.1 REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE.....	265
6.5.2 REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA. ....	268
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	271
CÁNCER COLORRECTAL Y ESTRÉS OXIDATIVO.....	273
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO.....	279
7.1 Evaluación de los marcadores de estrés oxidativo en los pacientes frente al grupo de controles sanos.....	283
7.2 Evaluación de los marcadores de estrés oxidativo en situación basal y en los diferentes tiempos de evolución del tumor.....	288

7.3 Características diagnósticas de los marcadores de estrés oxidativo en la evolución del CCR. Comparación con los marcadores tumorales utilizados en la práctica clínica.....	290
7.4 Valor predictivo pronóstico de los marcadores de estrés oxidativo y otros marcadores en la evolución del CCR.....	291
7.5 Influencia de las comorbilidades y factores de riesgo en la evolución del proceso tumoral. ....	292
7.6 Influencia de factores con potencial preventivo en los niveles de estrés oxidativo y en la evolución del CCR.....	293
7.7 Influencia de factores asociados al tumor en los niveles de estrés oxidativo y en la evolución del CCR.....	296
7.8 Marcadores de estrés oxidativo en adenomas, carcinomas y tumor GIST. Comparación con el grupo control.....	296
7.9 Estudio evolutivo de otros analitos: marcadores tumorales, de inflamación y de anemia. ....	297
7.10 Asociación con estadio tumoral de los distintos marcadores.	310
7.11 Otras asociaciones. ....	313
COMENTARIO FINAL. ....	315
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	317
<b>9. ANEXOS</b> .....	323
ANEXO I: HOJA DE INFORMACIÓN A LOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO.....	325
ANEXO II: HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	329
ANEXO III: CUESTIONARIO DE ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA. ....	331
<b>10. BIBLIOGRAFIA</b> .....	333

# **ABREVIATURAS Y SIGLAS**

---



<b>AAS:</b> Ácido acetil-salicílico.	<b>CCCG:</b> <i>Cochrane colorectal cancer group.</i>
<b>Ache:</b> Acetilcolinesterasa.	<b>CCR:</b> Cáncer colorrectal.
<b>ADN:</b> Ácido desoxirribonucleico.	<b>CEA:</b> Antígeno carcinoembrionario.
<b>ADP:</b> Adenosin difosfato.	<b>CEIC:</b> Comité ético de investigación clínica.
<b>AECC:</b> Asociación Española Contra el Cáncer.	<b>CIBERObn:</b> Centro de investigación biomédica en red de la obesidad y la nutrición.
<b>AGPI:</b> Ácidos grasos poliinsaturados.	<b>CKD-EPI:</b> <i>Chronic kidney disease epidemiology collaboration.</i>
<b>AINES:</b> Antiinflamatorios no esteroideos.	<b>COO<sup>•</sup>:</b> Radical peroxi con centro de oxígeno.
<b>AJCC:</b> <i>American Joint Committee on Cancer.</i>	<b>COX:</b> Ciclooxygenasa.
<b>ANOVA:</b> Análisis de la varianza.	<b>CpG:</b> <i>Guanines phosphate and cytosines islands.</i>
<b>APC:</b> <i>Adenomatous polyposis coli.</i>	<b>CTC:</b> Colonografía tomográfica computarizada.
<b>ARN:</b> Ácido ribonucleico.	<b>DGSP:</b> Dirección General de Salud Pública.
<b>ASGE:</b> <i>American Society of Gastrointestinal Endoscopy.</i>	<b>DE:</b> Desviación estándar.
<b>ATP:</b> Adenosín trifosfato.	<b>DM:</b> Diabetes mellitus.
<b>C<sup>•</sup>:</b> Radical con centro de oxígeno.	<b>DTNB:</b> Ácido 5-5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico.
<b>CA 19.9:</b> Antígeno carbohidratado 19.9.	
<b>CAT:</b> Catalasa.	
<b>CCI3<sup>•</sup>:</b> Radical triclorometilo.	

<b>EDTA:</b> Ácido etilendiaminotetraacético.	<b>GST:</b> Glutación-S-transferasa.
<b>EGF:</b> <i>Epidermal growth factor.</i>	<b>GSTNB:</b> Disulfuro mixto entre GSH y TNB.
<b>EGFR:</b> <i>Epidermal growth factor receptor.</i>	<b>HDL:</b> <i>High Density Lipoproteins.</i>
<b>EII:</b> Enfermedad inflamatoria intestinal.	<b>HNPCC:</b> <i>Hereditary non-polyposis colorectal cancer.</i>
<b>EO:</b> Estrés Oxidativo.	<b>HIPEC:</b> <i>Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy.</i>
<b>ERNs:</b> Especies reactivas de nitrógeno.	<b>HCIO:</b> Acido hipocloroso.
<b>EROs:</b> Especies reactivas de oxígeno.	<b>4-HNE:</b> 4-hydroxy-2-nonenal.
<b>ESGE:</b> <i>European Society for Gastrointestinal Endoscopy.</i>	<b>HO•:</b> Radical hidroxilo.
<b>EUCAN:</b> <i>Europe &amp; Canada Business Unit.</i>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b> Peróxido de hidrógeno.
<b>FAP:</b> <i>Familial Adenomatous Polyposis.</i>	<b>hOGG1:</b> 8-oxoguanina glicosilasa.
<b><sup>18</sup>FDG:</b> Flúor-18 deoxi-glucosa.	<b>HOO•:</b> Radical hidroperoxilo.
<b>FGF:</b> <i>Fibroblast growth factor.</i>	<b>HPLC-EC:</b> Cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica.
<b>GIST:</b> <i>Gastrointestinal stromal tumor.</i>	<b>HTA:</b> Hipertensión arterial.
<b>GPx:</b> Glutación peroxidasa.	<b>IARC:</b> <i>International Agency for Research on Cancer.</i>
<b>GR:</b> Glutación reductasa.	<b>IL-6:</b> Interleuquina 6.
<b>GSH:</b> Glutación reducido.	<b>IMC:</b> Índice de masa corporal.
<b>GSSG:</b> Glutación oxidado.	<b>IMS:</b> Inestabilidad de microsatélites.
	<b>IRC:</b> Insuficiencia renal crónica.

**IST:** Índice de saturación de la transferrina.

**JPS:** *Juvenile polyposis syndrome.*

**K-RAS:** Oncogén del virus del sarcoma de Kirsten RAt.

**LDL:** *Low Density Lipoproteins.*

**LNR:** *Lymph Node Ratio.*

**LOO<sup>•</sup>:** Radical lípido peroxilo.

**LOOH:** Hidroperóxido lipídico.

**LOX:** Lipoxigenasa.

**MAPK:** *Mitogen-Activated Protein Kinases.*

**mARN:** Ácido ribonucleico mensajero.

**MDA:** Malondialdehído.

**MMR:** *Mismatch Repair.*

**MPA:** Ácido metafosfórico.

**MS:** Microsatélites.

**MUTYH:** Gen homólogo humano de mutY de E. coli.

**NADP<sup>+</sup>:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada.

**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida.

**NCCN:** *National Comprehensive Cancer Network.*

**NF-κB:** Factor nuclear-cadenas ligeras kappa de células B activadas.

**NIH:** *National Institutes of Health.*

**NLR:** *Neutrophil Lymphocyte Ratio*

**NO:** Óxido nítrico.

**NO<sup>•</sup>:** Radical óxido nítrico.

**NSB:** *Non-Specific Binding.*

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** Oxígeno molecular singlete.

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Anión superóxido.

**O<sub>3</sub>:** Ozono.

**ONOO<sup>•</sup>:** Radical peroxinitrito.

**ONS:** Óxido nítrico sintasa.

**OR:** *Odds ratio.*

**8-oxodG:** 8-oxo-7'8-dihidro-2'-deoxiguanosina.

**PBS:** *Phosphate buffered saline.*

**PCR:** Proteína C reactiva.

**PET-TAC:** Tomografía por emisión de positrones-tomografía axial computarizada.

**PHGR1:** *Proline-Histidine-Glycine-Rich1*.

**PREDIMED:** Prevención con dieta mediterránea.

**REB:** Reparación por escisión de bases.

**REN:** Reparación por escisión de nucleótidos.

**RL:** Radicales libres.

**RMN:** Resonancia magnética nuclear.

**RO<sup>•</sup>:** Radical alcohoxilo.

**ROC:** *Receiver Operating Characteristic*.

**ROO<sup>•</sup>:** Radical peroxilo.

**RT-PCR:** *Polymerase chain reaction with reverse transcriptase*.

**SEER:** *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*.

**-SeH:** Selenol.

**SEOM:** Sociedad Española de Oncología Médica.

**-SH:** Grupo tiol.

**SNK:** Test Student-Newman-Keuls.

**SOD:** Superóxido dismutasa.

**SOH:** Sangre oculta en heces.

**SPE:** *Solid Phase Extraction*.

**SPSS:** *Statistical Package for the Social Sciences*.

**TAC:** Tomografía axial computarizada.

**TAM:** Macrófagos asociados al tumor.

**TAN:** Neutrófilos asociados al tumor.

**TBA:** *Thiobarbituric Acid*.

**TBARS:** *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*.

**TEAM:** Trietanolamina.

**TK:** tirosín-kinasa.

**TNB:** Ácido 5-tio-2-nitrobenzoico.

**TNF $\alpha$ :** *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* .

**Tris:** Tampón hidroximetil aminometano.

**UICC:** Unión internacional  
contra el cáncer.

**USER:** Ultrasonografía  
endorrectal.

**UV:** Ultravioleta.

**VR:** Valores de referencia.



# **LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS**

---



## TABLAS

Pág.

<b>Tabla 1.</b> Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la American Joint Committee on Cancer 2010.....	60
<b>Tabla 2.</b> Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la American Joint Committee on Cancer 2018.....	61
<b>Tabla 3.</b> Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer .....	64
<b>Tabla 4.</b> Tiempos de vida estimados para especies reactivas.....	126
<b>Tabla 5.</b> Variables demográfico-antropométricas de controles y pacientes.....	211
<b>Tabla 6.</b> Parámetros bioquímicos de controles y pacientes.....	212
<b>Tabla 7.</b> Parámetros hematológicos de controles y pacientes.....	213
<b>Tabla 8.</b> Marcadores tumorales de controles y pacientes.....	213
<b>Tabla 9.</b> Marcadores basales de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) en controles y pacientes. ....	214
<b>Tabla 10.</b> Histología tumoral del cáncer colorrectal.....	220
<b>Tabla 11.</b> Estadificación TNM de los tumores colorrectales. ....	221
<b>Tabla 12.</b> Comparación de resultados de marcadores tumorales y de estrés oxidativo entre el tumor GIST y el resto de adenomas y carcinomas. ....	230
<b>Tabla 13.</b> Correlación entre marcadores tumorales y marcadores inflamatorios sistémicos.....	233
<b>Tabla 14.</b> Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con las comorbilidades de los pacientes ...	234

<b>Tabla 15.</b> Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con estadio tumoral .....	234
<b>Tabla 16.</b> Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con los factores relacionados con el tumor .....	235
<b>Tabla 17.</b> Comparación de los marcadores tumorales según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.....	236
<b>Tabla 18.</b> Comparación de los marcadores bioquímicos según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.....	236
<b>Tabla 19.</b> Comparación de los marcadores inflamatorios según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.....	237
<b>Tabla 20.</b> Comparación de los marcadores de anemia según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.....	237
<b>Tabla 21.</b> Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) entre pacientes con distintas variables clínicas y comorbilidades.....	238
<b>Tabla 22.</b> Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) entre pacientes con distintos factores potencialmente protectores.....	240
<b>Tabla 23.</b> Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) en pacientes según factores relacionados con el tumor..	241
<b>Tabla 24.</b> Diferencias de medias de estrés oxidativo en los pacientes según localización del tumor.....	243
<b>Tabla 25.</b> Correlación de los marcadores de estrés oxidativo según localización tumoral en lado derecho/izquierdo de colon.....	243
<b>Tabla 26.</b> Asociación con diámetro tumoral y estadio según localización del tumor en lado derecho/izquierdo de colon.....	244
<b>Tabla 27.</b> Correlación de marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) con marcadores inflamatorios sistémicos.....	247

**Tabla 28.** Correlación de marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) con marcadores de anemia. .... 249

**Tabla 29.** Asociación entre características clínicas/comorbilidades de los pacientes y estadio tumoral..... 250

**Tabla 30.** Asociación entre características referidas a los tumores y estadio tumoral.. .... 251

**Tabla 31.** Resultados analíticos bioquímicos y hematológicos por estadio tumoral... .... 253

**Tabla 32.** Pruebas diagnósticas de los marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) ..... 262

**Tabla 33.** Regresión lineal multivariante para marcadores de estrés oxidativo. Variable dependiente: diámetro mayor tumoral... ..... 266

**Tabla 34.** Regresión lineal multivariante para variables bioquímicas, marcadores de anemia, marcadores de inflamación, características clínicas y tumorales; variable dependiente: diámetro mayor tumoral. .... 267

**Tabla 35.** Regresión logística binaria para variables de estrés oxidativo; variable dependiente: estadio tumoral avanzado..... 268

**Tabla 36.** Regresión logística binaria para variables de estrés oxidativo; variable dependiente: metástasis post-cirugía..... 269



## FIGURAS

Pág.

<b>Figura 1.</b> Número de nuevos casos estimados en el mundo en 2018, todos los cánceres, todas las edades, ambos sexos .....	40
<b>Figura 2.</b> Número de fallecimientos estimados en el mundo en 2018, todos los cánceres, todas las edades, ambos sexos .....	41
<b>Figura 3.</b> Anatomía del intestino grueso.....	42
<b>Figura 4.</b> Capas de la pared del colon .....	44
<b>Figura 5.</b> Cifras de cáncer en España .....	46
<b>Figura 6.</b> Cánceres más frecuentes en España en ambos sexos ...	46
<b>Figura 7.</b> Prevalencia del cáncer en España en 2018 en hombres (A) y mujeres (B).....	47
<b>Figura 8.</b> Incidencia de los principales tumores en la Comunidad Valenciana por sexos en 2015.....	48
<b>Figura 9.</b> Incidencia del cáncer colorrectal por edad y sexo en la Comunidad Valenciana en 2015. ....	49
<b>Figura 10.</b> Tasa bruta de mortalidad en España según causa de muerte en 2015.....	50
<b>Figura 11.</b> Mortalidad en España por tipo de tumor .....	51
<b>Figura 12.</b> Mortalidad en España por tipo de tumor y sexo .....	51
<b>Figura 13.</b> Causas de muerte en la Comunidad Valenciana en 2015.....	52
<b>Figura 14.</b> Mortalidad por los principales tumores en ambos sexos en la Comunidad Valenciana en 2015 .....	53

<b>Figura 15.</b> Tasas de mortalidad por edad y sexo en la Comunidad Valenciana 2015.....	54
<b>Figura 16.</b> Etapas evolutivas del cáncer colorrectal.....	61
<b>Figura 17.</b> Complejas interacciones del proceso de la inflamación en el espectro de progresión del cáncer.....	86
<b>Figura 18.</b> Modelo de equilibrio entre pro-oxidantes y antioxidantes.....	123
<b>Figura 19.</b> Especies parcialmente reducidas de oxígeno.....	125
<b>Figura 20.</b> Peroxidación lipídica.....	133
<b>Figura 21.</b> Formación de la 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina..	140
<b>Figura 22.</b> Ruta de la reparación de la escisión de la base 8-oxodG.....	142
<b>Figura 23.</b> Daño celular mediado por radicales libres.....	144
<b>Figura 24.</b> Generación exógena de radicales libres y efectos adversos del estrés oxidativo en la patogenia de enfermedades ..	145
<b>Figura 25.</b> Papel de los radicales libres en la carcinogénesis.....	145
<b>Figura 26.</b> Esquema del mecanismo de acción de los antioxidantes.....	149
<b>Figura 27.</b> Ciclo de oxidación-reducción del glutatión.....	153
<b>Figura 28.</b> Representación esquemática de la barrera colónica y de los mecanismos de protección intracelular contra el estrés oxidativo.....	166
<b>Figura 29.</b> Diagrama de flujo de los pacientes en el control evolutivo.....	189
<b>Figura 30.</b> Actividad de la Catalasa.....	198
<b>Figura 31.</b> Reacción del reciclado del glutatión reducido.....	199

<b>Figura 32.</b> Esquema de la reacción de los F2-Isoprostanos catalizada por la acetilcolina .....	203
<b>Figura 33.</b> Signos/síntomas clínicos iniciales de sospecha de los pacientes.....	216
<b>Figura 34.</b> Comorbilidades presentes en los pacientes.....	217
<b>Figura 35.</b> Localización de los tumores colorrectales.....	222
<b>Figura 36.</b> Endoscopia digestiva baja. Pólipos adenomatosos de base ancha, abarcando gran parte de la luz del colon.....	224
<b>Figura 37.</b> Comparación de medias de marcadores de estrés oxidativo entre adenomas y carcinomas.....	226
<b>Figura 38.</b> Diferencia de medias de los marcadores de estrés oxidativo entre controles y dos grupos de pacientes según el tipo de tumor (adenoma y carcinoma). .....	228
<b>Figura 39</b> Correlación de la hemoglobina con marcadores de inflamación.....	231
<b>Figura 40.</b> Frecuencia de anemia según la localización tumoral...	232
<b>Figura 41.</b> Correlación entre marcadores de estrés oxidativo y CEA.....	245
<b>Figura 42.</b> Correlación entre marcadores de estrés oxidativo y CA 19.9.....	246
<b>Figura 43.</b> Resultados de estrés oxidativo agrupados por estadios.....	254
<b>Figura 44.</b> Resultados de los marcadores tumorales agrupados por estadios.....	256
<b>Figura 45.</b> Control evolutivo de los marcadores de estrés oxidativo; comparación con los controles sanos. ....	257
<b>Figura 46.</b> Control evolutivo de los marcadores tumorales .....	258

<b>Figura 47.</b> Evolución en el tiempo de los marcadores de inflamación.....	259
<b>Figura 48.</b> Evolución en el tiempo de los marcadores de anemia.....	260
<b>Figura 49.</b> Curva ROC y área bajo la curva correspondiente a los marcadores de estrés oxidativo y marcadores tumorales considerados positivos cuando son superiores al punto de corte..	263
<b>Figura 50.</b> Curva ROC y área bajo la curva correspondiente a los marcadores de estrés oxidativo considerados positivos cuando son inferiores al punto de corte .....	264

# 1. RESUMEN

---



## 1. RESUMEN.

**Introducción.** El cáncer colorrectal representa un problema de salud importante en los países occidentales; en España supone la segunda causa de muerte por cáncer en hombres y mujeres tras los tumores de pulmón y mama, respectivamente. Se prevé que el número de nuevos casos aumente aproximadamente en un 70% en los próximos 20 años, por lo que constituye un problema de salud pública en los países desarrollados. Por ello, la identificación de nuevos biomarcadores que, solos o como complemento de pruebas existentes, permitan reconocer fases tempranas de la enfermedad, es de gran importancia para el manejo más adecuado de los pacientes afectos.

Se consideran factores pronósticos el estadio avanzado (de la clasificación TNM), el tamaño tumoral, la localización derecha o izquierda y el grado histológico de la OMS. El 70-80% son esporádicos y el resto tiene una base genética, de los cuales un 15-20% se considera familiar (de herencia poligénica) y un 3-5% es hereditario, incluyendo el cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC) o Síndrome de Lynch y la Poliposis adenomatosa familiar (FAP), entre otros. El tratamiento quirúrgico puede requerir de tratamiento neoadyuvante (que se aplica como primera opción de tratamiento con la finalidad de reducir el tamaño del tumor) y adyuvante, posterior a la cirugía; en ambos casos consiste en administrar radio o quimioterapia. En su prevención juega un papel muy importante el programa de detección de sangre oculta de la Dirección General de Salud Pública.

Una de las características fisiopatogénicas de las enfermedades tumorales es la influencia del componente inflamatorio sistémico, que contribuye en gran manera a la expansión de las células tumorales y a la aparición de complicaciones. La inflamación implica la interacción entre células inmunitarias, células inflamatorias, quimioquinas, citoquinas y mediadores pro-inflamatorios, que a través de las distintas vías de señalización puede llevar hacia la proliferación, crecimiento e invasión tumoral. En estrecha relación con este hecho está el fenómeno de oxidación espontánea de moléculas de gran importancia homeostática o estrés oxidativo, a través de la formación de especies reactivas de oxígeno, que incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos. El estrés oxidativo, la inflamación crónica y el cáncer están estrechamente relacionados.

**Objetivos. Principales:** evaluar los marcadores de estrés oxidativo en los pacientes con cáncer colorrectal frente a los controles sanos, y durante la evolución de la enfermedad, antes y después de la cirugía; calcular sus características diagnósticas, estudiar asociación con estadio tumoral y su potencial valor predictivo pronóstico. **Secundarios:** analizar asociación de comorbilidades, características clínicas y factores de riesgo con niveles de estrés oxidativo, así como con factores potencialmente preventivos (como la dieta mediterránea); estudiar evolución de otros analitos en los pacientes antes y después de la cirugía (marcadores tumorales, de inflamación sistémica y de anemia) y asociación con estadio tumoral. Evaluar marcadores de estrés oxidativo en

adenomas frente a carcinomas y según localización del tumor en colon derecho o izquierdo.

**Material y métodos.** Estudio prospectivo observacional que incluyó 60 controles sanos y 80 pacientes con diagnóstico de tumoración colorrectal, con control evolutivo durante un año. Se recogieron datos clínicos de interés y los referentes a la tumoración; además, los pacientes cumplimentaron el cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (del estudio PREDIMED). Se determinaron en sangre marcadores bioquímicos, de inflamación, de anemia, tumorales y de estrés oxidativo; entre estos últimos, Catalasa y sistema glutatión (GSH, GSSG, índice GSSG/GSH) en suero; 8-oxo-7'8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodG) y F2-Isoprotanos en orina. Para todas las determinaciones (excepto 8-oxodG) se utilizaron los ensayos espectrofotométricos de Cayman Chemical; la 8-oxodG se determinó por Cromatografía de alta resolución con detección electroquímica (HPLC-EC). Para el tratamiento estadístico se utilizó el programa SPSS 17.0 y se aplicaron tests estadísticos paramétricos y no paramétricos en función de la homogeneidad de la varianza y la normalidad de las variables. El nivel de significación estadística utilizado en todos los casos ha sido  $\alpha$ , existiendo diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

**Resultados y Discusión.** La comparación de medias entre ambos grupos de pacientes y controles presentó diferencias muy significativas ( $p < 0,001$ ) en todos los marcadores de estrés oxidativo estudiados. Las medias fueron inferiores en Catalasa y GSH en los pacientes respecto a los controles sanos, y superiores en GSSG,

índice GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos. Evolución en el tiempo de los marcadores de estrés oxidativo: aumento progresivo de Catalasa y GSH, con descenso de GSSG y relación GSSG/GSH, alcanzando casi los niveles de los controles sanos a los 12 meses; pero la 8-oxodG y los F2-Isoprostanos siguieron aumentados en dicho periodo. Todos ellos exhibieron buena sensibilidad y especificidad, a diferencia de los marcadores tumorales CEA y CA 19.9. Presentaron asociación con mal pronóstico 8-oxodG, F2-Isoprostanos y CEA. En los pacientes con adherencia a la dieta mediterránea se observaron niveles disminuidos de 8-oxodG, aumento del HDL-colesterol, asociación con estadios localizados, bajo grado histológico de la OMS y menor presencia de adenomas sincrónicos, todos ellos factores de buen pronóstico. La IL-6, el fibrinógeno y las plaquetas correlacionaron con todos los marcadores de estrés oxidativo (negativamente con Catalasa y GSH y positivamente con el resto); en cambio la PCR y los marcadores de anemia no correlacionaron con ninguno. Los pacientes con adenomas presentaron menos estrés oxidativo (niveles más elevados de Catalasa y GSH y más bajos de F2-Isoprostanos) que los carcinomas. No se encontró asociación entre localización derecha o izquierda en colon con tamaño o estadio tumoral, mientras que la anemia sí se asoció al colon derecho, en consonancia con los trabajos publicados.

**Conclusiones.** A la vista de los resultados obtenidos, los marcadores de estrés oxidativo serían de aplicación tanto para la determinación basal como para el seguimiento posterior a la cirugía

de estos pacientes, especialmente la 8-oxodG y F2-Isoprostanos. Ambos, junto con el índice GSSG/GSH, presentaron muy buenas pruebas diagnósticas y fueron predictoras de mal pronóstico en la evolución del cáncer colorrectal junto al CEA, por lo que pueden constituir una herramienta útil de apoyo en el seguimiento de estos pacientes.



## **2. INTRODUCCIÓN**

---



## **2. INTRODUCCIÓN.**

### **2.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.**

El cáncer como enfermedad ya se menciona en documentos históricos muy antiguos, entre ellos papiros egipcios del año 1600 a.C. (papiro de Edwin Smith), que hacen una descripción de la enfermedad (*López-Espinosa, 2002*).

El término cáncer proviene de la palabra en latín *cáncer*, que significa “cangrejo”; el término griego equivalente es *karkínos* que, además de cangrejo significa “úlceras malignas” y “cáncer”, término que documenta Hipócrates (siglo V a.C.) por la semejanza del crecimiento anormal celular con el cuerpo del cangrejo (*Salaverry, 2013*).

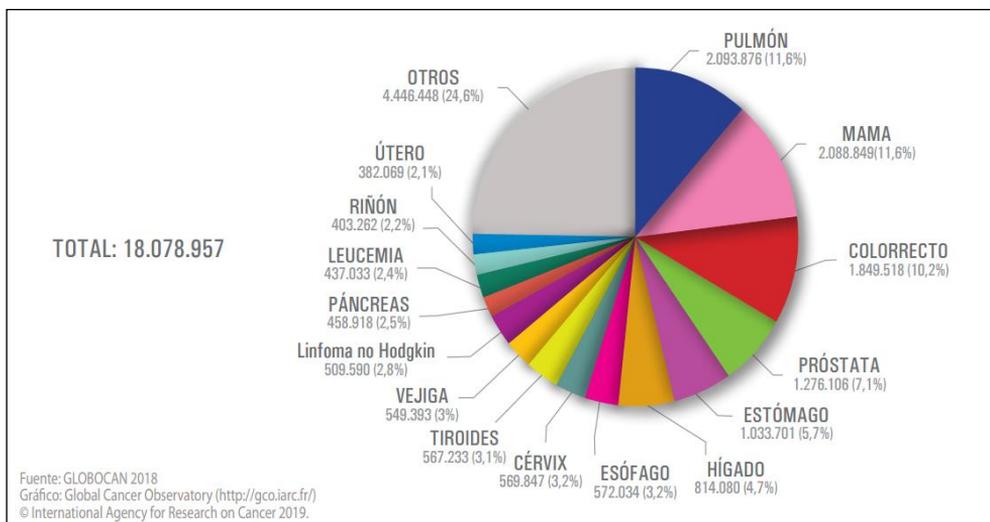
En general podríamos definir el cáncer como todo tumor maligno que tiende a invadir y destruir los tejidos circundantes y que puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo (*OMS, 2018*), entendiendo por tumor cualquier alteración de los tejidos que produzca un aumento de volumen; se trata de una enfermedad degenerativa que afecta al crecimiento y diferenciación celular, presenta una etiología multifactorial y se caracteriza por una evolución progresiva de tendencia invasiva (*Peto, 2001*).

El cáncer constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo. De acuerdo con los últimos datos disponibles estimados dentro del proyecto GLOBOCAN 2018, su frecuencia continúa creciendo, habiendo aumentado desde los 14 millones de casos en el mundo estimados en el año 2012 a los 18,1 millones en 2018. Se estima que el número de casos nuevos

aumentará en las dos próximas décadas, alcanzando los 29,5 millones en 2040 (SEOM, 2019). El envejecimiento de la población, el incremento de la incidencia de muchos tumores malignos y la mayor supervivencia de los enfermos de cáncer debida a los avances diagnósticos y terapéuticos, han supuesto un aumento significativo de su prevalencia (SEOM 2017).

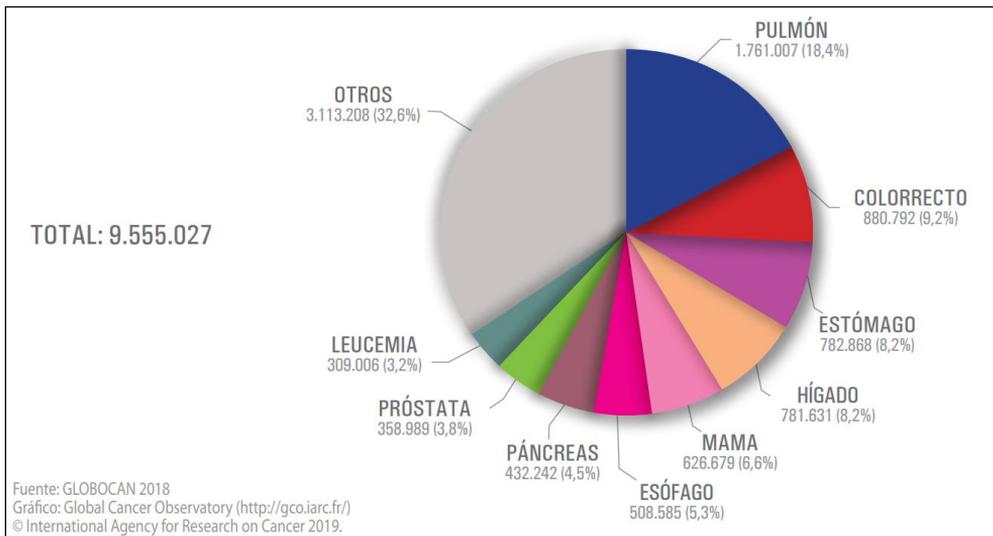
Casi una de cada seis defunciones en el mundo se debe a esta enfermedad. Cerca del 70% de las muertes por cáncer se registran en países de ingresos medios y bajos.

Según la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) dependiente de la OMS, los datos estimados en 2018 en cuanto a incidencia y mortalidad por cáncer a nivel mundial se muestran en las siguientes figuras (SEOM, 2019):



**Figura 1. Número de nuevos casos estimados en el mundo en 2018, todos los cánceres, todas las edades, ambos sexos (SEOM, 2019).**

Los cánceres diagnosticados con más frecuencia a nivel mundial en 2018 fueron el de pulmón (2,09 millones de casos, esto es, el 11,6% del total), el de mama (2,088 millones, es decir, el 11,6%) y el cáncer colorrectal (CCR) con 1,85 millones de casos, esto es, el 10,2% del total.



**Figura 2. Número de fallecimientos estimados en el mundo en 2018, todos los cánceres, todas las edades, ambos sexos (SEOM, 2019).**

La primera causa de mortalidad por cáncer en el mundo en 2018, en ambos sexos, fue el de pulmón (1,76 millones de casos, es decir, el 18,4% del total), seguido por el CCR (0,88 millones, esto es, el 9,2% del total) y en tercer lugar el cáncer de estómago (0,78 millones, es decir, el 8,2% del total).

## 2.2 CÁNCER COLORRECTAL.

### 2.2.1 ANATOMÍA-FISIOLOGÍA DEL INTESTINO GRUESO.

El intestino grueso o colon es la última porción del aparato digestivo; mide 1,5 m de longitud y 6,5 cm de diámetro, extendiéndose entre el íleon y el ano. Comprende las siguientes porciones (Figura 3): ciego con el apéndice, colon ascendente o derecho, flexura hepática, colon transverso, flexura esplénica, colon descendente o izquierdo, colon sigmoide o sigma y recto (*EcuRed, 2019*). El punto de diferenciación entre colon derecho e izquierdo corresponde a la unión del 1/3 medio del colon transverso con el 1/3 izquierdo del mismo, frente a la arteria cólica aproximadamente.

El recto se prolonga entre 12 y 15 cm desde la unión recto-sigmoidea hasta el margen anal y se divide en 3 porciones (tercios) de aproximadamente 5 cm de longitud cada una; son los tercios superior, medio e inferior (*Crespo, 2012*).

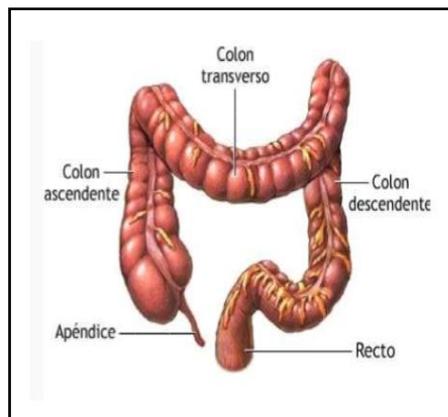


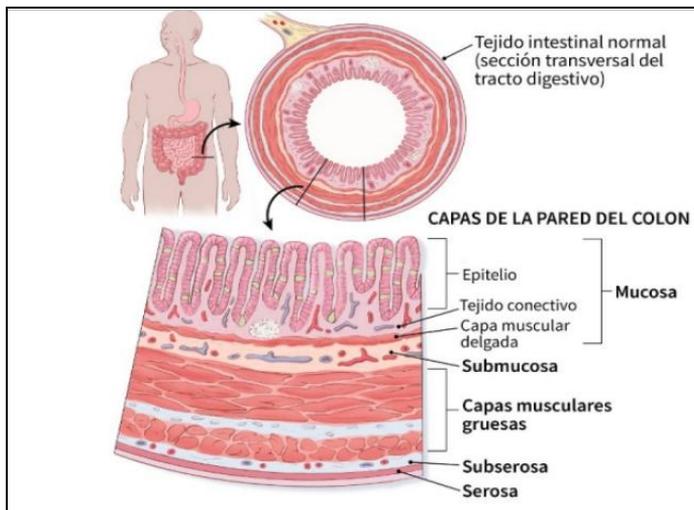
Figura 3. Anatomía del intestino grueso (<https://www.ecured.cu/Colon>).

Es un órgano hueco, alargado y con forma de tubo. El colon comunica el intestino delgado con el recto que, a su vez, termina en el ano; se encuentra muy cerca de otros órganos abdominales como el hígado, el estómago y el bazo. El recto está próximo a la próstata, la vejiga, el útero y los ovarios.

El colon extrae el agua de las heces, hace que sean compactas y evita la pérdida de líquidos por la deposición. El recto funciona como un reservorio donde se almacenan las heces y evita la incontinencia fecal (SEOM, 2019).

Las paredes del colon/recto, del interior al exterior, incluyen (Figura 4):

- El revestimiento interno (mucosa), que incluye una capa muscular delgada (muscularis mucosae).
- Una capa de tejido fibroso (submucosa).
- Una capa muscular gruesa (muscularis propia).
- Las capas delgadas más externas de tejido conectivo (la subserosa y la serosa) que cubren la mayor parte del colon, pero no del recto.



**Figura 4. Capas de la pared del colon** (*American Cancer Society, 2018*).

Por lo que respecta al CCR, el tumor infiltra las distintas capas del colon/recto, desde mucosa a peritoneo, invadiendo con el tiempo los ganglios linfáticos y órganos próximos o más distantes.

### 2.2.2 INCIDENCIA/PREVALENCIA.

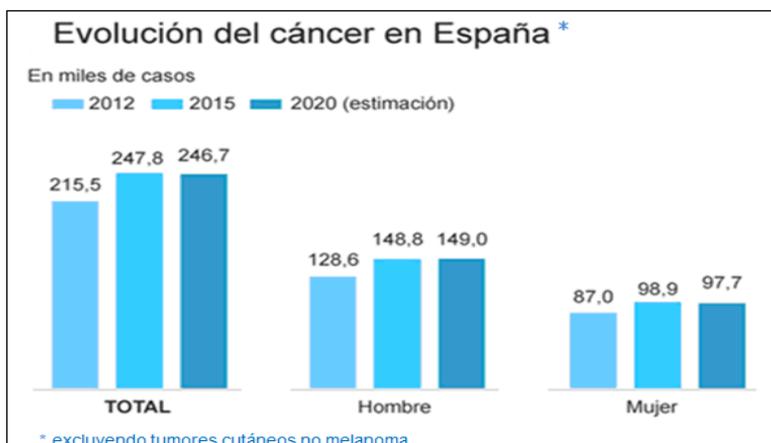
El CCR ocupa en los países occidentales el segundo lugar en incidencia (número de casos nuevos por 100.000 habitantes/año), detrás del cáncer de pulmón en el hombre y del cáncer de mama en la mujer; es una enfermedad muy prevalente en nuestro medio, suponiendo casi el 10% de la incidencia mundial anual de cáncer y la segunda causa de muerte por tumores en Europa occidental y Norteamérica. Los datos provienen del proyecto GLOBOCAN 2018, cuyo objetivo es proporcionar estimaciones contemporáneas de la incidencia, prevalencia y mortalidad de los principales tipos de cáncer de 185 países. La edad media de presentación es de 69-70

años y la mayoría de los pacientes tiene más de 50 años en el momento del diagnóstico, si bien se está apreciando un aumento de su incidencia en adultos jóvenes menores de 50 años (*Siegel et al., 2017*).

Afecta a hombres y mujeres casi por igual (*OMS, 2018*). En general, existe acuerdo en que la mayoría de los casos de CCR son esporádicos y no se asocian a ninguna mutación hereditaria conocida. La raza es también un factor que influye en la incidencia del CCR, siendo más elevada en personas de raza negra; además, los afroamericanos diagnosticados de CCR a una edad joven tienen índices de supervivencia significativamente peores que pacientes jóvenes blancos (*NIH 2018*). En términos generales, la incidencia y las tasas de mortalidad del CCR son mayores en países desarrollados.

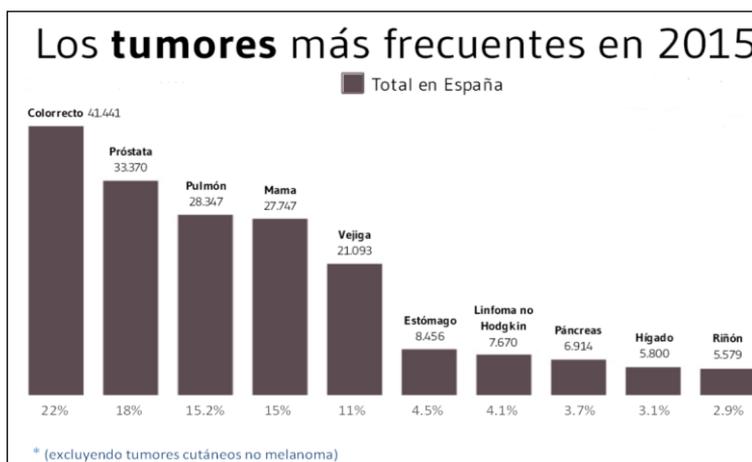
#### 2.2.2.1 Cifras en España.

En nuestro país, según el informe de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), que recoge las cifras de cáncer en España del año 2018, el número de tumores diagnosticados en el año 2019 alcanzará los 277.234 casos, superando ya los previstos para 2020 (246.700), en base a las estimaciones de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), en comparación con los 247.771 casos diagnosticados en el año 2015 (figura 5): 148.827 en varones y 98.944 en mujeres.



**Figura 5. Cifras de cáncer en España (SEOM, 2017).**

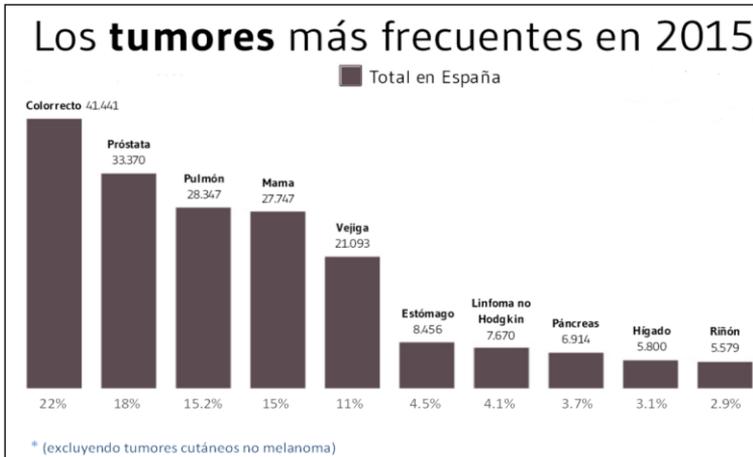
Los tumores más prevalentes en 2015 fueron el cáncer de colon, seguido del de próstata, pulmón, mama y vejiga (Figura 6).



**Figura 6. Cánceres más frecuentes en España en ambos sexos (SEOM, 2017).**

Por sexos, los tumores más frecuentemente diagnosticados en España en el año 2018 fueron en varones los cánceres de próstata,

CCR, vejiga, y pulmón; en mujeres fueron el de mama, CCR y útero (Figura 7):



**Figura 7. Prevalencia del cáncer en España en 2018 en hombres (A) y mujeres (B) (SEOM, 2019).**

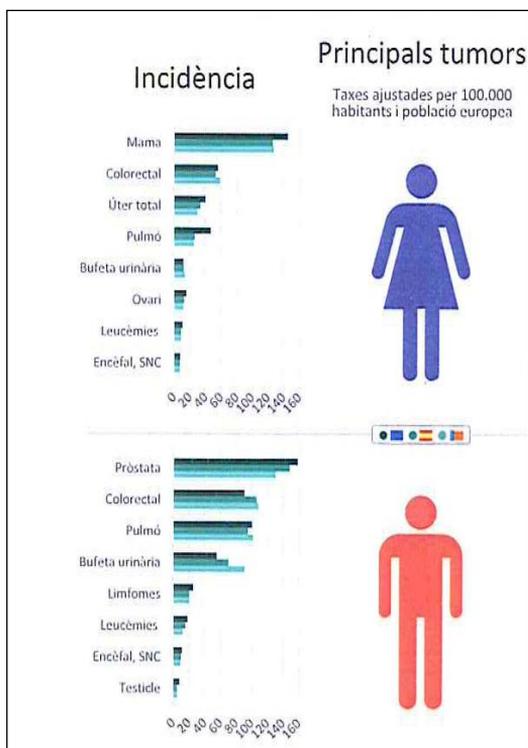
De entre los cánceres más prevalentes en España en 2018, el CCR representa el tercer tumor más frecuente cuando se consideran ambos sexos conjuntamente, suponiendo el 13,7% de todos los tumores, tras el cáncer de mama (16,8%) y el de próstata (13,8%). Por sexos ocupa la segunda posición, tras el cáncer de próstata en hombres y el de mama en mujeres (SEOM, 2019).

Como podemos apreciar, el cáncer afecta mayormente al sexo masculino (a uno de cada dos hombres y a una de cada tres mujeres), ocupando el CCR el tercer lugar en incidencia global y segundo por sexos.

### 2.2.2.2 Cifras en la Comunidad Valenciana.

En nuestra Comunidad, y según datos de la Dirección General de Salud Pública de 2018 correspondientes a 2015, de los 25.838

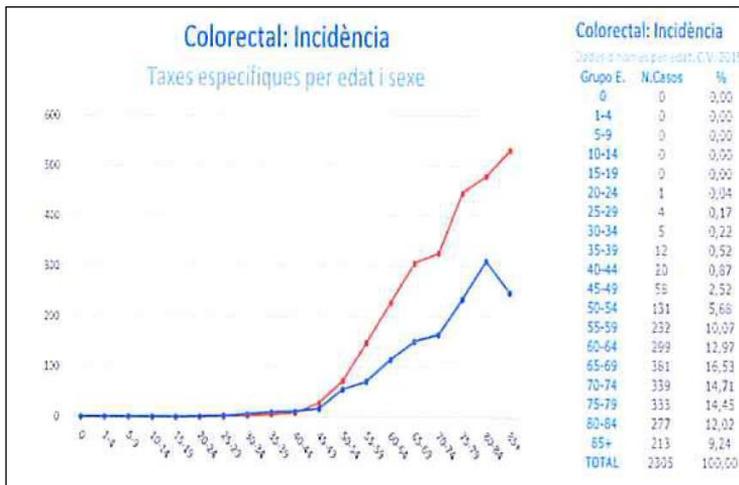
casos de cáncer registrados, el CCR supuso 3.864 casos (15%), ocupando el segundo lugar en ambos sexos, tras el cáncer de próstata y el de mama (Figura 8).



**Figura 8. Incidencia de los principales tumores en la Comunidad Valenciana por sexos en 2015** (Dirección General de Salud Pública, 2018).

Por sexos, el CCR afectó a 2.305 varones y a 1.559 mujeres (59,7% y 40,3%). La mediana de edad de aparición fue similar, de 69,3 años en el varón y de 70,5 en la mujer.

La gráfica de incidencia por edades se dispara en ambos sexos a partir de los 50 años, si bien en las mujeres sufre un descenso a partir de los 84 años (Figura 9):

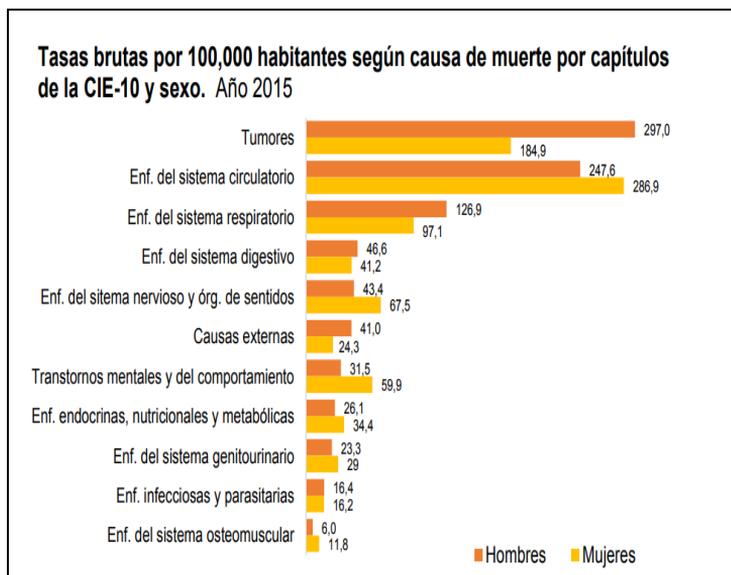


**Figura 9. Incidencia del cáncer colorrectal por edad y sexo en la Comunidad Valenciana en 2015.** Varones en rojo y mujeres en azul (*Dirección General de Salud Pública, 2018*).

## 2.2.3 MORTALIDAD.

### 2.2.3.1 Cifras en España.

Según el Instituto Nacional de Estadística (*INE, 2017*), los tumores fueron la segunda causa de muerte tras las enfermedades del aparato circulatorio (Figura 10).



**Figura 10. Tasa bruta de mortalidad en España según causa de muerte en 2015 (INE, 2017).**

Por sexos, los tumores fueron la primera causa de muerte en los hombres (con una tasa de 297,0 fallecidos/100.000 habitantes) y la segunda en mujeres (con 184,9/100.000 habitantes) tras las enfermedades del sistema circulatorio.

Por tipo de tumor, el de mayor mortalidad globalmente en España es el de pulmón, seguido del CCR, y a gran distancia los de páncreas y mama (Figura 11); el cáncer de pulmón es un tumor muy frecuente; sin embargo, debido a su alta mortalidad, su prevalencia a los 5 años es relativamente baja.

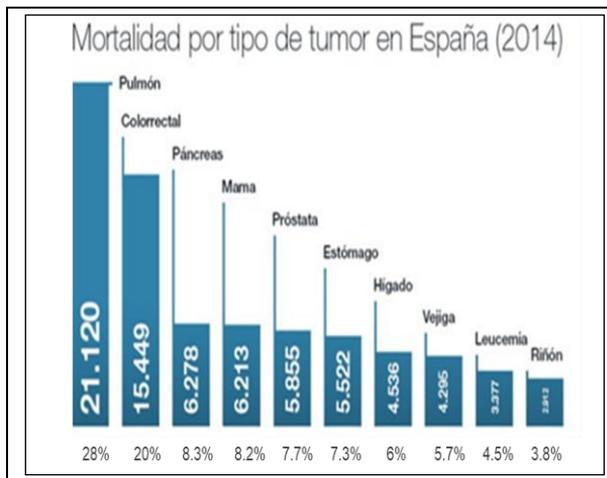


Figura 11. Mortalidad en España por tipo de tumor (SEOM 2017).

Por sexos (Figura 12), el CCR también ocupa el segundo puesto como causa de muerte, tras el de pulmón en varones y el de mama en mujeres (SEOM, 2017).

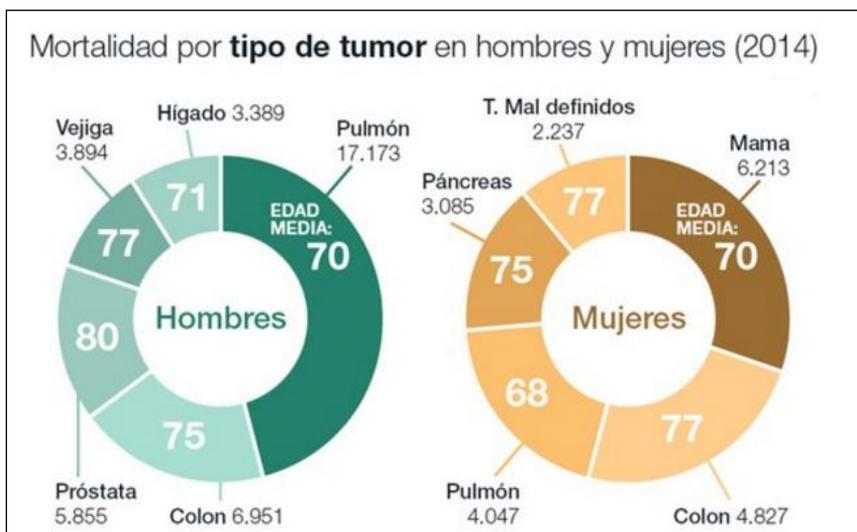
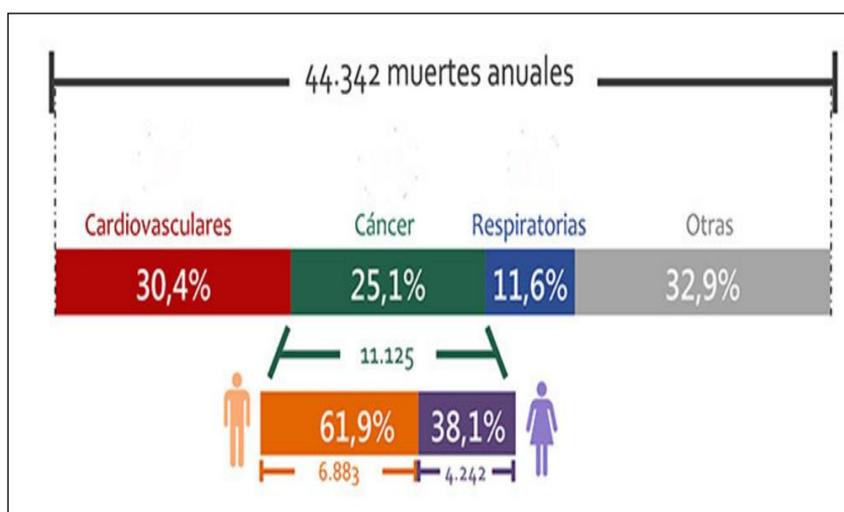


Figura 12. Mortalidad en España por tipo de tumor y sexo (SEOM 2017).

Aunque de forma ligera, la supervivencia de los pacientes afectados de CCR ha mejorado en los últimos años en España; en los pacientes diagnosticados durante el periodo 2000-2007, la supervivencia relativa a los 5 años fue de 56,10%, siendo la estandarizada por edad de 56,4% en hombres y de 55,8% en mujeres. Estos resultados proceden del EURO CARE-5: estudio observacional retrospectivo de supervivencia por cáncer en Europa, de 1999 a 2007, por país y edad (*De Angelis et al., 2014*).

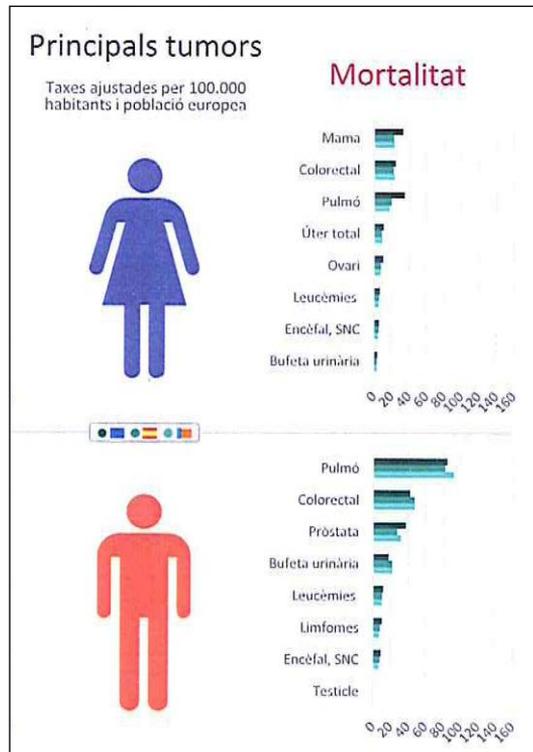
### 2.2.3.2 Cifras en la Comunidad Valenciana.

Según datos de la DGSP de 2018, referidos a 2015, de un total de 44.342 muertes anuales en nuestra Comunidad, el cáncer fue la segunda causa de muerte con 11.125 casos (25,1%) tras los accidentes cardiovasculares (30,4%), siendo el 61,9% de los afectados varones y el restante 38,1% mujeres (Figura 13).



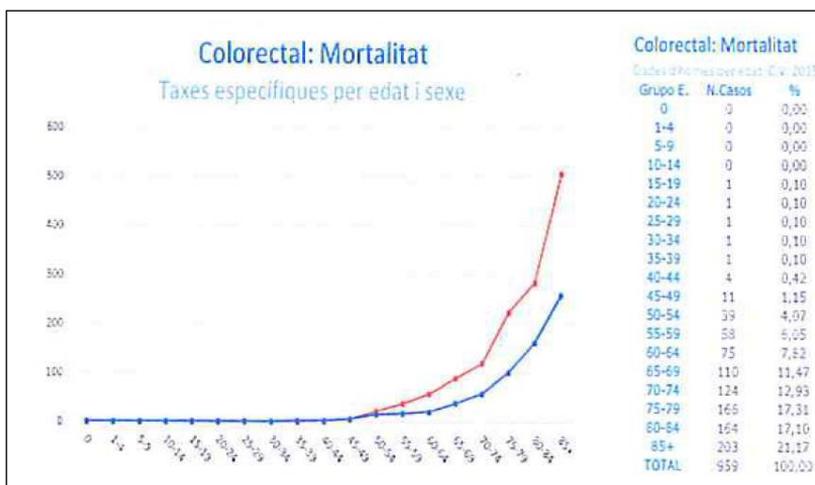
**Figura 13. Causas de muerte en la Comunidad Valenciana en 2015**  
(Dirección General de Salud Pública, 2018).

Por lo que respecta al CCR, supone la segunda causa también de muerte, tras el cáncer de pulmón en el varón y el de mama en la mujer (Figura 14):



**Figura 14. Mortalidad por los principales tumores en ambos sexos en la Comunidad Valenciana en 2015**  
(Dirección General de Salud Pública, 2018).

Al observar las tasas de mortalidad por edad y sexo, podemos apreciar un notable incremento a partir de los 50 años en varones y de los 60 en mujeres (Figura 15).



**Figura 15. Tasas de mortalidad por edad y sexo en la Comunidad Valenciana 2015.** Varones en rojo y mujeres en azul (*Dirección General de Salud Pública, 2018*).

En nuestra Comunidad se estima una pérdida de años potenciales de vida del 10% en el varón y del 8% en la mujer (*DGSP, 2018*).

Por todo ello, el aumento de la prevalencia en la actualidad del CCR en países desarrollados constituye un problema de Salud Pública. Su incidencia aumenta con la edad, sobre todo después de los 50 años, y predomina en el género masculino.

## 2.2.4 HISTOLOGÍA.

### 2.2.4.1 Lesiones premalignas.

La mayoría de cánceres colorrectales proceden de un pólipo adenomatoso epitelial benigno (adenoma) malignizado. Los adenomas son los tumores benignos más frecuentes del intestino, la mayoría de los cuales se localizan en colon y recto. Un pólipo adenomatoso tarda unos 2-3 años en hacerse mayor de 1 cm y unos

7-10 años en hacerse un cáncer invasivo (*Garrido Botella y Garrido Gómez, 2007*).

También existen pólipos no neoplásicos, como los hamartomatosos (pólipo juvenil o pólipo de Peutz-Jeghers), inflamatorios (pólipo linfoide benigno) e hiperplásicos. No suelen ser malignos, aunque pueden muy ocasionalmente desarrollar cáncer, pero siempre ocurre sobre una transformación adenomatosa previa, parcial o total, siendo esta parte la que degenera (*Arévalo et al., 2012; Garrido Botella y Garrido Gómez, 2007*).

Histológicamente, los pólipos adenomatosos o neoplásicos epiteliales pueden ser tubulares, vellosos (con más del 50% de componente vellosos), tubulo-vellosos o mixtos (del 25% al 50% de componente vellosos) y serrados (*OncoSur, 2009*).

El tipo de pólipo más común es el tubular, constituyendo hasta el 87% de los pólipos resecaados, seguidos de los tubulo-vellosos (8%) y sólo el 5% son vellosos (*Mahmoud et al., 2007*). Diferentes estudios han demostrado que el potencial de degeneración está relacionado con el tamaño, la proporción de componente vellosos y el grado de displasia, de tal manera que se considera que tienen mayor riesgo de malignización los polipos mayores de 1 cm, con displasia de alto grado y componente vellosos, así como la presencia de múltiples pólipos. También indican alta probabilidad de malignidad la visión endoscópica de lesión no pediculada (plana o ulcerada) y contornos irregulares o deformados (*Mahmoud et al., 2007*).

#### 2.2.4.2 Lesiones malignas.

Los tumores malignos colorrectales pueden originarse en

cada una de las tres capas: mucosa, muscular y serosa.

Desde el punto de vista histológico, podemos clasificar los tumores de colon y recto en epiteliales y no epiteliales (*IARC, 2018*):

#### 2.2.4.2.1 *Tumores epiteliales (carcinomas).*

La clasificación de los tipos histopatológicos sustentada por el American Joint Committee on Cancer (*AJCC, 2010*) es aplicable solamente a los carcinomas:

- Adenocarcinoma: se origina en las glándulas de la mucosa y es el tipo histológico más frecuente con diferencia (más del 95%).
- Carcinoma mucinoso (tipo coloide): más del 50% de la lesión está formada por lagos de mucina extracelular, que contienen epitelio maligno formando acinos, tiras epiteliales o células sueltas.
- Carcinoma de células en anillo de sello de Signet: más del 50% de las células neoplásicas muestran abundante mucina intracelular (que empuja al núcleo a la periferia, dando esta morfología típica), independientemente de que pueda también haber lagos de mucina extracelular.
- Carcinoma adenoescamoso: posee características de carcinoma epidermoide y de adenocarcinoma, bien en áreas separadas del mismo tumor o bien entremezcladas. Se requiere más de un foco ocasional de diferenciación escamosa.
- Carcinoma de células espinosas (epidermoide): raro. No debe haber contigüidad con ninguna estructura revestida de epitelio escamoso.
- Carcinoma medular.

- Carcinoma de células pequeñas.
- Carcinoma indiferenciado: tumor maligno epitelial sin ninguna evidencia de diferenciación más allá de la propiamente epitelial (sin diferenciación glandular, escamosa, ni neuroendocrina).
- Carcinoma NOS (*not otherwise specified*), no especificado de otro modo.

#### 2.2.4.2.2 Tumores no epiteliales.

Comprenden otros tipos histológicos como sarcoma, linfoma, tumor carcinoide, lipoma, melanoma, leiomioma, hemangioma, leiomiosarcoma, angiosarcoma, neurofibromas y tumores del estroma mesenquimatoso o GIST (*Gastrointestinal Stromal Tumor*). Estos GIST son los tumores mesenquimales más frecuentes del tracto gastro-intestinal (*Ramos Socarrás et al, 2014*).

Son tumores menos frecuentes y diferentes del CCR y por tanto, su tratamiento, también difiere (*SEOM, 2018*).

#### 2.2.5 NEOPLASIAS MALIGNAS MÚLTIPLES.

Se denomina así a la presencia de dos o más tumores malignos distintos, que se generan en el mismo paciente. Se ha de cumplir que:

- Los tumores diagnosticados sean de naturaleza maligna.
- Sean histológicamente distintos.
- Uno no sea metástasis del otro.

Desde el punto de vista de su aparición en el tiempo, se distinguen las neoplasias primarias, las sincrónicas y las metacrónicas. Se entiende por neoplasia sincrónica a la

diagnosticada al mismo tiempo que la neoplasia primaria o índice y metacrónica aquella que aparece tras el diagnóstico de la neoplasia índice; pero no hay una unanimidad de criterios en el intervalo de tiempo entre el diagnóstico del cáncer índice y el de la segunda neoplasia, variando notablemente de unos autores a otros, entre 6 meses y 1 a 3 años, ya que en intervalos menores el porcentaje de neoplasias sincrónicas que han pasado desapercibidas puede ser elevado (*Cuquerella, 2000; Pajares y Perea, 2015*).

## 2.2.6 PRONÓSTICO.

### 2.2.6.1 Afectación de la pared.

El grado de invasión tumoral de la pared es el factor más importante en la estadificación del CCR, ya que es el principal factor pronóstico del mismo. Con el objetivo de establecer grupos basados en las características histopatológicas de los tumores y con ello hacer una aproximación pronóstica, se han ido realizando distintas clasificaciones a lo largo de la historia. En un principio, el sistema de clasificación utilizado era el elaborado por Dukes en 1932, modificado posteriormente por Astler-Coller y por otros autores a lo largo de los años.

En esta clasificación se utilizan las letras que van desde la A hasta la C:

- Estadio A: lesión limitada a la mucosa, sin afectación ganglionar.
- Estadio B1: el tumor afecta a parte de la pared del colon, sin atravesarla ni afectar a ganglios.

- Estadio B2: afecta a toda la pared del colon, sin invasión ganglionar.
- Estadio B3: afecta a toda la pared del colon e infiltra órganos vecinos, sin afectación ganglionar.
- Estadio C1: la enfermedad puede afectar a parte de la pared del colon, con afectación de 4 o más ganglios regionales, o a toda la pared, con afectación de 1 a 3 ganglios.
- Estadio C2: afecta a toda la pared del colon y existe afectación de 4 o más ganglios.
- Estadio C3: el tumor invade órganos adyacentes y existen adenopatías ganglionares regionales.

Posteriormente, *Turnbull et al. (1968)* para estadificar la diseminación a distancia introdujeron para el cáncer del colon un grado D, que incluye las metástasis alejadas y la invasión de órganos adyacentes.

Pero la clasificación más ampliamente utilizada es la elaborada por el American Joint Committee on Cancer (*AJCC*) y la International Union Against Cancer (*UICC*), el conocido sistema TNM, que se basa en el grado de invasión de la pared (T), el número de ganglios afectados (N) y la presencia de metástasis (M), aplicable sólo a los carcinomas. En la siguiente tabla se puede observar la correspondencia entre ambas clasificaciones.

ANATOMIC STAGE/PROGNOSTIC GROUPS					
Stage	T	N	M	Dukes*	MAC*
0	Tis	N0	M0	–	–
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1–T2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3–T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2–T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1–T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3–T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1–N2	M0	C	C3
IVA	Any T	Any N	M1a	–	–
IVB	Any T	Any N	M1b	–	–

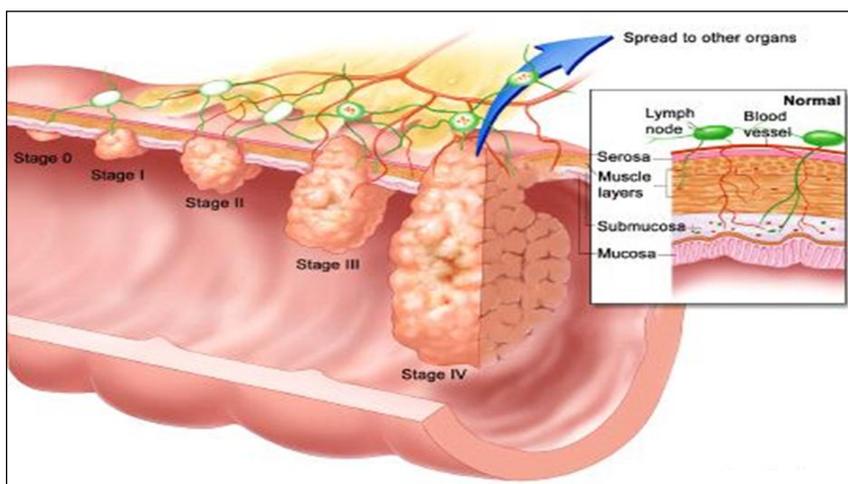
**Tabla 1. Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la American Joint Committee on Cancer 2010.** MAC\*: clasificación de Astler-Coller modificada (AJCC, 2010).

En la actualidad ha sido añadido en la octava edición de la AJCC y la UICC un nuevo grupo al estadio IV, el IVC (AJCC, 2018) o carcinomatosis peritoneal, cuando el tumor se ha propagado a partes distantes del peritoneo (M1c), se haya propagado o no a órganos o ganglios linfáticos distantes. También considera como metástasis tumorales las micrometástasis (nidos celulares menores de 0,2 mm), detectables por inmunohistoquímica (Tabla 2):

Estadio	Descripción		
0	T0 o Tis	N0	M0
I	T1 o T2	N0	M0
IIA	T3		
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b		
IIIA	T1 o T2	N1/N1c	
	T1	N2a	
	T3 o T4a	N1/N1c	
IIIB	T2 o T3	N2a	M0
	T1 o T2	N2b	
	T4a	N2a	
IIIC	T3 o T4a	N2b	
	T4b	N1 o N2	
IVA			M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b
IVC			M1c

**Tabla 2. Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la American Joint Committee on Cancer 2018 (AJCC, 2018).**

De este modo, los estadios serían (Figura 16):



**Figura 16. Etapas evolutivas del cáncer colorrectal (Muñoz Barabino y Sánchez García, 2010).**

- Estadio 0: es la fase más precoz. No hay evidencia de tumor primario (T0), o bien existe una lesión premaligna o un carcinoma in situ (Tis). Las células tumorales se encuentran en la parte más superficial de la mucosa del colon/recto, sin traspasarla. No afecta a ganglios linfáticos (N0, M0).

- Estadio I: el tumor afecta a la mucosa hasta la submucosa (T1), o puede haber crecido hasta la muscularis propia (T2). No se ha propagado a los ganglios linfáticos adyacentes (N0), ni a distancia (M0).

- Estadio II: el tumor ha crecido hacia las capas más externas del colon/recto. Se subdivide en:

- IIA, cuando no ha atravesado todas las capas (T3).
- IIB, si ha crecido a través de la pared del colon o del recto, pero no ha crecido hacia otros tejidos u órganos adyacentes (T4a);
- IIC, cuando crece hacia otros tejidos u órganos adyacentes (T4b). No existe afectación ganglionar (N0) ni metástasis a distancia (M0).

- Estadio III: en función de la invasión de la pared y del número de ganglios afectados se subdivide en:

- IIIA: El cáncer ha crecido a través de la mucosa hasta la submucosa (T1) o la muscular propia (T2). Se propagó a 1-3 ganglios linfáticos adyacentes (N1) o hacia áreas de grasa cercanas a los ganglios linfáticos, pero no a los ganglios en sí (N1c). O bien el cáncer ha atravesado la mucosa hasta la submucosa (T1) y ha afectado a 4-6 ganglios linfáticos cercanos (N2a). No se ha propagado a distancia (M0).

- IIIB: El tumor ha crecido hacia la muscular propia (T2) o hacia las capas más externas del colon/recto (T3) y están afectados 4-6 ganglios linfáticos cercanos (N2a). O el cáncer ha crecido hasta la submucosa (T1) o hasta la muscular propia (T2), propagándose a 7 o más ganglios linfáticos adyacentes (N2b). No se ha propagado a sitios distantes (M0).

- IIIC: El cáncer ha crecido a través de la pared del colon/recto (incluyendo el peritoneo visceral), pero no ha alcanzado los órganos adyacentes (T4a), afectando a 4-6 ganglios linfáticos cercanos (N2a). O ha crecido hacia las capas más externas del colon/recto (T3), o a través del peritoneo visceral (T4a), pero no ha alcanzado los órganos adyacentes, propagándose a 7 o más ganglios linfáticos adyacentes (N2b). O ha crecido a través de la pared del colon/recto y crece hacia otros tejidos u órganos adyacentes (T4b) y se propagó al menos a un ganglio linfático cercano o hacia áreas de grasa cercanas a los ganglios linfáticos (N1 o N2).

No hay propagación a sitios distantes (M0).

- Estadio IV: el tumor pudo o no haber crecido a través de la pared del colon o del recto (cualquier T), y podría o no haberse propagado a los ganglios linfáticos adyacentes (cualquier N). Se subdivide en:

- IVA: el tumor se propagó a un órgano distante (tal como el hígado o el pulmón) o a un grupo de ganglios linfáticos distantes, pero no se ha propagado a partes distantes del peritoneo (M1a).

- IVB: el cáncer se propagó a más de un órgano distante o a

un grupo de ganglios linfáticos distantes, pero no se ha propagado a partes distantes del peritoneo (M1b).

- IVC: puede o no haberse propagado a órganos o a ganglios linfáticos distantes, pero se ha propagado a partes distantes del peritoneo (M1c) (*American Cancer Society, 2018*).

La clasificación de la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer, en colaboración con la OMS (Tabla 3), añade en los estadios los Tx, Nx y Mx cuando las afectaciones no pueden ser evaluadas (*IARC, 2018*).

<b>TNM classification of tumours of the colon and rectum</b>			
<b>TNM classification<sup>1,2</sup></b>			
<b>T – Primary Tumour</b>		<b>M – Distant Metastasis</b>	
TX	Primary tumour cannot be assessed	MX	Distant metastasis cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour	M0	No distant metastasis
Tis	Carcinoma in situ: intraepithelial or invasion of lamina propria <sup>3</sup>	M1	Distant metastasis
T1	Tumour invades submucosa	<b>Stage Grouping</b>	
T2	Tumour invades muscularis propria		
T3	Tumour invades through muscularis propria into subserosa or into non-peritonealized pericolic or perirectal tissues		
T4	Tumour directly invades other organs or structures <sup>4</sup> and/or perforates visceral peritoneum		
N – Regional Lymph Nodes			
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed	Stage 0	Tis    N0    M0
N0	No regional lymph node metastasis	Stage I	T1    N0    M0
N1	Metastasis in 1 to 3 regional lymph nodes		T2    N0    M0
N2	Metastasis in 4 or more regional lymph nodes	Stage II	T3    N0    M0
			T4    N0    M0
		Stage III	Any T    N1    M0
			Any T    N2    M0
		Stage IV	Any T    Any N    M1

**Tabla 3. Clasificación TNM para carcinomas de colon y recto de la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC 2018).**

Es de suma importancia la exactitud de la estadificación clínica porque de ella dependerá el manejo y pronóstico de los pacientes, no sólo de la técnica quirúrgica a realizar, sino también a la hora de decidir la necesidad o no de tratamiento neoadyuvante con quimioterapia y/o radioterapia.

Los tumores que no alcanzan la serosa (T1 y T2) se consideran lesiones tempranas con buen pronóstico, potencialmente curables con una adecuada resección; algunos autores describen un riesgo de afectación linfática del 13-14% en T1 y un 17-18% en T2 (*Fang et al., 2005*).

Los datos de la *American Cancer Society (2018)* provienen de la base de datos SEER (*Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*) del Instituto Nacional del Cáncer, que examinó a las personas diagnosticadas de CCR entre 2004 y 2010. Separó la tasa de supervivencia relativa (comparada con población general) a 5 años para las personas con cáncer de colon de las de cáncer de recto:

- en estadio I: 92 % (colon) y 87% (recto).
- en estadio IIA: 87% (colon) y 80% (recto).
- en estadio IIB: 63% (colon) y 49% (recto).
- en estadio IIIA: 89% (colon) y 84% (recto).
- en estadio IIIB: 69% (colon) y 71% (recto).
- en estadio IIIC: 53% (colon) y 58% (recto).
- en estadio IV: 11% (colon) y 12% (recto).

Estas estadísticas se basan en una versión anterior del sistema de estadificación del TNM en la cual no había estadio IIC (esos cánceres se consideraban estadio IIB). Además, algunos cánceres que ahora se consideran estadio IIIC fueron clasificados como estadio IIIB, mientras que otros cánceres que ahora se consideran en estadio IIIB fueron clasificados como estadio IIIC.

En la actualidad, la base de datos SEER agrupa la supervivencia

a 5 años, en:

Tumores localizados (I-IIB): 90% (colon) y 89% (recto).

Tumores regionales (IIC-III): 71% (colon) y 70% (recto).

Tumores distantes (IV): 14% (colon) y 15% (recto).

#### 2.2.6.2 Afectación ganglionar.

El segundo factor pronóstico del CCR, después del grado de invasión de la pared, es la presencia de invasión ganglionar, produciéndose importante caída de supervivencia entre los estadios B (N0) y C (N1) de Dukes.

En los últimos años se ha estudiado la presencia de micrometástasis ganglionares (de 0,2 a 2 mm de diámetro) como factor pronóstico. Esta teoría comienza a plantearse al observar que pacientes con ganglios negativos, y por tanto en un principio no subsidiarios de quimioterapia, presentan una recurrencia locorregional (afectación de la pared y de ganglios linfáticos) y/o a distancia del 10% en estadio I y del 15-30% en estadio II; se empiezan así a realizar análisis de los ganglios negativos con técnicas inmunohistoquímicas, por adición de anticuerpos anti-citoqueratina, indicando presencia de células epiteliales en el interior del nódulo linfático y, por ende, su transformación neoplásica (*Uribarrena-Amezaga et al., 2010*). Pero estos autores no encuentran asociación entre micrometástasis y menor supervivencia, ni otros tampoco (*Oh et al., 2011*).

A partir de aquí se han hecho estudios en los que se apunta que la presencia de micrometástasis podría disminuir la supervivencia y el periodo libre de enfermedad, pero los datos no son concluyentes.

Así, actualmente se ha introducido un nuevo marcador de epitelio gástrico e intestinal, el “proline-histidine-glycine-rich1” (PHGR1) mRNA (*Oltedal et al., 2018*); utilizan la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) cuantitativa para medir sus niveles en ganglio centinela de pacientes afectados de CCR estadios I-III y en sujetos normales. Han encontrado niveles elevados en el 89% de pacientes con ganglios afectados (N+), pero también en el 48% de los pacientes sin invasión ganglionar (N0), sugiriendo la presencia de metástasis ocultas. Aunque han encontrado un periodo de recurrencia de la enfermedad más corto en los pacientes con ganglios afectados (factor pronóstico independiente), no ha sido así en el subgrupo N0.

El número de ganglios que debe incluir la pieza quirúrgica y que han de ser analizados para no clasificar al paciente por debajo del estadio correspondiente es controvertido; *Martínez-Ramos et al. (2008)* hacen una revisión de la literatura y encuentran un rango de entre 6 y 30 ganglios. En España, siguiendo las guías de las Sociedades Internacionales y la Guía Clínica de la Asociación Española de Cirujanos, la obtención de al menos 12 ganglios linfáticos es una exigencia para la estadificación adecuada del CCR. En cualquier caso, constituye un factor pronóstico independiente, de tal manera que parece una buena alternativa obtener la mayor cantidad posible de ganglios.

*Chin et al. (2009)* comparan el valor pronóstico del número de ganglios afectados (N1/N2) con el cociente entre número de ganglios afectados y número de ganglios examinados (LNR, de *Lymph Node*

*Ratio*) en estadio III de cáncer de colon; el periodo libre de enfermedad a los 5 años oscila entre 66,7%, 35,1 y 0% para LNRs <0,4, de 0,4-0,7 y >0,7, respectivamente. *Attaallah et al. (2013)* encuentran en el cáncer de recto estadio III un periodo libre de enfermedad de 2 años en el 95,2% de pacientes con una LNR <0,15, y del 67,6% cuando dicho ratio era >0,15.

Posteriormente, *Zare Mirzaei et al. (2015)*, estratifican pacientes con cáncer de colon en LNR1: 0-0,12%, LNR2: 0,13-0,40%, LNR3: 0,41-0,84% y LNR4: 0,85-1%; la tasa de supervivencia libre de enfermedad a los 5 años para los cuatro subgrupos de LNR fue de 52,6%, 42,9%, 17,6% y 18,8% respectivamente. El LNR fue mejor factor pronóstico que el estadio de los ganglios linfáticos, tanto en la supervivencia general como en la supervivencia libre de enfermedad.

No se ha definido un valor límite aceptable para el LNR, por lo que es necesario diseñar estudios para determinar un punto límite válido.

### 2.2.6.3 Infiltración linfovascular y perineural.

Se ha demostrado que la infiltración de vasos linfáticos por parte del tumor en la pared del colon/recto se asocia con un alto riesgo de metástasis linfáticas, constituyendo un factor pronóstico en los tumores iniciales.

La afectación perineural juega también un papel importante como factor pronóstico negativo de los tumores iniciales. Así, *Huh et al. (2010)* estudian pacientes con CCR en estadios T1 y T2 y encuentra que la presencia de invasión linfovascular o perineural fue

un predictor independiente de metástasis ganglionares ( $p < 0,001$  y  $p = 0,004$ , respectivamente). Posteriormente, *Nikberg et al. (2016)* estudian ambas infiltraciones en pacientes con cáncer rectal en estadio III y concluyen que éstos tienen un mayor riesgo de recurrencia y enfatizan la necesidad de evaluar adecuadamente la función de la quimioterapia adyuvante en estos subgrupos de enfermos. A las mismas conclusiones llegan *Al-Sukhni et al. (2017)* en un estudio de cohortes retrospectivo de 15.777 pacientes con CCR: la invasión linfovascular y perineural se asocia con pobres resultados.

#### 2.2.6.4 Grado de diferenciación.

Es el grado de similitud del tumor a la arquitectura normal del colon. Se establecen cuatro niveles:

- G 1: bien diferenciado.
- G 2: moderadamente diferenciado.
- G 3: pobremente diferenciado.
- G 4: indiferenciado.

Aunque es preferible aplicar el término “bajo grado” (G1-G2) y “alto grado” (G3-G4) de la OMS, porque alto y bajo grado se relacionan con resultados independientes de la estadificación TNM (*AJCC, 2010*).

El riesgo de afectación ganglionar también se relaciona significativamente con el grado de diferenciación tumoral. Un T2 de bajo grado (G1) tiene un riesgo del 17% de invasión de los ganglios linfáticos en comparación con un 44% para un T2 de alto grado (G4) (*Derwinger et al., 2010*).

El pronóstico se correlaciona con el grado de diferenciación, es decir, mayor riesgo de afectación, tanto locorregional como de metástasis a distancia, mayores tasas de recidiva y menor supervivencia, cuanto menor es la diferenciación. El grado histológico fue el único factor significativo que influyó en el tiempo de supervivencia después de la resección del CCR; los pacientes con adenocarcinoma pobremente diferenciado con frecuencia murieron de recurrencia dentro de los 3 años posteriores a la resección colorrectal (*Cho et al., 2009*).

#### 2.2.6.5 Márgenes del tumor.

La presencia de pequeños grupos o islotes de células tumorales indiferenciadas en el margen de invasión del tumor se asocia a mal pronóstico, correlacionando con invasión linfática y metástasis a distancia (*Morodomi et al., 1989; Tanaka et al., 2003*). Es el llamado “budding” tumoral, postulándose que representa una transición epitelial-mesenquimal del tumor. También se han hecho estudios del “budding” intratumoral (presencia de estos islotes en el interior del tumor), suponiendo también factor de mal pronóstico (*Lugli et al., 2011*).

La aparición de “budding” es un factor pronóstico adverso independiente en el CCR, que puede permitir la estratificación de los pacientes en categorías de riesgo más significativas que las definidas por la clasificación del TNM (*Mitrovic et al., 2012*). Los resultados de distintos estudios muestran una correlación entre la presencia de estos islotes e invasión ganglionar; además se asocia a invasión vascular, metástasis a distancia y alto riesgo de recurrencia

locorregional, por lo que indicaría necesidad de tratamiento adyuvante (*Liu et al., 2013; Labalde et al., 2014*).

En carcinomas colorrectales T1 es el predictor más fiable de afectación tumoral de ganglios linfáticos (*Lee et al., 2018*).

#### 2.2.6.6 Inestabilidad de microsatélites.

Los microsatélites (MS) son secuencias simples repetidas de ADN constituidas por unidades de 2 a 10 pb que se repiten en tándem un número variable de veces, dando lugar a alelos de diferentes tamaños; son muy polimórficos, con una elevada tasa de mutación. Aunque la longitud de los MS es muy variable de persona a persona, cada individuo tiene en todas sus células MS de una longitud determinada. Desempeñan un rol importante en la estabilización y el mantenimiento de la estructura cromosómica (*Aranguren-Méndez et al., 2005*).

La inestabilidad de microsatélites (IMS) se define como un cambio de cualquier longitud debido a inserción o eliminación de las unidades repetidas de un MS dentro de un tumor en comparación con el tejido normal. Ello conlleva la aparición de MS anormalmente más largos o cortos en el ADN y es causada por un fallo del sistema de reparación de errores durante la replicación del ADN, controlado por los genes MMR (“mismatch repair”), principalmente MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2. Como consecuencia tiene lugar una acumulación acelerada de mutaciones de un sólo nucleótido y alteraciones en la longitud de secuencias de MS simples y repetitivas, que se producen de forma ubicua en todo el genoma.

La IMS ocurre cuando la región promotora MLH1 es silenciada

por hipermetilación de las islas CpG, provocando su silenciamiento. Las islas CpG son regiones de ADN donde existe una gran concentración de pares de citosina y guanina enlazados por fosfatos, que conforman aproximadamente un 40% de los promotores de los genes de mamíferos. En la mayoría de los casos, la citosina en estas islas CpG está desmetilada, mientras que su metilación puede inhibir la expresión de un gen (*Rodríguez Dorantes et al., 2004*).

En base a un panel de cinco MS validados, los tumores se pueden caracterizar como tumores con IMS de alta frecuencia (IMS-H), si dos o más de los cinco marcadores muestran inestabilidad (es decir, tienen mutaciones de inserción/eliminación) e IMS de baja frecuencia (IMS-L) si sólo uno de los cinco marcadores muestra inestabilidad (*Boland et al., 1998*). Los tumores colorrectales IMS-H se encuentran predominantemente en el colon proximal, tienen características histopatológicas únicas y se asocian con un curso clínico menos agresivo que los IMS-L coincidentes en etapas. Numerosos estudios han determinado el valor pronóstico de los tumores con IMS. En enfermedad resecable (estadios II y III), su presencia confiere un mejor pronóstico (*Ogino et al., 2009*); está asociada con un aumento significativo de la supervivencia, independientemente de otros factores pronósticos, incluido el TNM; además, se reduce la probabilidad de aparición de metástasis, tanto en ganglios linfáticos como en órganos distantes (*Gryfe et al., 2000*). En cambio, la IMS en la enfermedad avanzada ha sido asociada a un peor pronóstico; además, estos pacientes no se benefician de los tratamientos quimioterápicos basados en terapias con 5-fluorouracilo

(Payá Romá et al., 2006; Bertagnolli et al., 2009).

Los tumores con IMS presentan un pronóstico ligeramente mejor y responden diferente a la quimioterapia que los tumores sin IMS (Boland y Goel, 2010); suelen localizarse en el colon proximal y son muy poco frecuentes en el recto (Hoogerbrugge et al., 2003). Son más frecuentes en los cánceres mucinosos (Messerini et al., 1997; Boland y Goel, 2010).

Más del 95% de los CCR que se producen en el síndrome de Lynch y un 10-15% de los CCR esporádicos presentan IMS (Jover y Payá, 2003; Morales y Peinado, 2006; Boland y Goel, 2010).

#### 2.2.6.7 Localización colon derecho (proximal)/izquierdo (distal).

En diversos estudios de seguimiento de hasta cinco años de un elevado número de pacientes con cancer de colon, en los que se analizaron las características del tumor según su localización en colon derecho o izquierdo, se han observado diferencias no sólo epidemiológicas, sino también clínicas e histológicas, que podrían ser causadas por diferencias genéticas que explicarían la distinta carcinogénesis y comportamiento biológico, siendo la supervivencia significativamente peor en pacientes con carcinomas del lado derecho; hay quien considera que se debería hablar de dos entidades distintas (Meguid et al., 2008; Benedix et al., 2010).

Un 70% de los tumores se originan en el colon izquierdo y un 30% en el colon derecho, siendo la sintomatología del lado izquierdo más precoz, y por tanto su detección (Gómez-España et al., 2019); con respecto a la histología, los tumores con mayor grado de diferenciación y menor estadificación son más prevalentes en el

colon izquierdo que en el derecho. De esta forma, la localización del tumor se considera un factor pronóstico (aunque en menor medida que otras variables), presentando una mayor supervivencia los situados en el colon izquierdo (*Lim et al., 2017*).

#### 2.2.6.8 Tamaño.

El tamaño tumoral constituye un factor pronóstico en el CCR, estando asociado con el grado de invasión de la pared y la afectación ganglionar. *Wolmark et al. (1984)* encontraron relación entre el grado de invasión en la pared y el tamaño tumoral; posteriormente también *Balta et al. (2014)* hallaron que la progresión del estadio tumoral se acompaña de un aumento de su diámetro horizontal. Mientras que la importancia pronóstica del tamaño tumoral es fuerte para cánceres de colon, parece ser de menor valor para los de recto (*Kornprat et al., 2011*).

Estudios como el de *Adachi et al. (1999)*, demostraron también mayor afectación ganglionar en tumores de más de 6 cm.

Otro punto importante es la relación entre el tamaño tumoral y el grado de diferenciación, encontrando un mayor tamaño en los tumores indiferenciados frente a los diferenciados (*Balta et al., 2014*).

#### 2.2.6.9 Marcadores tumorales (MT).

##### 2.2.6.9.1 Antígeno carcinoembrionario (CEA).

Aunque de poca utilidad en la detección temprana del CCR, las altas concentraciones preoperatorias de CEA se correlacionan con un pronóstico adverso (*Bannura et al., 2008*). Su elevación en sangre tras la resección quirúrgica del tumor sugiere recidiva

tumoral, por lo que su aumento obliga a descartarla. En una revisión se concluye que mediciones seriadas pueden detectar la recurrencia con una sensibilidad de aproximadamente el 80% y una especificidad cercana al 70%, pero su uso es limitado en enfermedad temprana (*Duffy, 2001*).

Para *López et al. (2005)*, la aplicación más útil del CEA es en la detección de metástasis hepáticas de CCR.

Fijar un punto de corte es importante, ya que si es bajo aumentará la sensibilidad, pero también causará alarmas innecesarias al clasificar incorrectamente demasiados casos que en realidad no presentan recidiva (falsos positivos). Además, el CEA no aumenta en hasta el 20% de los pacientes con una verdadera recidiva (falsos negativos). Las pruebas actuales apoyan el uso de los puntos de corte más altos (10, en lugar de 5 ng/mL), pero que es necesario agregar otras formas de diagnóstico para evitar la pérdida de casos (*CCCG, 2015*).

#### 2.2.6.9.2 Antígeno carbohidrato (CA) 19.9.

Aunque el CEA es el marcador habitualmente usado en pacientes con CCR, el CA 19.9 o antígeno sializado de Lewis (a) puede ser usado como marcador adicional, ya que su determinación conjunta aumenta la sensibilidad en la detección del CCR (*Filella et al., 1992*). Los pacientes con CCR con niveles elevados tanto de CEA como de CA 19.9 tienen un pronóstico significativamente peor que aquellos con niveles normales de estos MT (*Basbug et al., 2011*).

Pero, dado que no en todos los casos de CCR se produce

aumento del CEA, lo que ocurre en el 7,3% (*Stiksmá et al., 2014*) y en el 6,5% (*Zhang et al., 2015*) de casos de CCR estudiados, respectivamente, se hace necesaria la determinación de CA 19.9.

## 2.2.7 ETIOLOGÍA.

### 2.2.7.1 TIPOS DE CÁNCER COLORRECTAL.

El riesgo de desarrollar este tumor en la población general se sitúa en el 5-6%, pero aumenta exponencialmente con la edad. Se estima que entre un 20-30% de los casos tendrían una base genética (hereditaria o agrupación familiar) y que alrededor del 70-80% serían debidos fundamentalmente a factores ambientales (dieta, estilo de vida, etc...). La mayoría de los casos de CCR son diagnosticados entre los 65-70 años y suelen corresponderse con casos de CCR esporádico. Los casos diagnosticados a edades más tempranas (por debajo de 50 años) suelen corresponder a casos familiares o hereditarios; son la minoría de los casos y se diagnostican a edades comprendidas entre 35 y 40 años.

El CCR se puede clasificar en tres tipos atendiendo a su forma de transmisión y a la participación de genes y ambiente en su desarrollo:

#### 2.2.7.1.1 Hereditario.

Es la forma menos común de CCR. Supone aproximadamente un 3-5% de los CCR y es definido por una historia familiar de CCR, que ocurre con un patrón que indica herencia autosómica dominante (aunque también se describen casos con herencia autosómica recesiva) y que también puede asociar ciertos signos fenotípicos

como abundantes pólipos adenomatosos, lesiones extracolónicas benignas y malignas, cáncer de inicio temprano, y múltiples cánceres primarios, particularmente CCR sincrónico y metacrónico (*Lynch et al., 1992*).

Las formas hereditarias de CCR más conocidas son la Poliposis Adenomatosa Familiar (FAP, 1%) y el Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico (HNPCC) o Síndrome de Lynch (3-5%).

2.2.7.1.1.1 Cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC) o Síndrome de Lynch.

Es el tipo más común de CCR heredado; el carcinoma de colon se caracteriza por aparecer a una edad temprana, localizarse en el colon derecho y presentar una mayor frecuencia de tumores sincrónicos o metacrónicos. Otros cánceres asociados son los de ovario, endometrio, estómago, intestino delgado, páncreas, riñón, encéfalo y uréter.

No suelen coexistir pólipos, a diferencia de otras entidades; es autosómica dominante y causado por cambios en los genes reparadores del ADN dañado MLH1 (3p), MSH2 (2p), MSH6 (2p), PMS1 (2q) y PMS2 (7p), con una frecuencia de IMS del 90% (*Wielandt et al., 2012*).

Se deben derivar a consejo genético a todos los pacientes o familiares que cumplan alguno de los criterios de Bethesda (*SEOM 2017*):

- un CCR diagnosticado antes de los 50 años.
- un cáncer de colon sincrónico o metacrónico.
- un caso de CCR y la presencia de otro tumor relacionado

con el síndrome de Lynch.

- un CCR y un familiar de primer grado con un tumor asociado al síndrome de Lynch antes de los 50 años.
- un CCR y dos familiares de primero o segundo grado con un tumor asociado al síndrome de Lynch (independientemente de la edad).

Variantes:

- Síndrome de Muir Torre: se asocia a un mayor riesgo de determinados tumores cutáneos.

- Síndrome de Turcot tipo 1: enfermedad autosómica recesiva ocasionada por mutaciones en los genes reparadores de errores MLH1 y PMS2; se asocia a determinados tumores cerebrales, como glioblastoma (*Iza et al., 2006*).

#### 2.2.7.1.1.2 Poliposis adenomatosa familiar (FAP).

Es una enfermedad rara, también autosómica dominante, caracterizada por la presencia de pólipos adenomatosos múltiples en colon y recto (más de 100), así como también en intestino delgado. Es causada por cambios en el gen supresor de tumores APC (*Adenomatous Polyposis Coli*), en el cromosoma 5q. La presentación preferente del CCR es en colon izquierdo, suponiendo un 1% del total. Variantes:

- Síndrome de Turcot tipo 2: enfermedad autosómica dominante ocasionada por mutaciones en el gen APC.

- Síndrome de Gardner: múltiples pólipos en el colon que se asocian a quistes epidérmicos, tumores desmoides, fibromas, osteomas y carcinoma papilar de tiroides.

#### 2.2.7.1.1.3 Síndrome de Peutz-Jeghers.

Tienden a presentar pecas alrededor de la boca (y algunas veces en las manos y los pies) y un tipo especial de pólipo en el tracto digestivo, el hamartoma, proliferación de células diferenciadas maduras que son nativas del órgano en que se desarrolla, pero que se disponen y crecen de manera desorganizada, alcanzando en ocasiones gran tamaño. Adoptan la forma de un nódulo semejante a un tumor benigno, aunque se consideran una malformación y no un tumor. Es causado por mutaciones en el gen STK11 (19p). Es autosómica dominante.

#### 2.2.7.1.1.4 Poliposis MAP o poliposis relacionada con MUTYH.

Además de en colon, también tienen un riesgo aumentado de cánceres de intestino delgado, piel, ovario y vejiga. Es causado por mutaciones en el gen reparador MYH o MUTYH, localizado en 1p. Es autosómica recesiva. Los pólipos no aparecen hasta la edad adulta y son menos numerosos que los que se encuentran en pacientes con mutaciones del gen APC (*American Cancer Society, 2018*).

#### 2.2.7.1.1.5 Síndrome de poliposis juvenil (JPS).

Es una enfermedad rara, caracterizada por la presencia de pólipos hamartomatosos juveniles en el tracto gastrointestinal. La incidencia anual se estima entre 1/100.000 y 1/150.000. Los pólipos pueden desarrollarse a cualquier edad desde la infancia hasta la edad adulta, si bien la mayoría de individuos afectados se halla en la adolescencia o al principio de la edad adulta. El diagnóstico se hace

en base a uno o varios de los siguientes hallazgos: presencia de más de cinco pólipos en colon y/o recto; presencia de pólipos a lo largo del tracto digestivo, incluido el estómago y presencia de cualquier número de pólipos juveniles en asociación con una historia familiar de JPS (*Cáncer.net, 2018*).

#### 2.2.7.1.2 Familiar.

El CCR familiar ocurre cuando al menos un familiar de primer grado tiene CCR; constituye alrededor del 15-20% de los casos. La aparición suele ser en mayores de 50 años y existe agregación familiar de CCR u otro tipo de tumores en más miembros de la familia de lo que correspondería por azar. A diferencia de las formas hereditarias de CCR, causadas por mutaciones en un único gen y patrón de herencia mendeliana (correspondiendo a alelos poco frecuentes, pero con una alta penetrancia), en el CCR familiar los alelos implicados son más comunes y con una penetrancia menor, por lo que se postula que es la acción combinada de diversas variantes génicas la que contribuye al riesgo de desarrollar esta enfermedad. Serán los factores ambientales probablemente los que determinen quiénes de los individuos predispuestos genéticamente desarrollarán CCR. A este tipo de modelo se lo conoce como herencia poligénica e implica la interacción de múltiples variantes alélicas, cada una ligada a un riesgo bajo-moderado de CCR. El componente ambiental desempeña un papel importante porque los miembros de una misma familia comparten hábitos dietéticos y estilos de vida parecidos (*Adán et al., 2010*). Por ello, se considera que los cánceres que “vienen de familia” pueden deberse a genes

heredados, a que se comparten factores ambientales o a cierta combinación de estos factores (*American Cancer Society, 2018*).

#### 2.2.7.1.3 Esporádico.

Agrupar la mayor parte de los CCR (75-80%) y ocurre en ausencia de familiar de primer grado afecto, ni existencia de historia familiar de CCR.

#### 2.2.7.2 FACTORES DE RIESGO.

Si bien no es posible saber con certeza por qué unas personas padecen cáncer y otras no, ciertos factores pueden aumentar la posibilidad de padecerlo (*NIH, 2018*); estos factores de riesgo para el CCR se pueden agrupar en dos grupos, no modificables y modificables.

##### 2.2.7.2.1 Factores no modificables.

###### 2.2.7.2.1.1 Edad superior a 50 años.

El riesgo de CCR aumenta con la edad; los adultos jóvenes pueden llegar a tenerlo, pero es mucho más común después de los 50 años de edad (*American Cancer Society, 2018*); más del 90 % son diagnosticados después de esta edad. La edad promedio al momento del diagnóstico es alrededor de 68 años (*NIH, 2018*).

###### 2.2.7.2.1.2 Enfermedad inflamatoria intestinal (EII).

Aunque el CCR se considera la complicación más grave de la EII (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), sólo explica el 1-2% de todos los casos de CCR en la población general, y representa aproximadamente el 15% de todas las muertes en pacientes con EII (*Munkholm, 2003*).

El riesgo de desarrollar el carcinoma está relacionado con la extensión/duración/actividad de la enfermedad (*Matkowskyj et al., 2013*). Se acepta generalmente que la displasia precede, en la mayoría de los casos, al desarrollo del CCR en estos pacientes (*Mark-Christensen et al., 2018*), por lo que las pruebas de detección se han de realizar a una edad más temprana.

2.2.7.2.1.3 Antecedente personal de cáncer o pólipos colorrectales.

Los pólipos son comunes en personas de más de 50 años de edad siendo, en su mayoría, benignos. Sin embargo, algunos pólipos (adenomatosos o adenomas, vellosos y túbulo-vellosos) pueden hacerse cancerosos. Esto es especialmente cierto si existen más de tres adenomas o algún adenoma es avanzado, es decir, los mayores de 1 cm de diámetro, presentan componente velloso o displasia de alto grado (*Oncoguía de colon y recto, 2008*). Al extirpar estos pólipos puede reducirse el riesgo de CCR (*Hano et al., 2011*).

En caso de haber sufrido de CCR, aunque se haya extirpado en su totalidad, existen más probabilidades de desarrollar nuevos cánceres en otras áreas del colon y recto. Las probabilidades de que esto suceda son mucho mayores si el primer CCR apareció en la juventud (*American Cancer Society, 2018*).

2.2.7.2.1.4 Antecedente familiar de CCR o pólipos adenomatosos.

Los estudios poblacionales asocian un riesgo 2-3 veces mayor de adquirir un CCR que la población general. Además, tener un familiar de primer grado (padres o hijos) con CCR antes de los 45

años, o tener dos parientes de primer grado afectados de CCR confiere un riesgo de 3-6 veces en comparación con la población general (*Jasperson et al, 2010*). Tener un familiar que haya tenido pólipos adenomatosos también está relacionado con un mayor riesgo de cáncer de colon (*Cáncer.net, 2018*), por lo que estaría indicada la realización de colonoscopia con mayor frecuencia que en el resto de población.

#### 2.2.7.2.1.5 Síndromes hereditarios.

En el síndrome de Lynch existe un riesgo elevado de padecer diversos tipos de cáncer, siendo el riesgo de CCR del 52 a 82%; la edad media al diagnóstico es de 44-61 años (*Kohlmann y Gruber, 2004*).

#### 2.2.7.2.1.6 Antecedentes étnicos y raciales.

Por razones aún desconocidas, las personas de raza negra tienen las tasas de incidencia y de mortalidad de CCR más altas de todos los grupos raciales de los Estados Unidos. Asimismo, los judíos procedentes de Europa Oriental tienen uno de los mayores riesgos de CCR en comparación con cualquier otro grupo étnico en el mundo (*American Cancer Society, 2018*).

#### 2.2.7.2.1.7 Respuesta inflamatoria.

Una de las características fisiopatogénicas de las enfermedades tumorales en general es la influencia del componente inflamatorio sistémico, que contribuye en gran manera a la expansión de las células tumorales y a la aparición de complicaciones. La inflamación implica la interacción entre varias células inmunitarias, células

inflamatorias, quimioquinas, citoquinas y mediadores pro-inflamatorios, tales como las vías de la ciclooxigenasa (COX) y la lipoxigenasa (LOX), lo cual puede llevar a la señalización hacia la proliferación, crecimiento e invasión de las células tumorales (*Janakiram y Rao, 2014*). La concomitante elevación de citoquinas y otros mediadores inflamatorios inhibiría la apoptosis tumoral, promovería la angiogénesis y dañaría el ADN. Todos estos factores contribuirían a una mayor probabilidad de recidiva local o sistémica (*Urrejola et al., 2013*).

El organismo presenta una respuesta inmunológica frente al tumor. Se han hecho estudios en los que se ha visto que la presencia de un elevado infiltrado linfocitario peri o intratumoral constituye un factor de buen pronóstico en el CCR; esto es debido a que se asocia a un sistema inmunológico general capaz de evitar las micrometástasis, tanto locorregionales como a distancia. Así, *Deschoolmeester et al. (2010)* encuentran que los linfocitos T infiltrantes CD3+ y CD8+ tienen un impacto importante en la supervivencia global de los pacientes, aunque independientemente de su asociación con la IMS, ya que la infiltración tumoral podría reflejar un principio general de inmunidad antitumoral.

Una enorme cantidad de evidencia clínica (*Uribe-Querol y Rosales, 2015*) ha mostrado que los neutrófilos promueven la progresión del tumor de varias maneras: pueden inducir la proliferación del tumor y la angiogénesis y mejorar la migración de las células tumorales y la metástasis (neutrófilos asociados al tumor o TAN). Sin embargo, un tipo de TAN, llamado N1, puede mostrar

funciones antitumorales; se están investigando nuevas formas terapéuticas de reclutar y activar estos neutrófilos de tipo N1 para convertir los neutrófilos pro-tumorígenos en células antitumorales.

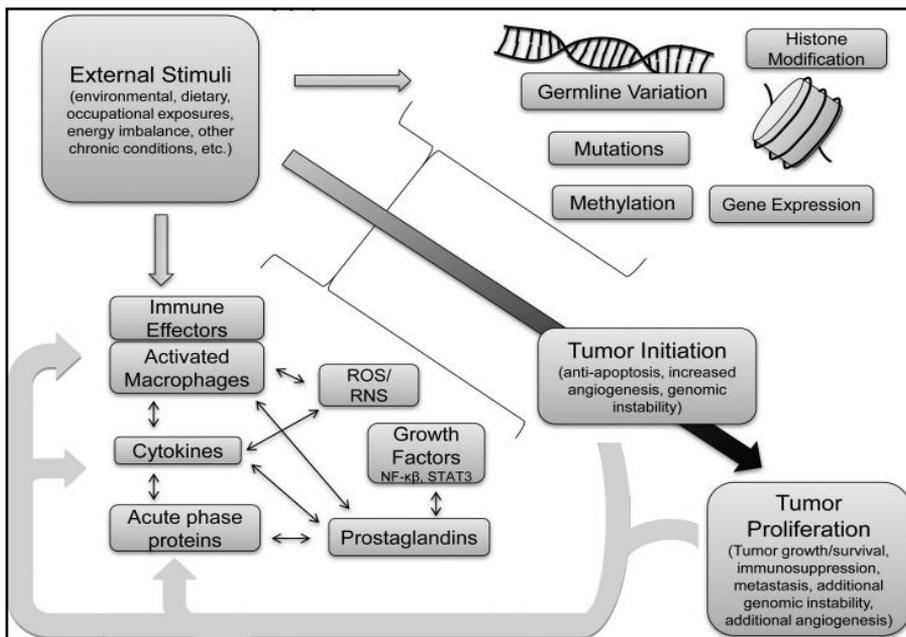
Estudiando los marcadores leucocitarios mieloperoxidasa y CD66b mediante inmunohistoquímica, *Galdiero et al. (2016)* evalúan la importancia clínica de los TAN en el CCR como posibles candidatos a marcadores. Encuentran que la densidad de los TAN disminuye dramáticamente en los pacientes en el estadio IV en comparación con los estadios I-III. También asocian una mayor densidad del infiltrado TAN con una mejor respuesta a la quimioterapia basada en 5-Fluoracilo. Por lo tanto, la evaluación de la infiltración de TAN puede ayudar a identificar a los pacientes que probablemente se beneficiarán de esta quimioterapia y consideran necesaria una reevaluación del papel de los neutrófilos en el cáncer utilizando una metodología cuantitativa rigurosa.

Recientemente, *Xiong et al. (2018)* evalúan 22 subpoblaciones de células inmunitarias y encuentran diferencias en la composición celular del infiltrado en el CCR, y es probable que estas diferencias sean factores determinantes importantes, tanto para el pronóstico como para la respuesta al tratamiento. Así encuentran que, de las subpoblaciones celulares investigadas, los tumores que carecían de macrófagos M1 (activados clásicamente o proinflamatorios) o con un mayor número de macrófagos M2 (activados alternativamente o antiinflamatorios), eosinófilos y neutrófilos, se asociaron a mal pronóstico.

En estrecha relación con este hecho está el fenómeno de

oxidación espontánea de moléculas de gran importancia homeostática, a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Crusz y Balkwill, 2015). Se entiende por estrés oxidativo (EO) el daño celular causado por las EROs resultante de la oxidación de sustratos para obtener energía o en el marco de un proceso metabólico.

En general, las observaciones hasta el momento actual sugieren que el EO, la inflamación crónica y el cáncer están estrechamente relacionados (Halliwell, 2007; Reuter et al., 2010; Brenner et al, 2014):



**Figura 17. Complejas interacciones del proceso de la inflamación en el espectro de progresión del cáncer (Brenner et al, 2014).**

#### 2.2.7.2.1.8 Alteraciones genéticas.

Las lesiones precursoras del CCR han sido objeto de

numerosos estudios basados en el modelo de carcinogénesis colónica propuesto por *Fearon y Vogelstein (1990)*. Según este modelo, la progresión de un pólipo adenomatoso de bajo a alto grado (carcinoma in situ), a carcinoma invasivo y metastático, se acompaña de una serie de alteraciones moleculares. Estas alteraciones incluyen la activación mutacional de oncogenes y la inactivación de genes supresores tumorales; se cree que son necesarios, al menos, cuatro o cinco genes mutados para producir un fenotipo completamente maligno. Esto debe incluir la mutación activadora del oncogén RAS, mutaciones en el gen p53 y delección del gen DCC (*Deleted in Colorectal Carcinoma*); un cambio adicional muy temprano es la mutación del gen APC3. La acumulación de estas alteraciones genéticas en el epitelio colónico requiere algunos años, normalmente décadas.

Una de las alteraciones más frecuentes en el CCR es la presencia de mutaciones activantes en genes que forman parte de la ruta RAS/MAPK, como los proto-oncogenes RAS (KRAS y NRAS), en los exones 2, 3 y 4. Se trata de una familia de oncogenes situados en los cromosomas 12 y 1, KRAS (12p) y NRAS (1p), cuyas proteínas codificadas poseen actividad GTP-asa, actuando en la vía de transducción de señales de crecimiento y diferenciación celular desde los receptores tirosín-kinasa (TK). Sus mutaciones se deben determinar en todo paciente con enfermedad avanzada, no en estadios locales o locorregionales. Permiten un tratamiento individualizado y constituyen un factor predictivo de resistencia al tratamiento con anticuerpos monoclonales contra EGFR (cetuximab

y panitumumab).

Otro gen de la ruta RAS/MAPK es BRAF, que se encuentra en 7q.34, cuya mutación consiste en la sustitución de una valina por ácido glutámico en el codón 600 (mutación V600). Confiere un valor pronóstico desfavorable en enfermedad avanzada (medianas de supervivencia en torno a los 12 meses frente a superiores a 24 meses en su ausencia); su positividad supone un beneficio mínimo o nulo con anticuerpos monoclonales contra EGFR.

Dado que las mutaciones en RAS o BRAF activan constitutivamente la vía RAS/MAPK en un punto inferior a la intervención de EGFR, los agentes tales como cetuximab y panitumumab, que impiden la unión al ligando del EGFR o los inhibidores de la actividad kinasas de EGFR (Iressa) no tendrían ninguna actividad inhibitoria significativa sobre la proliferación celular en presencia de RAS mutado; los anticuerpos anti-EGFR inducen su dimerización e internalización, lo que impide secundariamente la activación de la TK y la posterior cascada de señales; también impiden su acción los inhibidores de la actividad TK, con lo que evitan la autofosforilación del receptor y la fosforilación de las proteínas que intervienen en la cascada de señales (*Feliu Batlle, 2003*). Las mutaciones de KRAS y BRAF son excluyentes.

En el último Consenso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y de la Sociedad Española de Oncología Médica (*Navarro et al., 2012*), se establecen las recomendaciones sobre el uso de los biomarcadores que intervienen en estas rutas moleculares, frente a las que se han diseñado medicamentos que

bloquean algunas de ellas, y por lo que han pasado a formar parte del arsenal terapéutico disponible.

#### 2.2.7.2.1.9 Factores controvertidos.

La diverticulosis es muy frecuente en el sigma (*Aller de la Fuente, 2005*), en relación a su menor diámetro; ésta y el estreñimiento se relacionan con dietas bajas en fibra y de ahí su relación con el CCR. Pero hay poco acuerdo en que, tanto el estreñimiento (*Anderson y Lacy, 2014; Simons et al., 2010*) como la diverticulosis (*Granlund et al., 2011*) sean factores de riesgo de CCR, encontrándose resultados contradictorios.

#### 2.2.7.2.2 Factores modificables.

##### 2.2.7.2.2.1 Obesidad.

La obesidad abdominal, la cual se puede medir por la circunferencia de la cintura, así como un índice de masa corporal (IMC) más alto, están fuertemente asociados con un riesgo mayor de CCR, siendo más propio de los hombres. La dieta occidental, rica en grasas e hidratos de carbono, ha provocado una epidemia de obesidad, resistencia a la insulina, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares, estando relacionada con el cáncer de colon a través de distintos moduladores, hormonas, factores de crecimiento, adipokinas y citoquinas (*Stojsavljević et al., 2014*). Las concentraciones altas de insulina o de factores de crecimiento relacionados con la insulina (IGF-1) en población obesa pueden fomentar la aparición de cáncer de colon.

##### 2.2.7.2.2.2 Inactividad física.

Una persona que no sea físicamente activa tiene una mayor

probabilidad de desarrollar CCR; ser más activos puede ayudar a disminuir el riesgo (*American Cancer Society, 2018*). Realizar cada semana 150 minutos de una actividad física moderada puede reducir el riesgo de padecer cáncer de colon, según recomendaciones sobre actividad física y salud (*OMS, 2011*).

#### 2.2.7.2.2.3 Tabaco.

Fumar cigarrillos se cree que contribuye aproximadamente a un 12% de incidencia de CCR (*Hagggar y Boushey, 2009*). Por razones que no están claras, el riesgo de CCR debido al tabaquismo parece ser mayor en las mujeres que en los hombres, especialmente en colon proximal (*Parajuli et al., 2013*). Fumar es una fuente importante de radicales libres (RL), tanto en la fase gaseosa como en la fase de alquitrán y contribuye en gran medida al EO in vivo, pues aumenta muchos biomarcadores sistémicos de EO, como el pentano del aliento, proteínas plasmáticas carboniladas y F2-Isoprostanos (*Church y Pryor, 1985*). El humo del cigarrillo contiene una cantidad significativa de especies reactivas de nitrógeno (ERNs) así como de EROs; además, es una fuente de hidrocarburos aromáticos policíclicos (lo mismo que la cocción a altas temperaturas de la carne), que posteriormente se activan a potentes mutágenos, como el benzo[a]pireno, que se encuentra en las carnes cocidas y el humo del tabaco. Se sabe desde hace mucho tiempo que la activación del mismo a su último agente carcinógeno puede promoverse mediante el proceso de peroxidación lipídica (*Alexandrov et al., 1996*).

Las personas que han fumado por mucho tiempo tienen una

probabilidad mayor de desarrollar y morir de CCR que las personas que no fuman (*American Cancer Society, 2018*). Fumar más de 35 cigarros/día aumenta el riesgo.

#### 2.2.7.2.2.4 Alcohol.

El consumo excesivo de alcohol se ha relacionado con un aumento del riesgo de CCR, con una mayor incidencia de tumores en el colon distal (*Haggar y Boushey, 2009*). Las personas bebedoras y con antecedentes familiares de CCR corren un riesgo especial, con un riesgo relativo de 2,8 en comparación con las personas que no beben alcohol y sin antecedentes familiares de CCR (*Cho et al., 2012*).

Del mismo modo que el tabaco, los pacientes con dependencia crónica del alcohol también muestran un mayor nivel de biomarcadores de EO. Sin embargo, es probable que sea procarcinógeno por múltiples mecanismos; el alcohol metabolizado por el sistema del citocromo P450 del retículo endoplásmico conduce a la producción tanto de acetaldehído (mutágeno altamente tóxico causante de mutaciones puntuales) como de EROs. Estas últimas pueden provocar directamente daño en el ADN y también pueden conducir a una mayor peroxidación de lípidos, cuya descomposición genera aldehídos genotóxicos y aldehídos reactivos, como MDA y 4-HNE (*Seitz y Stickel, 2007*).

#### 2.2.7.2.2.5 Factores dietéticos.

Dieta pobre en frutas y verduras frescas, alto consumo de carne roja, cocinar las carnes a temperaturas muy altas y dieta rica en grasas saturadas por su alta ingesta calórica aumentan el riesgo de

CCR (*American Cancer Society, 2018*).

Los suplementos de fibra no han demostrado que puedan ayudar a reducir este riesgo (*Viñes et al., 2003*).

### 2.2.8 CUADRO CLÍNICO DEL CCR.

En tumoraciones incipientes los pacientes están asintomáticos y el CCR se diagnostica con un test de screening o es un hallazgo casual al realizar otras exploraciones. En tumores sintomáticos la forma de presentación varía según su localización, existiendo diferencias entre el colon derecho y el izquierdo.

Considerando que el límite entre colon derecho e izquierdo corresponde a la parte distal del colon transversal, estas diferencias están relacionadas con el origen embriológico, riego sanguíneo, función, contenido fecal, variedad de lesión más común, sintomatología clínica, estudios diagnósticos y tipo de tratamiento (*Sabiston, 1980*).

#### 2.2.8.1 Colon derecho.

Embriológicamente, el colon derecho (o proximal) y su riego sanguíneo se originan en el intestino medio; su contenido es principalmente líquido, siendo su función principal la absorción de agua.

Las lesiones malignas son generalmente grandes, excrecentes y a veces ulceradas, proyectándose en la luz del intestino (polipoideas). Suelen producir una anemia crónica importante con hierro bajo, debido a la gran superficie que sangra libremente. Al salir mezclada con las heces, el paciente no es consciente de su pérdida (sangre oculta). Estas lesiones rara vez causan obstrucción.

La tríada clásica de las lesiones del lado derecho consiste en anemia, debilidad y una masa en el cuadrante inferior derecho.

#### 2.2.8.2 Colon izquierdo.

El colon izquierdo (o distal) y su irrigación se relacionan con el intestino posterior en cuanto a origen embrionario; su contenido es más sólido y sus funciones principales son el almacenamiento y la excreción.

Es la localización más frecuente del CCR, sobre todo en colon sigmoide y recto, pero hay evidencia de cambios en la distribución en los últimos años, con una creciente proporción de carcinomas más proximales (*IARC, 2018*).

La lesión maligna más común es en “anillo de servilleta” que ocupa toda la superficie del intestino y frecuentemente provoca obstrucción; a diferencia de los tumores del colon derecho, los del izquierdo son estenosantes. Aparecen frecuentemente cambios en la motricidad intestinal (estreñimiento, diarrea o alternancia de ambos), síntomas de obstrucción (la aparición de evacuaciones de pequeño calibre, en forma de lápiz, es de considerable importancia), dolor abdominal y sangre macroscópica en las heces, pudiendo tratarse de rectorragia (sangre roja en las heces) o de hematoquecia (sangre mezclada con las heces). Los síntomas relacionados con una obstrucción intestinal son ausencia de deposición, náuseas, vómitos, y dolor cólico abdominal.

#### 2.2.8.3 Recto.

En el caso del cáncer rectal, la rectorragia puede ser de sangre roja brillante independiente de la defecación, por lo que, con

frecuencia, se atribuye de forma errónea a la existencia de hemorroides. Otros síntomas son: necesidad urgente de defecar, cambios en el calibre de las deposiciones e incontinencia (*Sabiston, 1980*). Esta sintomatología, excepto en el caso de la clínica obstructiva, no se correlaciona con el estadio de la enfermedad (*Majumdar et al., 1999*).

Cuando el tumor invade estructuras periféricas provoca dolor abdominal o pélvico, que en ocasiones se irradia a periné y miembros inferiores. Igualmente, puede aparecer dolor anal por invasión del conducto anal o incontinencia por afectación del aparato esfinteriano.

Con independencia de la localización, además de los síntomas locales, en los casos de cáncer avanzado frecuentemente aparecen síntomas generales: astenia, anorexia, adelgazamiento, cansancio, fiebre tumoral (síndrome constitucional), así como los producidos por las metástasis: ictericia (hepáticas), ascitis (renales), disnea (pulmonares), dolor óseo, etc.

Una detallada anamnesis y una exploración física completa son de vital importancia y nunca deben infravalorarse. La existencia de enfermedades concomitantes puede determinar que el paciente no sea candidato a tratamiento quirúrgico, e influir en la decisión de realizar tratamiento adyuvante o paliativo.

## 2.2.9 DIAGNÓSTICO.

### 2.2.9.1 Sospecha clínica.

Como en cualquier enfermedad, es muy importante la elaboración de una minuciosa historia clínica con los antecedentes

familiares y personales, así como los signos y/o síntomas que presenta el paciente en el momento presente. Los CCR crecen lentamente y pueden estar presentes varios años antes de que aparezca la sintomatología, por lo que es importante identificarla para realizar un diagnóstico lo más precoz posible.

Debe sospecharse la existencia de CCR ante:

#### 2.2.9.1.1 Rectorragia.

Es el signo más frecuente en el CCR; en un estudio realizado en Dinamarca en 2015 que abarcó casi 50.000 casos de pacientes adultos mayores de 20 años, la hemorragia rectal apareció en el 33,8% de los casos. El dolor abdominal fue el síntoma de alarma específico más frecuente (19,7%), mientras que el cansancio fue el síntoma inespecífico más frecuente (49,8%) (*Rasmussen et al., 2015*).

Hay que destacar que la rectorragia presenta una baja especificidad, ya que está presente en una gran variedad de patologías, tanto colónicas (enfermedad inflamatoria intestinal, diverticulosis, adenomas...) como proctológicas (fisuras, hemorroides, etc.) (*Hamilton y Sharp, 2004; Nikpour y Asgari, 2008*). La presencia de signos y síntomas asociados, tales como el cambio en el hábito intestinal, la hematoquecia o la anemia aumentan su valor predictivo positivo (*Lawrenson et al., 2006*).

#### 2.2.9.1.2 Anemia ferropénica.

En un estudio de Reino Unido de casi 65.000 pacientes con CCR, el valor predictivo positivo (VPP) de la anemia con signos de deficiencia de hierro, fue en hombres (hemoglobina <11µg/dL) del

13,3 % y en mujeres (hemoglobina  $<10\mu\text{g/dL}$ ) del 7,7%, por lo que su presencia hace necesario investigar y descartar una neoplasia colorrectal (*Hamilton et al., 2008*).

Otros autores encuentran tasas superiores de anemia (51%), afirmando que el sexo femenino, el tumor en el colon derecho y el diámetro máximo del tumor igual o superior a 3 cm fueron factores de riesgo de anemia en pacientes con carcinoma de colon (*Ho et al., 2008*).

#### 2.2.9.1.3 Cambios en el hábito intestinal.

Es un síntoma importante en el CCR, aunque menos estudiado quizás por su variabilidad en la población general, siendo de entrada un síntoma difícil de valorar y de diferenciar entre causa orgánica y funcional.

Los pacientes con síntomas gastrointestinales no hemorrágicos persistentes, incluyendo dolor abdominal y cambio en los hábitos intestinales, tanto diarrea como estreñimiento, tienen un rendimiento diagnóstico casi tan alto de neoplasia colorrectal como los que presentan sangrado rectal (*Neugut et al., 1993*).

En un estudio de los síntomas más frecuentes en los cinco cánceres más comunes en más de 5.000 adultos realizado en Suecia, se vio que en el caso del CCR los cambios en el hábito intestinal ocurren en el 37% de los varones y en el 20% de las mujeres (*Carlsson et al., 2001*).

#### 2.2.9.1.4 Otros síntomas y signos.

Pueden aparecer otros síntomas como la palpación de una masa abdominal y/o rectal, dolor abdominal, tenesmo (sensación de

tener la necesidad de defecar), pérdida de peso, síndrome general paraneoplásico, etc; estos últimos son síntomas más inespecíficos y suelen ser indicativos de un proceso neoplásico avanzado.

#### 2.2.9.1.5 Complicaciones.

La incidencia de complicaciones postoperatorias tras la cirugía colónica varía según las diferentes series, pero se estima que oscila entre el 10 y el 30%, (*Ruiz-Tovar et al., 2000*), situación de alta mortalidad que implica, además, un peor pronóstico a largo plazo. La obstrucción y la perforación son las complicaciones más frecuentes; la hemorragia masiva es rara y las infecciones asociadas al CCR (endocarditis, meningitis, gangrena gaseosa no traumática, empiema, absceso hepático o retroperitoneal y sepsis por clostridios) son anecdóticas (*Kreisler et al., 2006*).

Las neoplasias complicadas de colon suelen tener peor pronóstico que las intervenidas de forma electiva:

- Oclusión: es la complicación más frecuente, variando entre un 8 y un 29% de las neoplasias de colon. El riesgo depende, entre otros factores, de la localización del tumor; es más frecuente en tumores del ángulo esplénico (49%), seguida por los tumores del colon izquierdo o derecho, con similar riesgo (el 23 y el 22%, respectivamente); la oclusión del rectosigma es rara (*Biondo y Ragué, 2003; Kreisler et al., 2006*).

El inicio de los síntomas es habitualmente insidioso con aparición de estreñimiento progresivo que termina con la obstrucción completa de la luz intestinal y cuadro de dolor abdominal cólico, distensión progresiva y cierre intestinal. En casos de neoplasias de

ciego la oclusión se instaura de forma más brusca. La aparición de vómitos o de deshidratación sugiere un proceso muy evolucionado o una válvula ileocecal incompetente (*Gómez-Gras et al., 2008*). Su tratamiento requiere una cirugía de urgencia, y por tanto su pronóstico es malo, debido, por un lado, a la alta morbi-mortalidad de una cirugía urgente y, por otro, a la mayor agresividad biológica del tumor y prevalencia de enfermedad avanzada.

- Perforación: es una complicación mucho menos frecuente, y afecta entre el 2 y el 12% de los pacientes con cáncer de colon. La forma más frecuente es en el propio tumor, por necrosis y ulceración del tejido neoplásico (65% de los casos), aunque puede ocurrir a distancia, que suele presentarse en tumores izquierdos estenosantes u oclusivos que provocan distensión severa en segmentos proximales, sobre todo en ciego, con estallido final a este nivel (perforación diastásica) (*Carraro et al., 1998; Marcote et al., 2000*).

Las manifestaciones clínicas de la perforación tumoral dependen de si ésta da lugar a una peritonitis difusa (purulenta o fecaloidea) o bien localizada. En el primer caso, la situación se traduce en un cuadro clínico catastrófico que pone en riesgo la vida del paciente; en el segundo, la evolución de cada caso podrá abocar en la formación de abscesos, fijación a estructuras vecinas, o fístulas. La perforación diastásica, que se produce sobre un colon isquémico y a tensión, provoca habitualmente un cuadro de peritonitis fecaloidea fatal para el paciente (*Kreisler et al., 2006*).

- Hemorragia: en la mayoría de ocasiones la hemorragia es

leve y crónica; sólo de modo excepcional alcanza la gravedad suficiente para requerir una intervención urgente.

Resumiendo, tendremos una fuerte sospecha de CCR ante:

- Sujetos mayores de 50 años con aparición de cambios en el ritmo intestinal, estreñimiento persistente, diarrea, tenesmo rectal y/o dolor abdominal cólico coincidiendo con alteraciones en el hábito intestinal.

- Las rectorragias con o sin deposición orientan a una posible neoplasia recto-sigmoidea, mientras que las heces melénicas o hematoquecia pueden corresponder a tumores situados en colon derecho.

- La presencia de anemia microcítica hipocroma en varones o mujeres postmenopáusicas puede ser la única manifestación de CCR.

#### 2.2.9.2 Exploración física.

Es poco expresiva, salvo que exista un cáncer palpable en el tacto rectal o una masa abdominal. Se debe realizar un tacto rectal para valorar la presencia de masas, y en dicho caso, determinar su localización, movilidad, la presencia de adenopatías extrarrectales, la invasión en profundidad y si el tumor está adherido o fijo.

En caso de tumores de gran tamaño puede apreciarse una masa abdominal de consistencia dura y escasa movilidad. Si existe diseminación a distancia puede aparecer hepatomegalia e ictericia en caso de metástasis hepáticas y ascitis si presenta diseminación peritoneal.

Es esencial la exploración pélvica cuidadosa en las mujeres y la

evaluación prostática en los varones.

#### 2.2.9.3 Analítica sanguínea.

El hemograma aportará información sobre la existencia de anemia, al igual que la determinación del metabolismo férrico (hierro, ferritina, transferrina y su % de saturación). La bioquímica sanguínea puede orientarnos sobre la función de órganos como el hígado o el riñón.

La determinación del marcador tumoral CEA servirá como valor basal, una vez confirmado el diagnóstico, para el seguimiento evolutivo de los pacientes y verificar la respuesta al tratamiento quirúrgico o radio-farmacológico; el CA 19.9 no suele utilizarse para el control evolutivo de estos pacientes.

Es importante remarcar que los MT no deben utilizarse para el screening o diagnóstico de CCR (*SEOM 2018*).

#### 2.2.9.4 Confirmación diagnóstica y estudio de extensión.

Una vez se sospeche la presencia de tumoración colorrectal por la clínica, la técnica inicial ha de ser la colonoscopia.

##### 2.2.9.4.1 Colonoscopia total.

El fibrocolonoscopio es un endoscopio flexible de 160 cm que permite examinar todo el colon, a diferencia de otras técnicas endoscópicas como la rectoscopia o colonoscopia, y permite obtener biopsias de lesiones sospechosas para confirmar el diagnóstico del tumor primario o extirpar pólipos durante la misma sesión, así como descartar la existencia de lesiones sincrónicas, tanto adenomas como carcinomas, en el resto del colon, que pueden estar presentes

hasta en la mitad de los enfermos y pueden modificar en un 10% de los casos el plan operatorio. Por todo esto hoy día es considerada como la técnica “gold estándar” en el diagnóstico del CCR. En caso de no disponer de colonoscopia total, porque sea técnicamente imposible de completar o sea rechazada por el enfermo, se recomienda realizar un enema opaco de doble contraste, siempre completado con una rectosigmoidoscopia, ya que algunas neoplasias distales son de difícil diagnóstico radiológico (*OncoSur, 2009*).

La frecuencia en la indicación y la realización del procedimiento ha significado un colapso considerable de las unidades de endoscopia y ha incrementado las listas de espera, lo que ha creado la necesidad de establecer una serie de indicaciones para su realización. Se ha elaborado una lista de indicaciones que las Sociedades europeas y americanas de endoscopia gastrointestinal (ESGE y ASGE, respectivamente) han aceptado por consenso. Las indicaciones se han catalogado como apropiadas, inciertas e inapropiadas. Cuando la indicación es apropiada, se obtienen más diagnósticos de relevancia clínica (*ASGE, 2012*).

La sensibilidad de la colonoscopia para la detección de CCR y sus lesiones precursoras es muy alta, superior a la de otras pruebas, como el enema opaco o la colonografía por colonoscopia computarizada (*Sharma y Nguyen, 2005*). Sin embargo, el 25% de las lesiones no se diagnostican, especialmente cuando son planas o sésiles (*Kim et al., 2017*).

Está indicado hacer una colonoscopia completa de seguimiento

al año de la cirugía (excepcionalmente a los 3-6 meses de la misma si no se pudo hacer preoperatoriamente por tratarse de una lesión obstructiva), con el objetivo de detectar de forma precoz las lesiones metacrónicas y las recurrencias en la anastomosis, siendo éstas últimas más frecuentes en los tumores de origen rectal. Las colonoscopias sucesivas deberán realizarse a los 3 años siguientes, y si son normales, cada 5 años, según recomendación de las guías del National Comprehensive Cancer Network (*NCCN, 2018*).

#### 2.2.9.4.2 Cápsula endoscópica.

La cápsula endoscópica contiene una cámara en miniatura, una fuente de luz y un circuito inalámbrico para la adquisición y transmisión de señales. Proporciona alrededor de dos imágenes por segundo para un máximo de ocho horas después de la deglución, ya que viaja a través del intestino delgado. Es un procedimiento ambulatorio que se puede utilizar para detectar lesiones, pero no se puede tomar biopsias o realizar procedimientos terapéuticos. La cápsula pasa por el recto al cabo de uno a dos días. En general es seguro y con escasas complicaciones, aunque puede ocurrir retención sintomática de la cápsula (en menos del 2% de los exámenes). Se utiliza principalmente para diagnosticar patología del intestino delgado, pero se ha considerado para el escrutinio de CCR en pacientes que han sangrado. La sensibilidad de este procedimiento para lesiones importantes es del 77%, la especificidad del 70% y el VPP del 59% (*Calva et al., 2009*).

#### 2.2.9.4.3 Radiografía simple de tórax.

La capacidad de la radiografía de tórax para detectar

recurrencias pulmonares es muy limitada. Aunque no ha demostrado aumentar el diagnóstico de metástasis rescatables quirúrgicamente, se incluyen en la mayoría de protocolos de seguimiento por su bajo coste.

#### 2.2.9.4.4 Radiografía simple de abdomen.

Es fácil de realizar y puede aportar información sobre si existe obstrucción intestinal.

Ambas pueden ser sustituidas, en la mayoría de casos, por un escáner torácico o abdominal (*SEOM, 2018*).

#### 2.2.9.4.5 Colonografía tomográfica computarizada (CTC).

Es un procedimiento no invasivo que permite valorar la luz y pared del colon, así como el resto de estructuras abdominales, mediante imágenes tridimensionales, permitiendo que se puedan encontrar en una colonoscopia posterior cánceres y pólipos precancerosos. A pesar de que su sensibilidad para la detección de CCR y adenomas avanzados ( $\geq 10$  mm ) en la práctica clínica diaria es un poco incierta, los estudios clínicos sugieren que las tasas son superiores al 90% para detección de CCR, del 90% para la detección de pólipos  $\geq 10$  mm y del 78% para la detección de pólipos  $\geq 6$  mm (*Simon, 2016*).

Es la técnica de elección en aquellos casos en los que la colonoscopia completa no se ha podido realizar, pero presenta el inconveniente de no ser una técnica terapéutica, a diferencia de la colonoscopia (*Campillo-Soto et al., 2007*).

#### 2.2.9.4.6 Enema opaco con doble contraste.

Está indicado para los casos en que la colonoscopia ha sido incompleta y no disponemos de CTC. En los cánceres estenosantes es típica la imagen en corazón de manzana o servilletero (*Muñoz Barabino y Sánchez García, 2010*). La sensibilidad es más baja que la de la CTC para la detección de pólipos colorrectales  $\leq 6$  mm, siendo del 41,9%, en los que miden entre 6 y 9 mm y del 67,8% en los mayores de 10 mm, y (*Sosna et al., 2008*). Por todo lo anterior, en la actualidad es una técnica poco empleada en el diagnóstico del CCR.

#### 2.2.9.4.7 Tomografía axial computarizada (TAC) toraco-abdominal.

Es la técnica más útil para la detección de enfermedad metastásica y extensión tumoral regional. Complicaciones como obstrucción, perforación y fístula pueden ser visualizados; es útil en la identificación de recurrencias, en la evaluación de relaciones anatómicas y en la confirmación de nuevas lesiones durante y después de la terapia (*Calva et al., 2009*).

#### 2.2.9.4.8 Tomografía por emisión de positrones-TAC (PET-TAC).

El componente PET detecta la acumulación de Flúor-18 deoxiglucosa ( $^{18}\text{FDG}$ ) en los tejidos y brinda un "mapa metabólico" al concentrarse en los tejidos con mayor actividad metabólica; permite realizar un "mapa anatómico" para localizar las lesiones y diferenciarlas de captaciones fisiológicas, ya que los tejidos neoplásicos captan más  $^{18}\text{FDG}$  que los normales, pero también

puede concentrarse en otro tipo de tejidos, como en procesos inflamatorios o infecciosos. Por todo ello son necesarias otras técnicas radiológicas complementarias.

Tras evaluar más de 2.000 PET-TAC con actividad focal colónica o rectal, *Fuertes et al. (2015)* encuentran que cualquier actividad focal incidental de  $^{18}\text{F}$ FDG predice una probabilidad mayor del 50% de corresponder a una lesión premaligna o maligna en el análisis histopatológico.

Este estudio está indicado en el control de respuesta al tratamiento con quimioterapia y en la detección de recidivas locorregionales y a distancia (*Sobhani, 2008*).

#### 2.2.9.4.9 Resonancia magnética nuclear (RMN).

Es el método de elección para la valoración de la pelvis en los pacientes con CCR, ya que permite la predicción de márgenes de resección negativos, la determinación de metástasis a ganglios linfáticos, el compromiso de órganos adyacentes y con las nuevas secuencias incluso puede servir como predictor de respuesta a la quimioterapia. Además de estos aspectos, la RMN tiene una alta especificidad y reproducibilidad, por lo cual debe utilizarse como primera línea para la imagenología del cáncer de recto (*Kim et al., 2000; Aluja y Upegui, 2016*). La RMN con antena intrarrectal permite establecer la relación con las estructuras vecinas, fundamentalmente con los esfínteres, por lo que es óptima para la planificación de la cirugía y de otros tratamientos (*Crespo, 2012*).

#### 2.2.9.4.10 Ultrasonografía endorrectal (USER).

Junto con la anterior, son las dos únicas técnicas que permiten

reconocer las distintas capas de la pared rectal y determinar la profundidad de invasión del tumor en su pared. Presenta la ventaja de ser una técnica poco invasiva, pero adolece de los inconvenientes de ser operador-dependiente y de tener algunas limitaciones en tumores estenosantes y en aquellos situados en la parte más proximal del recto.

En una revisión de la literatura, que incluyó 4.897 pacientes, se encontró mayor sensibilidad y exactitud con la USER que con la RMN; además, la RMN es cara, requiere tiempo y una antena específica, por lo que la mayoría de los autores consideran la USER como la técnica de elección para la estadificación del cáncer rectal (*Oncosur, 2009*).

#### 2.2.9.4.11 Otras.

En caso de clínica de dolores óseos, en ocasiones será necesario el estudio de extensión a huesos mediante una *gamagrafía ósea* o una *laparoscopia abdominal diagnóstica* para comprobar si el tumor se ha extendido más allá del colon a peritoneo, en tumores avanzados (*SEOM 2018*).

#### 2.2.10 TRATAMIENTO.

En la elección del tratamiento más adecuado para el paciente, se tienen en cuenta distintos factores, que van a depender:

- Del paciente: edad, estado general, situación nutricional, enfermedades intercurrentes y, además, la voluntad y decisión del propio paciente.

- Del tumor: localización en colon o recto, histopatología, estadio tumoral, etc.

- Del tratamiento: tipo de cirugía, tolerancia y eficacia de la quimioterapia o de la radioterapia.

Los pacientes afectos de CCR han de ser evaluados por un equipo multidisciplinar para establecer la mejor estrategia terapéutica. La más importante es la extirpación quirúrgica del tumor, pero también se dispone de otros tratamientos según el estadio evolutivo del mismo: quimioterapia, incluyendo los anticuerpos monoclonales e inhibidores tirosin-quinasa, radioterapia y medidas paliativas o sintomáticas, aunque, en algunos pacientes el tratamiento puede ser exclusivamente endoscópico (resección de pólipos o colocación de prótesis). En muchas ocasiones se combinan varios tipos de tratamiento, pero otras veces sólo está indicado uno de ellos. La decisión terapéutica se ajusta concretamente a cada paciente.

Según el grado de invasión de la pared del colon/recto o si existe afectación ganglionar, se recomienda administrar quimioterapia complementaria. En el cáncer de recto también puede estar indicada la radioterapia preoperatoria, generalmente, aunque a veces se administra después de la cirugía.

Si existen metástasis a distancia, la quimioterapia (más anticuerpos monoclonales) es el tratamiento clave, asociando radioterapia o/y cirugía en situaciones determinadas (*SEOM, 2018*).

#### 2.2.10.1 QUIRÚRGICO.

La cirugía es la base fundamental del tratamiento con éxito; su objetivo es la extirpación del tumor primario y de cualquier extensión locorregional que haya podido producirse, sin provocar diseminación

tumoral y procurando la mejor calidad de vida para el paciente.

Es importante distinguir entre el carcinoma de colon y el de recto debido a su distinto comportamiento local y a distancia, es decir, en cuanto al patrón de diseminación. El colon es predominantemente intraperitoneal, móvil, lo que facilita su resección con márgenes amplios, y su diseminación será predominantemente a distancia, con preferencia en el hígado seguido del peritoneo, quedando en último lugar en frecuencia la recurrencia local. Por el contrario, el recto y el recto-sigma, ambos extraperitoneales y situados en el marco óseo pélvico, plantean mayores dificultades para reseccionar el tumor con márgenes amplios, por lo que su tendencia es a la recidiva local en la pelvis menor (*Oncosur, 2009*).

#### 2.2.10.1.1 Cáncer de colon.

El objetivo del tratamiento es realizar una resección R0, es decir, evitando dejar tumor residual macroscópico en el campo quirúrgico y con márgenes de resección adecuados (proximal, distal y circunferencial), asociado a una linfadenectomía completa del territorio de drenaje linfático del tumor; se habla así de resección R0 si los márgenes están libres histológicamente, R1 cuando los márgenes histológicos son positivos y R2 cuando se ha dejado tumor residual macroscópico.

Puede utilizarse la vía abierta tradicional (laparotomía) o bien la laparoscópica, si bien hoy día existe evidencia de que la cirugía laparoscópica se asocia a mejor recuperación postoperatoria y menor dolor, por lo que preferentemente se utilizará esta vía. Actualmente se acepta que un margen de tejido sano de 5 cm

proximal y 2 cm distal al tumor en la pared del colon es suficiente para evitar la recidiva local (*Oncoguía del Cáncer colorrectal de la Comunidad Valenciana, 2007*), aunque en la práctica estos márgenes son más amplios porque la extensión de la resección requerida para los tumores situados en los distintos segmentos del colon está determinada por la necesidad de una amplia extirpación de los linfáticos extramurales que acompañan a los vasos cólicos principales y que irrigan el segmento afectado. Cuando el cirujano dispone de experiencia, es preferible una aproximación a la colectomía electiva mínimamente invasiva.

En los carcinomas que asientan en el colon derecho se realizará una hemicolectomía derecha, incluyendo 10-15 cm del íleon terminal. Se restablecerá la continuidad mediante una ileon-transversostomía término-lateral, latero-lateral o término-terminal, manual o mecánica, en función del calibre de los segmentos a anastomosar y de las preferencias del cirujano. En colon transversal y ángulo esplénico se realizará una hemicolectomía derecha ampliada.

En el caso del colon izquierdo se realizará una hemicolectomía izquierda con anastomosis término-terminal manual o mecánica; en tumores de sigma y unión recto-sigmoidea, una resección anterior. El margen de resección distal debe ser de 5 cm.

Los cánceres de colon sincrónicos pueden tratarse con dos resecciones separadas o con colectomía subtotal (*Vogel et al., 2017*).

### 2.2.10.1.2 Cáncer de recto.

El tratamiento del cáncer de recto implica una resección radical del mismo, con excepción de los tumores en estadio I bien diferenciados, en los que puede optarse por una resección local transanal, bien de forma directa, bien a través de microcirugía transanal endoscópica.

- Resección local: se realizará resección endoscópica transanal en pacientes con tumores en estadio T1N0M0. El paciente debe estar informado de que existe un riesgo de recidiva local que podría hacer necesaria una amputación abdomino-perineal.

- Resección radical: está indicada en tumores en estadio II y III. Se pueden distinguir tres técnicas diferentes:

- Resección anterior baja: consiste en la exéresis del recto seguido de una anastomosis colorrectal o coloanal.

- Amputación abdomino-perineal: indicada cuando exista invasión tumoral del aparato esfinteriano. Consiste en la exéresis del recto y canal anal rodeado del aparato esfinteriano, músculo elevador del ano y grasa isquiorrectal.

- Intervención de Hartmann: consiste en realizar una resección del tumor por vía anterior, similar a la resección anterior baja, sin restablecimiento posterior de la continuidad intestinal, confeccionando una colostomía terminal. Se trata de un procedimiento que se asocia a un elevado número de complicaciones sépticas, por lo que su uso se restringe a situaciones muy ocasionales (*Protocolo cáncer colorrectal Junta de Andalucía, 2013*).

La resección del tumor en el CCR debe acompañarse de una linfadenectomía adecuada, extendiéndose hasta el origen del tronco vascular principal que irriga el tumor y ha de realizarse en bloque; se han de resecar también aquellas adenopatías que, fuera del territorio linfovascular resechado, sean sospechosas de malignidad.

#### 2.2.10.2 NEOADYUVANTE.

Se designa con este nombre al tratamiento que se aplica como primera opción de tratamiento con la finalidad, generalmente, de reducir el tamaño del tumor de cara a posterior cirugía. Cuando se emplea en cánceres avanzados se puede denominar también de inducción o conversión, puesto que su objetivo será promover la reducción de la enfermedad o convertirla en operable, en el caso de que por las características del tumor no lo fuera. También se emplea para reducir focos metastásicos.

Consiste en la aplicación de:

- Radiación asociada o no a quimioterapia en pacientes con carcinoma de recto extraperitoneal localmente avanzado. En este caso, la radioterapia preoperatoria es preferible a la postoperatoria.
- Tratamiento quimioterápico en pacientes con cáncer de colon o recto con enfermedad localmente avanzada y dudosamente reseable. En estos pacientes puede iniciarse un tratamiento neoadyuvante quimioterápico o con radio-quimioterapia preoperatoria con ciclo largo o de forma secuencial, una vez comprobada una respuesta favorable al tratamiento quimioterápico si se trata de un tumor de localización rectal. Los esquemas de tratamiento neoadyuvante en estos pacientes se basan en la

combinación de dos fármacos más un anticuerpo monoclonal (si no existe contraindicación para su utilización). La valoración de la respuesta se realizará tras 3 ciclos en los casos de utilizar esquemas trisemanales (XELOX) o tras 6 en caso de esquemas bisemanales (FOLFIRI, FOLFOX). En los casos de cáncer de recto, una vez valorada la respuesta favorable y las posibilidades de rescate quirúrgico, se recomienda tratamiento con radio-quimioterapia (5-Fluorouracilo o capecitabina), con posterior valoración de resecabilidad.

- Tratamiento quimioterápico en pacientes con enfermedad metastásica hepática no resecable inicialmente, con intención de reevaluar la respuesta para realizar posteriormente un rescate quirúrgico en caso de respuesta favorable. Al igual que en el caso anterior, los esquemas de tratamiento neoadyuvante en estos casos se basan en la combinación de dos fármacos asociados a un anticuerpo monoclonal si es posible. En ambos casos se realizará PET-TAC antes y después del tratamiento para valorar enfermedad diseminada que impida un tratamiento con pretensión curativa.

### 2.2.10.3 ADYUVANTE.

Consiste en administrar radio o quimioterapia tras la intervención quirúrgica practicada para extirpar el tumor (SEOM, 2019).

#### 2.2.10.3.1 Cáncer de colon.

El tratamiento quimioterápico adyuvante está indicado en los estadios III (con afectación ganglionar), ya que aumenta el intervalo libre de enfermedad y la supervivencia global. También se encuentra

indicado en pacientes con tumores en estadio II de alto riesgo (con obstrucción, perforación, T4, presencia de invasión vascular, linfática o perineural, MT preoperatorios elevados y en linfadenectomías de menos de 12 ganglios linfáticos).

El tratamiento debe iniciarse en las 6 primeras semanas tras la cirugía y la duración suele ser de 6 meses.

Los esquemas de tratamiento adyuvante deben basarse en fluoropirimidinas con o sin Oxaliplatino. La adición de éste aumenta el intervalo libre de enfermedad y la supervivencia global en los estadios III.

En los pacientes mayores de 70 años el tratamiento recomendado es monoterapia con Capecitabina, aunque se individualizará el añadir Oxaliplatino. Los esquemas utilizados en adyuvancia son FOLFOX-4 y FOLFOX-6, ambos cada 2 semanas durante 12 ciclos, para lo que se precisa de colocación de un catéter (port-a-cath) para su administración. El otro esquema utilizado es XELOX cada 21 días durante 8 ciclos. En el caso de utilizar monoterapia con Capecitabina serán 8 ciclos.

La presencia de IMS se ha relacionado como posible factor pronóstico y predictivo de respuesta a fluoropirimidinas. La determinación se realizará en aquellos pacientes diagnosticados con edad inferior a 50 años y en los estadios II cuando se proponga tratamiento adyuvante con fluoropirimidina en monoterapia.

#### 2.2.10.3.2 Cáncer de recto.

En los pacientes con cáncer de recto extraperitoneal se recomienda tratamiento preoperatorio con radioterapia y

quimioterapia concomitante en los estadios II y III (T3, T4 y/o afectación ganglionar). El tratamiento quimioterápico indicado durante la radioterapia es monoterapia con Capecitabina ó 5-Fluoracilo si no existe contraindicación para su administración.

El tratamiento quimioterápico adyuvante postoperatorio sigue las mismas recomendaciones que para el de colon estadios II y III.

En la mayoría de casos el tamaño tumoral no es valorable por fibrosis postratamiento neoadyuvante.

En los pacientes intervenidos en estadios II y III que no han recibido tratamiento preoperatorio se recomienda tratamiento adyuvante complementario con Capecitabina ó 5-Fluoracilo durante la radioterapia adyuvante, completando posteriormente con quimioterapia con los mismos esquemas que para el colon hasta completar los 6 meses de tratamiento (*SEOM, 2019*).

## 2.2.11 PREVENCIÓN.

### 2.2.11.1 Primaria: estilos de vida saludable.

La prevención primaria del CCR consiste en la realización de campañas informativas a la población general con el fin de promover hábitos y estilos de vida saludables para que, de este modo, disminuya, o al menos no aumente, el riesgo de desarrollar CCR.

Las principales recomendaciones en este sentido son:

- Moderar el consumo de carne roja y carne procesada, evitando cocinarla mucho.

- Dieta baja en grasas y rica en fibra, fruta, verdura, leche y productos lácteos.

El colesterol elevado puede ser un factor de riesgo para el CCR,

pero no se observaron relaciones significativas entre este último y la ingesta de grasa total, diversos ácidos grasos mayores o proteínas totales de la dieta (*Järvinen et al., 2001*).

Por otro lado, con respecto al uso de reductores del colesterol, como los inhibidores de la 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductasa (estatinas), en un estudio se asociaron con una reducción relativa en el riesgo de CCR del 47 % (*Poynter et al., 2005*) y, aunque no está claro que reduzcan de manera tan potente dicho riesgo, no se puede descartar una pequeña reducción en el riesgo o un efecto asociado con algunos tipos o dosis específicos de estatinas (*Jacobs et al., 2006*).

#### 2.2.11.1.1 Dieta mediterránea.

Todo lo anteriormente expuesto quedaría englobado en la adherencia a la dieta mediterránea, la cual ha sido transmitida de generación en generación desde hace muchos siglos, y está íntimamente vinculada al estilo de vida de los pueblos mediterráneos a lo largo de su historia. Se caracteriza por un alto consumo de aceite de oliva, productos lácteos, frutas frescas, frutos secos, verduras y cereales; un consumo moderado de pescado y aves de corral y una baja ingesta de carnes rojas, carnes procesadas y dulces, además del consumo de vino con moderación en las comidas.

Su importancia en la salud no se limita al hecho de que sea una dieta equilibrada, variada y con un aporte de macronutrientes adecuado; a los beneficios de su bajo contenido en ácidos grasos saturados y alto en monoinsaturados, así como en carbohidratos

complejos y fibra, hay que añadir los derivados de su riqueza en sustancias antioxidantes, polifenoles y otras sustancias beneficiosas de origen vegetal. De ahí que sea importante en la prevención de enfermedades hipertensivas y cardiovasculares (*Storniolo et al., 2017*), así como inflamatorias, incluido el cáncer.

A partir de un estudio sobre esta dieta en una población griega (*Trichopoulou et al., 1995 y 2003*) y del estudio PREDIMED (Prevención con Dieta Mediterránea), ensayo multicéntrico sobre riesgo cardiovascular realizado en España entre 2003 y 2009, coordinado por la Universidad de Navarra y el Centro de Investigación Biomédica en Red-Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBERObn), se ha validado un cuestionario para estudiar la adherencia de los pacientes a dicha dieta (*Estruch et al., 2018; Hebestreit et al., 2017*). En estos estudios se ha observado relación entre la adherencia a la dieta mediterránea y mortalidad total, mortalidad por cardiopatía coronaria y mortalidad por cáncer, con ajustes por edad, sexo, IMC, nivel de actividad física y otros factores de confusión potenciales.

#### 2.2.11.1.2 Fibra.

Por lo que respecta a la fibra, en un estudio reciente (*Yao et al., 2017*) se ha visto que el aumento de la ingesta de fibra dietética reduce la recurrencia de los pólipos adenomatosos en las personas con antecedentes de los mismos, en un período de 2 a 8 años. Sin embargo, estos resultados pueden ser poco confiables y deben interpretarse con cautela, no sólo debido a la alta tasa de pérdida de pacientes durante el seguimiento, sino también porque el pólipo

adenomatoso es un resultado que sustituye al verdadero objetivo, el CCR no observado. Por ello se necesitan ensayos a más largo plazo con niveles más altos de fibra dietética para permitir una conclusión segura.

#### 2.2.11.1.3 Otros.

- Ingesta adecuada de ácido fólico, calcio y vitamina D.
- Realizar ejercicio físico y evitar el sobrepeso y la obesidad.
- Evitar el consumo de tabaco y moderar el consumo de alcohol

(*Abad Esteve, 2009*).

- En cuanto a la quimioprevención, son varios los estudios que demuestran el efecto beneficioso de dosis moderadas diarias de antiinflamatorios no esteroideos (AINES): *Asano y McLeod (2004)* concluyen que la aspirina (AAS) y los AINES reducen de forma significativa la recurrencia de pólipos adenomatosos esporádicos tras 1 a 3 años. El uso regular de AAS a dosis igual o superior a 300 mg/día durante 5 años o más es efectivo en la prevención primaria del CCR, siendo la asociación menor y más inconsistente con dosis inferiores o si no se utiliza diariamente (*Flossmann y Rothwell, 2007*).

Otros estudios realizados con los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (celecoxib y rofecoxib) confirman también que éstos reducen la recurrencia de adenomas colorrectales (*Bertagnolli et al., 2006; Baron et al., 2006*). Hay pruebas de estudios a corto plazo que apoyan la regresión, pero no la eliminación o prevención de los pólipos (*Latchford et al., 2012*).

### 2.2.11.2 Secundaria: cribado del CCR.

Tiene como objetivo detectar el cáncer o los pólipos en una fase precoz, antes de que aparezcan síntomas y consiste en la realización del test de sangre oculta en heces (SOH). Su finalidad es evitar la aparición de CCR mediante la extirpación de las lesiones precursoras o pólipos antes de que degeneren y así disminuir la mortalidad por esta causa.

Se trata de un test inmunológico cuantitativo (con anticuerpos anti-hemoglobina humana) de detección de sangre específica de origen humano en heces. Permite detectar restos no visibles de sangre en las deposiciones, que puede indicar la presencia de un pólipo o un cáncer; cuando el resultado es positivo, debe realizarse una colonoscopia. En función del riesgo de cada persona de padecer un CCR, las estrategias de cribado pueden variar:

#### 2.2.11.2.1 Población de riesgo medio.

Incluye las personas de 50-69 años sin factores de riesgo para padecer este cáncer (no haber padecido CCR o pólipos en el pasado, y no tener ningún familiar con este cáncer); se recomienda su participación en el programa de cribado poblacional de CCR cada 2 años (*Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2013*).

En otros países de nuestro entorno europeo aconsejan realizar el screening del CCR con el SOH en heces más rectosigmoidoscopia flexible, al considerar que esta última es más sensible que la primera para detectar lesiones precancerosas en recto y colon distal (*US Preventive Services Task Force, 2002; Bretthauer M., 2010*).

Pese a la implantación en nuestro país en el año 2000 del Programa de Cribado del Sistema Nacional de Salud, programa bienal dirigido a esta población de riesgo medio, aún la cobertura no es del 100% de la población diana.

Con motivo del Día Mundial para la prevención del cáncer de colon, que cada año se conmemora el 31 de marzo, la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) continúa denunciando la situación de inequidad e injusticia en la implantación de programas de cribado de cáncer de colon que existe en España. En este sentido, la AECC advierte de que casi 6 millones de personas en España en edad de riesgo siguen sin acceso a los programas de cribado. El total de personas en edad de riesgo en España, es decir, entre 50 y 69 años, es de 11.644.571 y sólo alrededor del 50% de esta población estaría cubierta.

*El Observatorio del Cáncer AECC (2018)* ha presentado un informe de “Incidencia y mortalidad de cáncer de colon en Comunidades Autónomas y provincias en la población de edad de riesgo entre 50 y 69 años”. Sobre la base de este informe, se observa que hay comunidades autónomas como el País Vasco o la Comunidad Valenciana que tienen el 100% de la población en edad de riesgo cubierta y otras consideradas puntos negros de la cobertura de estos programas en España, porque su grado de implantación está por debajo del 20% de la población de riesgo: tres comunidades autónomas (Andalucía, Extremadura y Madrid) y dos ciudades autónomas (Ceuta y Melilla).

La evidencia científica ha demostrado que la detección precoz disminuye la mortalidad a corto plazo entre un 30 y un 35%, lo que en España equivaldría a salvar unas 4.000 vidas cada año. Además de salvar vidas, recuerda la AECC, también ahorran costes a las arcas del Estado; la prueba utilizada es sencilla y barata, capaz de detectar el tumor en sus etapas iniciales o las lesiones premalignas que lo originan; cuesta aproximadamente 2€ y si da positivo, lo que sucede entre el 6 y el 7% de la población cribada, se realiza una colonoscopia, que tiene como coste unos 180 €. El coste medio del tratamiento de un CCR en España supera los 27.000 €, que aumenta mucho más si contabilizamos las nuevas terapias biológicas y los tratamientos neoadyuvantes y quirúrgicos para la enfermedad metastásica. El coste de dar cobertura a toda la población de entre 50 y 69 años sería aproximadamente de 65 millones de €, lo que supone tan sólo un 6% del total gastado actualmente en su tratamiento (1.000 millones de € anuales).

#### 2.2.11.2.2 Familiares de pacientes con CCR esporádico.

En estos casos aumenta el riesgo de la enfermedad, por lo que la prueba de cribado apropiada es la colonoscopia. La edad de inicio y el intervalo entre pruebas depende del número de familiares afectados, la edad en que se diagnosticó y el grado de parentesco.

#### 2.2.11.2.3 Familiares de pacientes con CCR hereditario.

En estos casos hay un riesgo elevado de desarrollar CCR, por lo que se recomienda un seguimiento mediante colonoscopia en unidades especializadas (*Gómez-Gras, 2008*).

### 2.2.11.3 Terciaria: vigilancia.

Después del tratamiento radical del CCR es necesario realizar revisiones o controles periódicos para vigilar la evolución de la enfermedad, controlar los efectos secundarios o complicaciones tardías, si es que aparecen, y detectar de forma precoz nuevos pólipos o cánceres colorrectales. El riesgo de recaída es más elevado durante los 3 primeros años desde la cirugía y luego va disminuyendo progresivamente, aunque puede haber recidivas tardías más allá de los 5 años.

En general, las exploraciones complementarias consisten en una analítica con hemograma, bioquímica y MT, una radiografía de tórax, una ecografía o un TAC abdominal/abdominopélvico y una colonoscopia. La realización de PET-TAC no está indicada de forma rutinaria excepto en sospecha de recaída por las otras pruebas, o bien en aquellos pacientes que se van a someter a cirugía de metástasis hepáticas para descartar otras localizaciones metastásicas (*SEOM, 2018*).

En el caso de los pólipos (*Oncoguía de cáncer de colon y recto, 2008*):

- Los pacientes con 3 a 10 adenomas o algún adenoma avanzado (superior a 1 cm de diámetro, componente vellosos o displasia de alto grado) se deben repetir la colonoscopia de control a los tres años.
- A los pacientes con más de 10 adenomas en una primera exploración se les debe considerar la posibilidad de que se trate de un síndrome de poliposis familiar.

- Cuando los antecedentes familiares sugieren un síndrome de cáncer de colon hereditario, debe recomendarse la consulta a una unidad de consejo genético.

## **2.3 ESTRÉS OXIDATIVO.**

### **2.3.1 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO.**

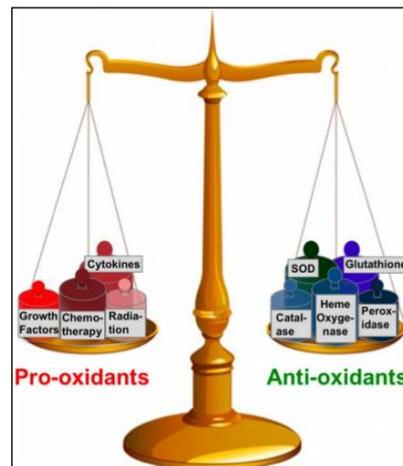
El oxígeno es el elemento químico más abundante en los seres vivos; forma parte de las biomoléculas, elemento importante para la respiración, formación del agua, causante de la combustión y producción de la energía del organismo. Como molécula, en forma de  $O_2$ , se encuentra en la atmósfera debido a la actividad fotosintética de primitivos organismos. Aunque es indispensable para la vida de los organismos aerobios, a altas concentraciones o bajo ciertas condiciones a concentración normal, llega a ser tóxico (una atmósfera de oxígeno puro produce daños irreparables en las células). A este hecho contrastante se le conoce como la “paradoja del oxígeno” (*Halliwell, 2013*). Pero el metabolismo celular se adaptó a usar la molécula de oxígeno como agente oxidante de los alimentos, abriendo así una nueva vía de obtención de energía mucho más eficiente que la anaeróbica.

La toxicidad del oxígeno se puede explicar por la formación de las EROs; en su forma molecular, el  $O_2$  o dioxígeno, es estable, poco reactivo, con una velocidad de reacción baja a temperatura fisiológica. Sin embargo, por reacciones puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir EROs, que incluyen iones de oxígeno, RL y peróxidos tanto inorgánicos como orgánicos. Los RL son especies

altamente reactivas, capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo y producir daño celular (*Martínez-Cayuela, 1995; Elejalde Guerra 2001*).

El balance oxidativo del organismo humano es esencial para la regulación metabólica, la producción de energía, la activación o inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular y el control del tono vascular, entre otros. En condiciones normales, los sistemas antioxidantes superan o están en equilibrio con los pro-oxidantes (figura 18), pero si el balance se desequilibra a favor de los últimos por la producción excesiva de EROs, junto con el debilitamiento de los sistemas antioxidantes, se induce la situación conocida como EO (*Martínez Sánchez, 2005*).

**Figura 18. Modelo de equilibrio entre pro-oxidantes y antioxidantes**  
(*Reuter et al., 2010*).



Hay que tener en cuenta que el metabolismo normal en presencia de oxígeno produce EROs, por lo que siempre va a existir un mínimo de EO, es decir, de daño celular (*Terman y Brunk, 2006*).

Dichas especies reactivas surgen como “accidentes químicos”, es decir, como reacciones secundarias no deseadas entre las biomoléculas (*Sen y Chakraborty 2011*); otras veces se generan in vivo con un fin determinado, como en el caso de los fagocitos activados, que producen  $O_2$  y  $H_2O_2$ .

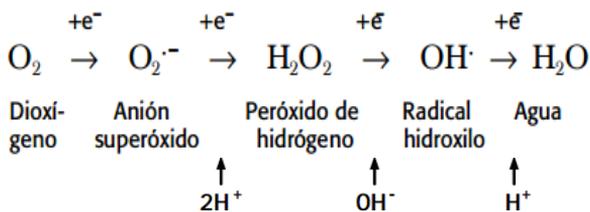
El EO se puede conocer a través de la medición de los productos de las reacciones oxidativas (peroxidación lipídica, oxidación del ADN, oxidación de proteínas), o mediante el conocimiento de la depleción de sustancias antioxidantes (*De la Peña Fernández A y Redondo Bellón, 1997*).

#### 2.3.1.1 Radicales libres.

La biogénesis de los RL es inherente a la naturaleza aeróbica de los seres vivos, siendo el resultado natural de la oxido-reducción de moléculas orgánicas (*Sáez Tormo, 2005*). Un RL es un átomo o molécula que contiene uno o más electrones desapareados en un orbital externo, es decir, en un nivel energético superior (*Augusto y Miyamoto, 2011*), ya sea por ganancia o pérdida de un electrón, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad e indiscriminada radioactividad. Es una entidad química desapareada (indicado como  $\cdot$ ), al contrario de la tendencia espontánea normal de los electrones localizados en los átomos y moléculas a formar parejas. Los RL son generalmente más reactivos que los no-radicales debido a su electrón desapareado, pero diferentes radicales varían ampliamente su reactividad. Esto los hace muy inestables, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse,

inespecíficamente en la mayoría de los casos, con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos.

Una de las características peculiares del oxígeno es el hecho de que tiene dos electrones desapareados, ocupando cada uno de ellos dos orbitales moleculares externos diferentes: esto le dificulta tomar dos electrones libres, ya que sólo puede recibir estos electrones de uno en uno para cada orbital molecular externo. Este tipo de estructura es llamado “estado basal o triplete” y explica por qué en su estado basal y a temperatura ambiente el oxígeno reacciona muy poco, a pesar del hecho de ser un birradical. En los pasos intermedios de la reducción del oxígeno a agua, a la adición sucesiva de electrones a la molécula de  $O_2$  se le conoce como “reducción univalente” y produce especies parcialmente reducidas de oxígeno (figura 19): radical anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ).



**Figura 19. Especies parcialmente reducidas de oxígeno**  
(Cárdenas-Rodríguez y Pedraza-Chaverri, 2006).

Además, el oxígeno molecular en su estado fundamental puede ser excitado electrónicamente hacia el oxígeno molecular singlete ( $^1O_2$ ). Se pueden formar otras especies reactivas cuando el oxígeno

se combina con otros átomos o moléculas, como radical alcoholilo ( $\text{RO}^\bullet$ ), radical peroxilo ( $\text{ROO}^\bullet$ ), radical óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ), triclorometilo ( $\text{CCl}_3^\bullet$ ) y radical lípido peroxilo ( $\text{LOO}^\bullet$ ), entre otros.

Las especies no radicales, como peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ), ozono ( $\text{O}_3$ ), hidroperóxido lipídico ( $\text{LOOH}$ ), oxígeno singlete y peroxinitrito son de baja reactividad, pero en presencia de metales de transición (hierro y cobre) pasan a radical  $\text{HO}^\bullet$ , que es la especie oxigénica más reactiva y tóxica, dada su elevada capacidad para reaccionar con las distintas biomoléculas.

La vida media de las principales EROs es sumamente variada (tabla 4):

Especies reactivas	Tiempo de vida media
$\text{HO}^\bullet$	$10^{-9}$ segundos
$\text{RO}^\bullet$	$10^{-6}$ segundos
$\text{ROO}^\bullet$	7 segundos
$\text{ONOO}^-$	0 -1 segundo
$\text{NO}^\bullet$	1-10 segundos

**Tabla 4. Tiempos de vida estimados para especies reactivas** (Sies, 1993).

Las constantes de velocidad más altas para las reacciones con moléculas blanco fueron encontradas para el radical  $\text{HO}^\bullet$ . Las reacciones de este radical son de difusión limitada, ocurriendo prácticamente en el sitio de generación. En contraste, muchos de los radicales  $\text{ROO}^\bullet$  son relativamente estables, con una vida media en el rango de segundos. Tales moléculas pueden difundir desde su sitio

de formación y transportar el radical o función oxidante hacia otros sitios blancos.

El anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) es el mayor reductor de todos; la simple adición de un protón da lugar a la formación del radical hidropéroxido ( $HO_2^{\cdot}$ ), convirtiéndose en un agente oxidante muy activo, selectivo y específico. El  $O_2^{\cdot -}$  no es particularmente reactivo a lípidos, glúcidos o ácidos nucleicos y exhibe reactividad limitada con determinadas proteínas, las que contienen metales en su grupo prostético. El radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ), sin embargo, reacciona con cualquier molécula cercana, sin especificidad alguna.

Los tres componentes con mayor capacidad de difusión son el radical superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, capaces de reaccionar con moléculas que se encuentran alejadas del lugar de origen, incluso con capacidad de atravesar membranas celulares.

Las especies oxigénicas reactivas tienen un origen tanto endógeno, de la propia célula, como exógeno (*Freeman y Crapo, 1982*):

#### 2.3.1.2 Fuentes endógenas.

Una misma célula tiene potencialmente más de una fuente de producción de RL; las fuentes endógenas pueden ser varias:

- Cadena de transporte electrónico mitocondrial (cadena respiratoria): es probablemente la fuente más importante de oxígeno reactivo en condiciones normales en organismos aeróbicos, por pérdida de oxígeno activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa. Está formada por

una serie de transportadores de electrones situados en la cara interna de las crestas mitocondriales y que son capaces de transferir los electrones procedentes de la oxidación del sustrato hasta el oxígeno molecular, que se reducirá formándose agua. Como resultado de esta transferencia de electrones, los transportadores se oxidan y se reducen alternativamente, liberándose una energía que en algunos casos es suficiente para fosforilar el ADP y formar una molécula de ATP; se trata de la fosforilación oxidativa. En los tejidos sanos son las mitocondrias una de las principales fuentes de RL, hecho descrito hace ya más de cuatro décadas (*Loschen et al., 1971*) y constituyendo, por tanto, la principal fuente fisiológica de EROs. Esto se debe a que las alteraciones mitocondriales como la producción de EROs, la interrupción de la cadena de transporte de electrones y las disminuciones en la síntesis de ATP han demostrado estar involucradas en las diferentes manifestaciones de la muerte celular (*Bras et al., 2005*).

- Cadena de transporte electrónico del retículo endoplasmático y membrana nuclear. Ambos sistemas de membranas contienen citocromos P450, capaces de producir superóxido que pueden oxidar ácidos grasos insaturados y xenobióticos (*Dostalek et al., 2008*). De hecho, los citocromos P450 son los más poderosos oxidantes in vivo, aunque también pueden actuar como agentes reductores.

- Las células fagocitarias (monocitos, neutrófilos, macrófagos), poseen diversas enzimas (sistema de la NADPH oxidasa y óxido nítrico sintasa) como mecanismo de defensa frente a los

microorganismos, generando directamente radical superóxido y óxido nítrico, compuesto que reacciona con el ion superóxido para generar peroxinitrito, el cual en medio ácido es capaz de generar ión hidroxilo, de reconocida naturaleza deletérea celular (*Ferraro y López-Ortega, 2002; Kirkham, 2007*).

- La autooxidación de compuestos de carbono reducidos, aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos, así como de pequeñas moléculas, existiendo en la célula una gran variedad de componentes solubles capaces de producir reacciones de reducción, tales como los tioles, hidroquinonas, catecolaminas, flavinas y tetrahidropterinas.

- La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario como la hipoxantina y xantina oxidasa, aldehído oxidasa, ciclooxigenasa o lipoxigenasa son otras fuentes. El peróxido de hidrógeno es producido por una amplia variedad de estas oxidasas, incluidas las monooxigenasas (*González San José et al., 2001*).

- Reacción de Fenton y Haber-Weiss. Consiste en la reducción del  $H_2O_2$  por iones de metales de transición, sobre todo el ión ferroso ( $Fe_2^+$ ) y el cuproso ( $Cu^+$ ), para generar radical hidroxilo (*Leonard et al., 2004*). También a partir del peróxido de hidrógeno y en presencia del radical superóxido puede formarse radical hidroxilo, por la reacción de Haber-Weiss (*Liochev y Fridovich, 1994*).

- Otros metales tales como el cobre, cromo, vanadio y cobalto son capaces de hacer ciclos redox en los que un solo electrón puede ser aceptado o donado por el metal. Esta acción cataliza reacciones

que producen radicales y puede producir EROs. Algunas de las menos reactivas de estas especies (como el superóxido) pueden ser convertidas por una reacción redox con metales de transición en quinonas, especie radical más agresiva que puede causar extenso daño celular. Las quinonas pueden hacer en algunos casos un ciclo redox con sus conjugados semiquinonas e hidroquinonas, catalizando la producción de superóxido desde peróxido de hidrógeno.

- El EO generado por el agente reductor ácido úrico puede estar implicado en el síndrome de Lesch Nyhan, accidentes cerebrovasculares y el síndrome metabólico. Del mismo modo se producen EROs en presencia de homocisteína en la homocisteinuria.

#### 2.3.1.3 Fuentes exógenas.

El organismo también está expuesto a RL procedentes de fuentes externas:

- Ambientales: humo del tabaco (*Cross et al., 1987*), radiaciones electromagnéticas, luz solar, ozono, polución ambiental, pesticidas, solventes, hidrocarburos aromáticos y anestésicos.

- Farmacológicas: drogas, xenobióticos y agentes antineoplásicos, tales como la adriamicina, bleomicina, daunorrubicina, cisplatino, oxaliplatino (*Kopetz et al., 2009; Meynard et al., 2007*). Algunos de los efectos de estas drogas se han atribuido a su capacidad para reducir el oxígeno a superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo.

- Nutricionales: contaminantes, aditivos, etc (*Ames, 1983*).

Cada célula está caracterizada por una concentración de electrones, también denominado estado redox, cuya oscilación determina un gran número de funciones fisiológicas controladas por vías de señalización respondedoras a este nivel de oxidorreducción. Este estado se mantiene con un estrecho margen de variación, similar a la forma en que se regulan los niveles de pH. En general, los niveles moderados de EROs pueden funcionar como señales para promover la proliferación y supervivencia celular, mientras que un aumento severo de EROs puede inducir la muerte celular (*Trachootham et al., 2008*).

Los RL son, por tanto, necesarios para el buen funcionamiento celular, pudiendo actuar en transducción de señales, activación enzimática, síntesis de ADN y ARN, proliferación celular, modificaciones proteicas post-transduccionales, diferenciación y apoptosis (*England y Cotter, 2005*).

La sobreproducción de RL origina EO, induciendo un daño por la interacción de éstos con distintas macromoléculas biológicas como lípidos (tanto ácidos grasos poliinsaturados de membrana como colesterol), proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos, generando reacciones en cadena de RL, en las que se generan nuevos RL (*Valko et al., 2007*).

Se ha estimado que una célula humana está expuesta aproximadamente a  $1,5 \times 10^5$  oxidaciones/día como consecuencia de la acción de los distintos tipos de RL (*Beckman y Ames, 1997*).

Debido a su implicación en el desencadenamiento de la muerte celular, irónicamente las EROs también se utilizan para matar a las

células cancerosas, constituyendo un arma de doble filo en la determinación del destino celular, por lo que se han propuesto terapias pro-oxidantes para el tratamiento de cánceres (*Wang y Yi, 2008*).

### 2.3.2 DAÑO CELULAR PRODUCIDO POR LAS EROs.

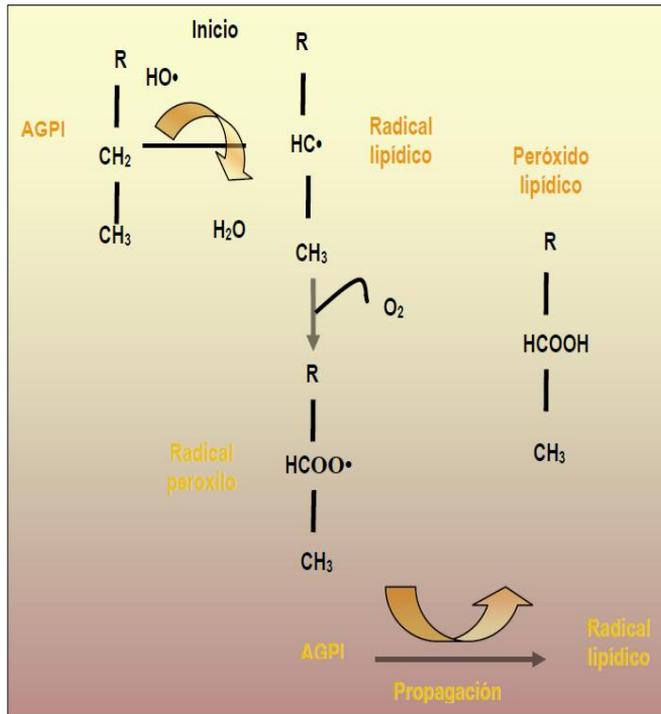
Niveles elevados de EROs son perjudiciales para la célula debido a que pueden reaccionar con biomoléculas como lípidos, ácidos nucleicos y proteínas e inactivar su función (*Pisoschi y Pop, 2015*).

#### 2.3.2.1 Lípidos.

El proceso de ataque oxidativo a los lípidos se denomina peroxidación lipídica y tiene lugar fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), componentes esenciales de las membranas celulares, siendo importante porque se ven alteradas propiedades como la fluidez, el potencial y la permeabilidad iónica de la membrana, conduciendo finalmente a una pérdida de la integridad de la misma.

La secuencia de la reacción se inicia por la acción de un oxidante energético, como el radical hidroxilo ( $\text{HO}^\bullet$ ), que extrae un átomo entero de hidrógeno (electrón y protón) de uno de los átomos de carbono de un AGPI. Ello crea un radical con centro carbono ( $\text{C}^\bullet$ ), que luego se transforma en un radical peroxi con centro de oxígeno ( $\text{COO}^\bullet$ ), el cual a su vez puede extraer un átomo de hidrógeno de un ácido graso adyacente e iniciar así una reacción en cadena autoalimentada, que prosigue hasta que se agote el sustrato, es

decir, se agote el ácido graso o algo interfiera en la reacción de propagación (figura 20).



**Figura 20. Peroxidación lipídica** (Meisenberg y Simmons, 2018).

Ésta es una reacción en cadena, teniendo lugar en tres fases: iniciación, propagación y terminación. Así, esta peroxidación lipídica puede iniciarla el radical hidroxilo, el radical hidroperoxilo y quizá el oxígeno singlete, pero no el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno, que son menos reactivos.

El RL extrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena del ácido graso, dejando un electrón no apareado, con lo cual se genera un radical lipídico; éste sufre

rápidamente un reordenamiento molecular para producir un dieno conjugado que reacciona con el oxígeno molecular produciendo un radical hidroperoxilo. Este radical puede a su vez extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado para formar un nuevo radical lipídico y un hidroperoxido lipídico. El radical lipídico entonces se combina con otra molécula de oxígeno y continúa la reacción en cadena.

Los productos finales de este proceso de peroxidación lipídica son aldehídos gases hidrocarbonatos y varios residuos químicos, como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE).

Los RL atacan a los AGPI de las membranas celulares y lipoproteínas transformándolos en ácidos grasos peroxidados, los cuales sufren un acortamiento de su cadena lateral liberando MDA; éste, a su vez, puede reaccionar con lípidos y proteínas durante la peroxidación lipídica para formar bases de Schiff conjugadas, productos fluorescentes insolubles que se acumulan en el interior de los lisosomas, formando el pigmento conocido con el nombre de lipofucsina, reconocido marcador morfológico de envejecimiento, ya que se acumula en los tejidos con la edad (*Hutter et al., 2007*).

La peroxidación lipídica puede tener efectos profundos sobre las funciones celulares, pues afecta a las membranas, produciendo cambios en la fluidez, aumento de la permeabilidad, disminución del potencial de membrana y finalmente su rotura. Además, los productos de degradación pueden difundir lejos de su lugar de producción y provocar edema celular, además de influir sobre la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis. Asimismo,

pueden alterar la actividad de fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, con la subsiguiente formación de prostaglandinas y endoperóxidos.

#### 2.3.2.1.1 F2-Isoprostanos.

Otros marcadores de peroxidación lipídica emergentes son los F2-Isoprostanos, peróxidos cíclicos de la familia de los eicosanoides, grupo de moléculas de carácter lipídico originadas de la oxidación de los ácidos grasos esenciales de 20 átomos de carbono, agrupados en prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y ciertos hidroxiácidos precursores de los leucotrienos.

Los F2-Isoprostanos son isómeros de las prostaglandinas, pero a diferencia de éstas, se producen como producto final de la peroxidación de ácidos grasos esenciales (principalmente ácido araquidónico) sin la acción directa de la enzima ciclooxigenasa (COX), reacción inducida por los RL. Las primeras especies de isoprostanos descubiertas eran isómeros de la prostaglandina F2 $\alpha$ , por lo que se denominaron F2-Isoprostanos. Desde entonces se han identificado otros isoprostanos con diferentes estructuras en anillo, así como isoprostanos de diferentes ácidos grasos poliinsaturados, incluyendo los ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico. El descubrimiento de estas moléculas in vivo en humanos ha sido una contribución importante en el campo de la oxidación de lípidos y la investigación de RL en el transcurso de los últimos 25 años. Se ha determinado que estas moléculas son tanto biomarcadores como mediadores de EO en numerosos entornos de la enfermedad (Czerska *et al.*, 2016). La formación de isoprostanos causa una clara

distorsión de la membrana plasmática, dando lugar a cambios en su fluidez e integridad. Además, se ha demostrado que la presencia de valores elevados de isoprostanos induce citotoxicidad en células en cultivo (*Clària et al., 2008*).

Una vez que se escinden la membrana lipídica por la acción de fosfolipasas, pueden circular por diversos fluidos corporales y finalmente se excretan por orina, donde pueden ser determinados. Han sido utilizados como biomarcadores en la obesidad, lesión por isquemia-reperfusión, trastornos del sistema nervioso central, cáncer y trastornos genéticos (*Milne et al., 2015*).

#### 2.3.2.2 Proteínas.

La oxidación proteica se define como la modificación covalente de una proteína inducida por especies reactivas. Los cambios oxidativos en las proteínas pueden comportar diversas consecuencias en su función, como inhibición de la actividad enzimática, incremento de la susceptibilidad a la agregación y proteólisis, aumento o disminución de la captación celular y alteración de la inmunogénesis. Aminoácidos, péptidos y proteínas son susceptibles de ser sustrato de las EROs, que pueden oxidar directamente las proteínas o bien originar derivados oxidados de tipo lipídico o glucídico que reaccionen con los grupos funcionales de las proteínas (*Stadtman y Berlett, 1998*).

La oxidación de las proteínas puede implicar la escisión de la cadena de polipéptidos, la modificación de las cadenas laterales de aminoácidos y la conversión de la proteína en derivados que son altamente sensibles a la degradación proteolítica. Una primera etapa

implica la oxidación de los residuos de aminoácidos que conlleva una desaminación o decarboxilación del aminoácido, además de generar fenómenos de pérdida de actividad de la proteína por una progresiva desnaturalización, un incremento de la hidrofobicidad y/o una agregación de proteínas.

Todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de ser atacados por los RL, sobre todo por el radical hidroxilo. La acción de los RL sobre las proteínas puede ser reversible o irreversible, ejerciéndose fundamentalmente sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol (-SH). De esta forma, proteínas ricas en determinados aminoácidos (triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína) pueden sufrir modificaciones estructurales y funcionales, siendo los que más procesos oxidativos sufren (*Stadtman, 2006*).

Esta oxidación puede dar lugar a un cambio conformacional de la proteína y, por tanto, a una pérdida o modificación de su función biológica. En condiciones anaeróbicas, los RL promueven un entrecruzamiento considerable entre proteínas, mientras que en presencia de oxígeno los RL provocan una gran fragmentación de la cadena peptídica (*Stadtman, 2006*). Los grupos sulfhidrilo pueden ser transformados en puentes disulfuro (S=S), produciéndose la inactivación enzimática (si la proteína es un enzima). En otros casos, en los que las proteínas son estructurales, como el colágeno, las fibrillas se pueden romper por el radical superóxido e hidroperóxido, proceso que puede constituir el punto de partida para la acción de proteasas y facilitar la pérdida de estructura de la triple hélice del

colágeno. Como resultado de estas interacciones se produce un incremento de grupos carbonilo de las cadenas laterales de los aminoácidos y un descenso de grupos tiol en el entrecruzamiento entre cadenas peptídicas o en la fragmentación de enlaces peptídicos. Esta oxidación puede dar lugar a una pérdida o modificación de la actividad biológica de las proteínas y alterar su recambio, estando asociado con un número de enfermedades relacionadas con el envejecimiento (*Reeg y Grune, 2015*).

La acumulación de proteínas oxidadas relacionada con la edad puede reflejar aumentos en las tasas de generación de EROs, disminución en las actividades antioxidantes o pérdidas en la capacidad de degradar las proteínas oxidadas.

#### 2.3.2.3 Glúcidos.

Los glúcidos reaccionan con facilidad con el radical hidroxilo. Los mono y disacáridos resisten la acción de las EROs; la glucosa constituye un captador del radical superóxido, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas, mientras que la manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo.

El daño oxidativo a los glúcidos reviste importancia cuando se trata de polisacáridos de función estructural, ya que los polisacáridos son despolimerizados por los RL, dando lugar a procesos degenerativos (*Duan y Kasper, 2011*).

Se ha observado una relación directa entre los RL y el EO con la diabetes mellitus (DM), así como también con sus complicaciones. A través de la hiperglucemia, la hiperlipidemia, la hipertensión y la posible alteración de la homeostasis del hierro, la diabetes induce

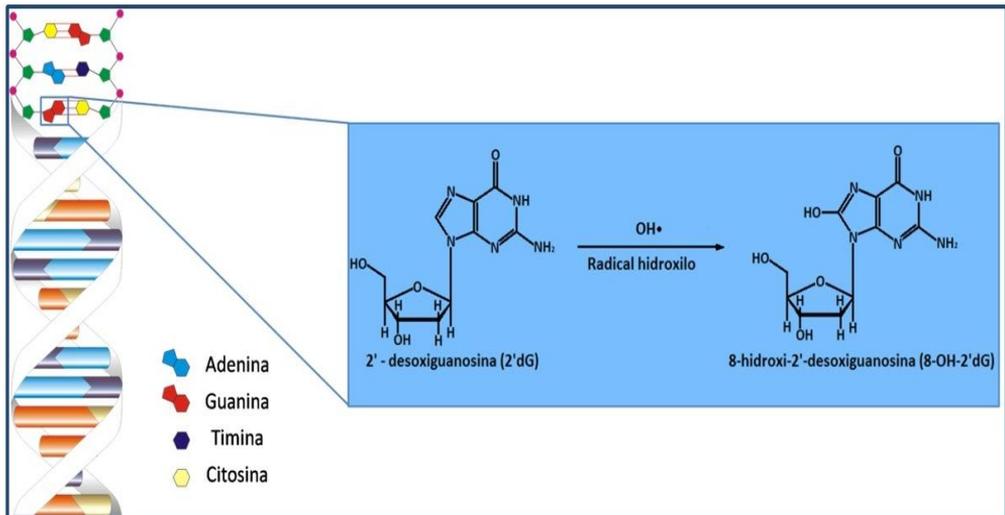
EO que causa daño a múltiples órganos. Se postula que una anormal regulación en el metabolismo de los peróxidos y los metales de transición colabora en el establecimiento de la enfermedad, así como en las complicaciones que aparecen a largo plazo (*Asmat et al., 2016*).

#### 2.3.2.4 ADN.

El ADN también es susceptible de daño oxidativo en todos sus componentes. En presencia de oxígeno, se forman radicales peroxilo por adición de oxígeno a las bases o al azúcar (residuos desoxirribosa) del ADN. Las reacciones posteriores de los radicales formados en el ADN dan lugar a un gran número de efectos, que incluyen rotura de cadenas y pérdida/modificación de bases. También se forman puentes cruzados ADN-proteína (*Cooke et al., 2003*).

Los principales productos de daño del ADN oxidativo incluyen 8-oxo-7,8-dihydroadenina (8-oxo-A), 8-oxo-7,8-dihydroguanina (8-oxo-G), 8-oxo-7,8-dihydro-desoxiguanosina (8-oxodG) y 5,6-dihidroxi-5,6-dihidrotimina, así como las lesiones de anillo abierto de 4,6-diamino-5-formamido-pirimidina y 2,6-diamino-4-hidroxi-5-formamido-pirimidina.

La guanina es la base nitrogenada más fácil de oxidar por el principal RL implicado en el daño oxidativo, el radical hidroxilo, siendo la 8-oxodG una de las modificaciones de base más frecuentes y predominantes de las lesiones oxidativas del ADN inducidas por los RL; se produce en aproximadamente 1/105 residuos de guanina en una célula humana normal (*Grigorov, 2012*):



**Figura 21. Formación de la 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina**

(Cat et al., 2013).

#### 2.3.2.4.1 8-oxo-7,8-dihidro-desoxiguanosina.

Este producto del ADN oxidado se considera importante porque se forma con relativa facilidad, es mutagénico y carcinogénico, siendo un buen biomarcador de EO ampliamente utilizado (Valavanidis et al., 2009) y potencial biomarcador de la carcinogénesis. Las mutaciones que pueden surgir debido a la formación de 8-oxodG involucran transversiones GC $\Rightarrow$ TA, que se encuentran con frecuencia en genes relevantes para tumores (Loft y Poulsen, 1996). Es generada por una amplia variedad de agentes con diferentes mecanismos de acción, siendo biológicamente significativa, ya que induce mutaciones y posee sistemas específicos de reparación.

El daño oxidativo del ADN es importante en el envejecimiento y en las enfermedades degenerativas como el cáncer (*Cerdá Mico, et al., 2009*). Los productos de reparación de estas lesiones se excretan en la orina en cantidades correspondientes a una tasa de daño de hasta  $10^4$  modificaciones en cada célula todos los días. Además, se sugieren niveles altos de 8-oxodG y posiblemente otras lesiones del ADN como factores de riesgo asociados con la transformación de tumores benignos a tumores malignos. Además, se sabe que las lesiones de la 8-oxodG inducen modificaciones anormales en el ADN adyacente, un mecanismo que contribuye significativamente a la inestabilidad genética y al potencial metastático de las células tumorales.

Un daño moderado del ADN puede detener el ciclo celular o bien disparar mecanismos de reparación para conservar la integridad del mismo; no obstante, si este daño es excesivo, se pueden poner en marcha procesos que inducen apoptosis y muerte celular. Hay dos mecanismos de reparación:

- Reparación por escisión de nucleótidos (REN). Este sistema actúa principalmente sobre genes transcripcionalmente activos, por lo que se dice que está acoplada a la transcripción. En este tipo de reparación se puede eliminar una cadena sencilla de ADN dañado con una longitud de 24-30 pares de bases que posteriormente se rellenan con una ADN polimerasa y una ADN ligasa.

- Reparación por escisión de bases (REB). Este proceso elimina una base o una secuencia corta conteniendo la base dañada; puede implicar la escisión de nucleótidos, pero a diferencia de la REN,

siempre comienza con la escisión de la base modificada por la hidrólisis del enlace N-glucosídico. Implica la acción de una ADN-N-glucosidasa para eliminar la base modificada y una endonucleasa para eliminar la ribosa sin base. En el caso de la 8-oxodG (figura 22), la presencia de este producto de oxidación de la guanina en el ADN (8-OHdG) causa transversiones de G:C a T:A.

Las ADN glicosilasas humanas hOGG1 (8-oxoguanina glicosilasa) y MutYH (mutY Homolog (*E. coli*)) la eliminan de los pares de bases: 8-OHdG:C y 8-OHdG:A, respectivamente (*David et al., 2007*):



**Figura 22. Ruta de la reparación de la escisión de la base 8-oxodG** (*David et al., 2007*).

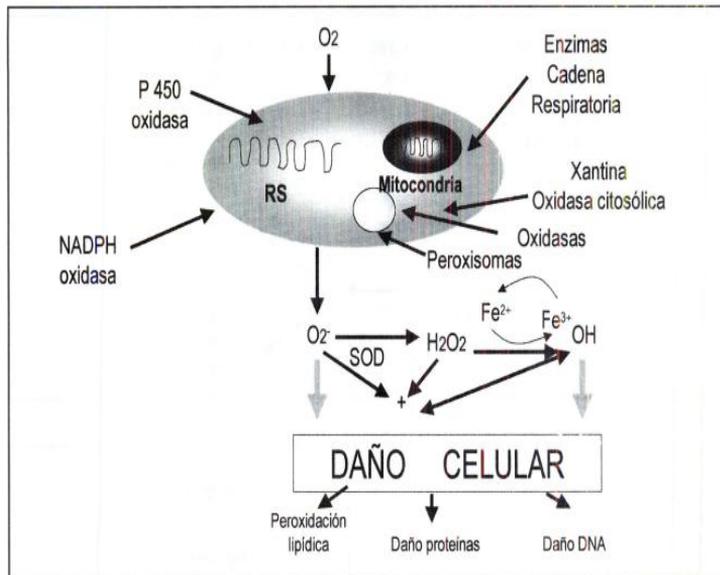
Cuando la replicación del ADN dañado tiene lugar antes de la reparación o cuando el ADN dañado se repara de manera incorrecta, tiene lugar una mutación. A pesar de la extensa reparación, el ADN

modificado por oxidación es abundante en tejidos humanos, en particular en tumores, es decir, de 1 a 200 nucleósidos modificados por  $10^5$  nucleósidos intactos. Los nucleósidos dañados se acumulan con la edad, tanto en el ADN nuclear como en el mitocondrial.

Fracciones significativas de oxígeno (aproximadamente el 2%) son convertidas a EROs en y alrededor de las mitocondrias, el sitio de mayor generación de éstos en la célula; las grandes cantidades de ATP necesarias para el mantenimiento de la vida aeróbica se generan predominantemente por oxidación fosforilativa en las mismas, un proceso que resulta en la conversión de oxígeno a radical superóxido, peróxido de hidrógeno y EROs relacionados (*Inoue et al., 2003*).

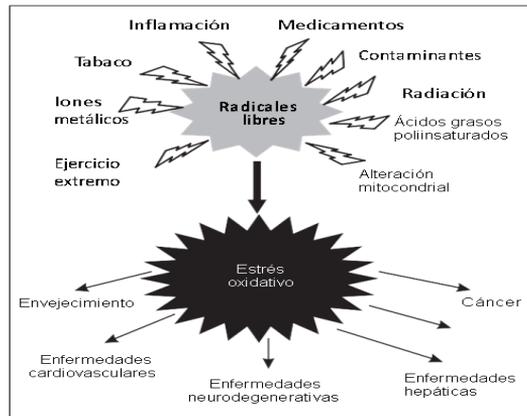
El daño del ADN mitocondrial es más extenso y persiste más tiempo que el del ADN nuclear tras el EO. Las mutaciones en el ADN mitocondrial se acumulan más fácilmente que en el nuclear y pequeños cambios en la secuencia del mismo podrían provocar un profundo deterioro de sus funciones. Estas mutaciones podrían generar ARN y/o proteínas anormales, pudiendo promover la fuga de electrones de las cadenas de transporte mitocondriales. Las cantidades de EROs producidas endógenamente podrían aumentar en células con ADN mitocondrial mutante; esta modificación oxidativa del ADN puede contribuir a la iniciación y/o promoción de la carcinogénesis (*Yakes y Van Houten, 1997*).

Un resumen gráfico del daño causado por los RL se observa en la figura 23:



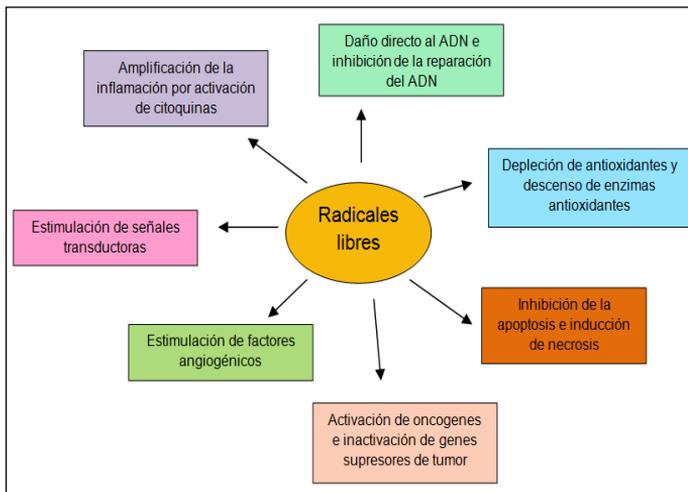
**Figura 23. Daño celular mediado por radicales libres** (Gómez EA, 2001).

Por todo lo señalado, el EO es considerado un factor etiológico importante de muchos procesos patológicos en el ser humano e incluso fisiológicos, como el envejecimiento (Figura 24). Así, se le ha relacionado con la insuficiencia renal crónica y algunas enfermedades renales agudas, arterioesclerosis, hipertensión arterial, las complicaciones a largo plazo de la diabetes mellitus (Calderón Salinas et al., 2013; Li et al., 2013) y entidades con resistencia a la insulina, como el síndrome de ovario poliquístico (Bañuls et al., 2017), enfermedades cardiovasculares, hepáticas, neurodegenerativas y sobre todo y especialmente con la carcinogénesis (Valko et al., 2007; Valavanidis et al., 2009; Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez, 2013):



**Figura 24. Generación exógena de radicales libres y efectos adversos del estrés oxidativo en la patogénesis de enfermedades (Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez, 2013).**

Cada vez hay más pruebas que demuestran que la inflamación crónica provocada por el EO induce daño al ADN, promoviendo diversos cánceres humanos (Federico et al, 2007; Nakad y Schumacher, 2016) cuyos mecanismos patogénicos se observan en la siguiente figura:



**Figura 25. Papel de los radicales libres en la carcinogénesis (adaptado de Federico et al., 2007).**

Este daño oxidativo se puede medir por métodos directos e indirectos; entre los primeros se encuentra la medición de la concentración de agentes oxidantes, lo cual es muy difícil por su corta vida media y lo costoso de los equipos, por lo que son más factibles los indirectos: 1- Determinación de productos terminales de la acción oxidante sobre biomoléculas (sobre proteínas, ADN y lípidos). 2-Medición de la concentración de antioxidantes (enzimas) y 3-Medición del estado antioxidante total (*Pérez Gastel y Pérez de Alejo, 2000*).

### 2.3.3 MECANISMOS DE PROTECCIÓN CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO (ANTIOXIDANTES).

Los organismos vivos están constantemente expuestos a numerosos desafíos (en el ambiente interior o exterior) que puede afectar significativamente al potencial redox de sus células. Por lo tanto, han desarrollado varios mecanismos protectores que proporcionan a las células una enorme capacidad de homeostasis redox.

Según Halliwell (2013) podemos definir antioxidante como “cualquier sustancia que, en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación de este sustrato”. El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de éste. No obstante,

también existen sustancias que tienen poca actividad específica antioxidante, pero que, a altas concentraciones, contribuyen significativamente al potencial antioxidante de una célula o sistema. Ejemplos de este último caso son los aminoácidos, péptidos y proteínas.

Su acción la ejercen en un determinado microambiente, que puede ser la membrana plasmática, el citosol, el núcleo o el líquido extracelular y la pueden realizar tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos.

Estos mecanismos protectores antioxidantes se pueden dividir en tres niveles de defensa (*Sies, 1993; Ighodaro y Akinloye, 2018*):

- El primer nivel o preventivo evita la formación de los RL, es de naturaleza enzimática y constituye la primera defensa del organismo frente a las EROs; está representado por tres enzimas: la catalasa (CAT), superóxido la dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx). Son muy rápidas para neutralizar cualquier molécula con el potencial de convertirse en un RL o actuar sobre cualquier RL con capacidad de inducir la producción de otros radicales. Este nivel también incluye proteínas de unión a iones metálicos como transferrina y ceruloplasmina, que quelan o secuestran hierro y cobre respectivamente, evitando, en consecuencia, la formación de RL.

- El segundo nivel, de intercepción o secuestradores, que estabilizan los RL y pueden ser endógenos (glutatión) o exógenos (vitaminas y polifenoles); incluye antioxidantes a menudo

denominados “eliminadores de residuos” (scavengers). Eliminan los radicales activos para inhibir el inicio de la cadena y romper las reacciones de propagación de la misma. Neutralizan o eliminan los RL mediante la donación de electrones a los mismos y en el proceso se convierten propiamente en RL, pero de efectos menos dañinos. Estos "nuevos radicales" son fácilmente neutralizados y convertidos en inofensivos completamente por otros antioxidantes de este grupo. Pertenecen a esta categoría: glutatión, ácido ascórbico y ácido úrico, que son hidrofílicos; alfa tocoferol (vitamina E) y ubiquinol, que son lipófilos.

- El tercer nivel de defensa, reparador o de eliminación, reconoce el daño oxidativo y lo repara o elimina; sólo entra en juego después de que se haya producido el daño por parte de los RL. Son enzimas de novo que reparan el daño causado por los RL a las biomoléculas y reconstituyen la membrana celular dañada. También hacen una especie de "servicio de limpieza": reconocen, descomponen y eliminan proteínas, carbohidratos, ADN y lípidos oxidados o dañados, para prevenir que su acumulación pueda ser tóxica para los tejidos corporales. Incluyen los sistemas de enzimas reparadoras de ADN (polimerasas, ligasas, glicosilasas y nucleasas), enzimas proteolíticas (proteinasas, proteasas y peptidasas) y endo y exonucleasas, que se encuentran tanto en el citosol como en las mitocondrias de las células de los mamíferos. Por ejemplo, la reparación y la eliminación del ADN que contiene bases oxidadas in vivo es regulado por ADN glicosilasas, principalmente a través de la reparación por escisión de base (REB), aunque en ciertos tipos de

oxidación las lesiones también parecen ser reparadas por escisión de nucleótidos (REN) y reparación de errores (MMR o *Mismatch Repair*).

Un resumen de los tres niveles de antioxidantes se observa en la siguiente figura:



**Figura 26. Esquema del mecanismo de acción de los antioxidantes.**

Cuando se produce EO las células son capaces de inducir una respuesta adaptativa. Por una parte, habrá una estimulación de la defensa antioxidante mediante la activación de factores de transcripción o bien por la inducción inmediata de genes, dando lugar a la producción de las enzimas antioxidantes; por otra parte, habrá una represión del sistema productor de EROs, fundamentalmente mediante la inhibición de la actividad mitocondrial.

Este sistema es requerido intra y extracelularmente y, actuando a través de diversos componentes enzimáticos y no enzimáticos,

consigue contrarrestar la acción tanto de los pro-oxidantes derivados del metabolismo celular como de aquellos presentes en nuestra dieta (*Lobo et al., 2010; Wahlqvist, 2013*).

### 2.3.3.1 Antioxidantes enzimáticos.

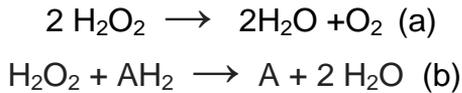
En general, las enzimas que componen el sistema antioxidante suponen la principal defensa intracelular. Muchas de ellas son metaloenzimas que dependen de minerales aportados por la dieta para realizar su función.

La enzima SOD también ejerce su función antioxidante de forma indirecta previniendo la liberación de iones de hierro desde los clusters hierro-sulfuro y, por tanto, evitando la descomposición de  $H_2O_2$  en  $HO^\bullet$  mediada por iones de hierro (reacción de Fenton), así como otros fenómenos mediados por iones metálicos como la lipoperoxidación y la fragmentación de ADN.

#### 2.3.3.1.1 Catalasa.

La CAT, enzima EC.1.11.1.6, es una proteína tetramérica compuesta por cuatro subunidades similares de 240 kDa codificada por el gen *ctt1* en el cromosoma 11, que utiliza como cofactores el grupo hemo y el manganeso; se localiza en los peroxisomas de las células aeróbicas y en las mitocondrias, aunque en el eritrocito se encuentra en la fracción soluble del citoplasma.

Presenta dos tipos de actividad: actividad *catalasa* (a), facilitando la descomposición del peróxido de hidrógeno para dar oxígeno y agua, y actividad *peroxidasa* (b), que supone oxidación de dadores de hidrogeniones como el metanol, etanol, ácido fórmico o fenoles, con el consiguiente consumo de peróxido:



Fisiológicamente cumple un papel fundamental en la detoxificación del peróxido de hidrógeno producido por algunas enzimas localizadas en los peroxisomas, como la amino-oxidasa, mitigando así sus efectos tóxicos. Tiene una de las tasas de turnover más altas de todas las enzimas: una molécula de catalasa puede convertir aproximadamente 6 millones de moléculas de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno por minuto (*Rahman, 2007*); su actividad varía enormemente en función del tejido: es muy alta en hígado y riñón y muy baja en el tejido conectivo.

### 2.3.3.2 Antioxidantes no enzimáticos.

#### 2.3.3.2.1 Antioxidantes endógenos.

Se agrupan en diversos tipos de moléculas, cuya acción defensiva dependerá, en algunos casos, de una interacción directa sobre la especie reactiva para rendir complejos estables o de menor reactividad siendo, por tanto, componentes que reaccionan directamente con agentes oxidantes y los inutilizan. A tales antioxidantes se les conoce como “scavengers”, y su papel es suicida. En otras ocasiones, los antioxidantes actúan como moléculas coenzimáticas en la acción catalítica de algunas enzimas.

##### 2.3.3.2.1.1 Glutati6n reducido (GSH).

Las EROs actúan como moléculas de señalización intracelular y extracelular; complejas interferencias entre los niveles de EROs, los niveles de glutati6n oxidado y reducido y otros tioles, y las enzimas

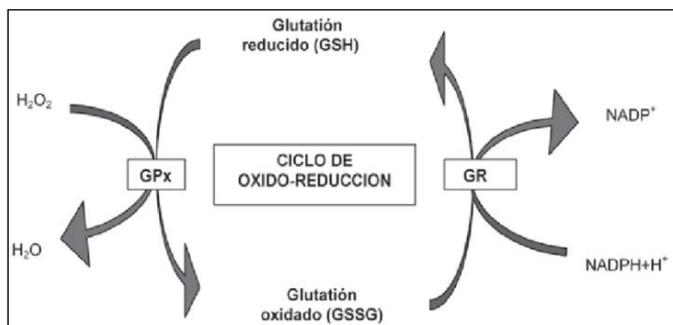
antioxidantes determinan las condiciones más adecuadas para el control redox dentro de la célula o para la activación de la muerte celular programada (*Couto et al., 2016*).

El glutatión es el agente antioxidante principal de las células, resaltando su papel como eliminador de RL de oxígeno (*Sáez Tormo et al., 1993*); su forma reducida (GSH) es un tripéptido no proteínico constituido por tres aminoácidos: glutamato, cisteína y glicina ( $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinilglicina); contiene un enlace peptídico inusual entre el grupo amino de la cisteína y el grupo carboxilo de la cadena lateral del glutamato y sirve como un nucleófilo (especie que reacciona cediendo un par de electrones libres a otra especie, el electrófilo) omnipresente para convertir, en condiciones fisiológicas, una variedad de sustancias electrofílicas (*Deponte, 2013*).

Reduce a cisteína cualquier enlace disulfuro formado dentro de proteínas citoplasmáticas. En el proceso, el glutatión se convierte en su forma oxidada (GSSG) o disulfuro de glutatión. En las células, el glutatión se encuentra principalmente en su estado reducido y, en mucha menor proporción, en su estado oxidado. Esto se debe que la enzima que reduce el tripéptido a partir de su forma oxidada, la Glutatión reductasa (GR), es constitutivamente activa e inducible en situaciones de EO. De hecho, la proporción de glutatión oxidado respecto al reducido (GSSG/GSH) dentro de las células se utiliza a menudo como indicador del estado oxidativo de la célula y de la toxicidad celular.

El GSH es la fuente más abundante (más del 90%) de tioles no proteicos en las células (*Masella et al., 2005*) y el antioxidante

intracelular no enzimático más importante. Se encuentra en el citosol, en el núcleo y en las mitocondrias. La actividad antioxidante de los tioles se debe al átomo de azufre, que puede acomodar fácilmente la pérdida de un solo electrón. La función protectora básica del glutatión contra el EO es que puede actuar como cofactor para varias enzimas desintoxicantes, involucradas en el transporte de aminoácidos a través de la membrana plasmática, eliminando el radical hidroxilo y el oxígeno singlete directamente (*Dröge, 2002*); interactúa fácilmente con una amplia gama de RL cediendo un protón, neutralizando directamente las EROs. Una de las funciones antioxidantes más importantes del GSH es la eliminación del peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos en la reacción catalizada por la Glutatión peroxidasa (GPx), en la que dos moléculas de GSH donan dos átomos de hidrógeno para dar lugar a GSSG, el cual posteriormente es reducido por la GR para restaurar el GSH (figura 27). De esta forma, la concentración de GSSG en la célula se mantiene a niveles muy bajos.



**Figura 27. Ciclo de oxidación-reducción del glutatión**  
(*Solovera et al., 2009*).

El GSH también está implicado en la reducción de varios antioxidantes celulares, como por ejemplo el radical de las vitaminas C y E; además está implicado en la síntesis del ADN, en cuyo proceso los ribonucleótidos son transformados a desoxirribonucleótidos por la enzima ribonucleótido reductasa. Los agentes reductores en esta reacción son la tiorredoxina o la glutarredoxina.

Debido al cambio de conformación que pueden sufrir algunas proteínas enzimáticas ante variaciones en el estado redox, siendo más susceptibles a la degradación cuando éste es más oxidante (*Dröge, 2002*) y que pueden alterar su función, el GSH, en la medida en que conserva los tioles proteicos, permite mantener la conformación y la actividad de enzimas metabólicas importantes, evitando la formación de disulfuros mixtos y puentes disulfuro. Además, actúa como cofactor para algunas enzimas y es reservorio de cisteína, ya que incluso a concentraciones no excesivamente altas, es tóxica para la célula. La síntesis y degradación de las proteínas también se ven afectadas por el GSH, de forma que las fases de iniciación y elongación del proceso de traducción que tienen lugar en la síntesis proteica se inhiben cuando el GSH se oxida. Los responsables de la inhibición de la síntesis proteica pueden ser tanto la depleción del GSH como el incremento del GSSG, como ambos a la vez.

Del estado redox celular también dependen numerosos procesos de señalización celular; de esta forma, el GSH está implicado en la activación de varios factores de transcripción como el

factor nuclear NF- $\kappa$ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), complejo proteico que controla la transcripción del ADN y el factor AP-1, implicado en la regulación de la expresión de genes relacionados con la respuesta a diversos estímulos, como citoquinas, factores de crecimiento, estrés e infecciones virales o bacterianas. AP-1 controla, de este modo, diversos procesos celulares incluyendo diferenciación, proliferación y apoptosis, y por tanto relacionados con la carcinogénesis.

#### 2.3.3.2.1.2 Antioxidantes presentes en el plasma.

##### 2.3.3.2.1.2.1 Ácido Úrico.

Es el producto final del metabolismo de las purinas en el ser humano y otros primates, ya que carecen de la enzima uricasa (la cual hace que continúe su degradación hasta alantoína y urea). Como consecuencia de lo anterior, el ser humano presenta una concentración plasmática de ácido úrico más de diez veces superior a la encontrada en la mayoría de los mamíferos. El anión monovalente urato es la forma en que se encuentra más del 99% del ácido úrico a pH fisiológico.

La dieta puede ser una importante fuente de ácido úrico, ya que la ingestión de purinas hace que éstas sean transformadas en ácido úrico por la xantina oxido-reductasa presente en la mucosa intestinal, de forma que las purinas ingeridas no aparecen en sangre, sino su derivado, el ácido úrico.

El ácido úrico no es solo un producto de desecho de una vía metabólica, sino que puede funcionar como un antioxidante suicida clásico y como quelante de metales de transición; por su unión al

hierro y/o cobre puede inhibir las reacciones de oxidación catalizadas por metales sin que llegue a ser oxidado. El urato es un eficaz eliminador de derivados del oxígeno muy reactivos y perjudiciales como el radical hidroxilo y el superóxido e intermediarios oxigenados del hemo, siendo tan eficaz como el ascorbato como antioxidante.

Extracelularmente, el ácido úrico se considera el mayor antioxidante presente en la sangre de los primates, ejerciendo su función junto con otros compuestos como el GSH, la vitamina C, la bilirrubina, el ácido lipoico y los carotenoides (*Wahlqvist, 2013*). Es de destacar que más del 30% de la capacidad antioxidante del plasma del hombre se debe al ácido úrico. Así, se ha correlacionado positivamente la concentración de ácido úrico en plasma de distintas especies con su esperanza de vida (*Cutler, 1984*) y con una disminución en la incidencia de cáncer.

2.3.3.2.1.2.2 Proteínas secuestradoras de metales: transferrina, ferritina y albúmina.

Metales de transición como el hierro y el cobre implican autooxidaciones y reacciones que conllevan la producción del radical hidroxilo desde el superóxido, por lo que es importante el papel de proteínas quelantes de metales como antioxidantes preventivos, contribuyendo significativamente a la capacidad antioxidante de los fluidos corporales:

- La función principal de la transferrina es la de unir estrechamente el hierro en forma férrica, además de unir otros metales. La transferrina es sintetizada en el sistema retículo endotelial, pero principalmente en el hígado. Tiene una vida media de

8 a 10 días y se encuentra saturada con hierro en el plasma en una tercera parte normalmente.

El hierro que se absorbe en los alimentos es transportado en la sangre por la transferrina y almacenado en forma de ferritina.

- La ferritina es la proteína de almacenamiento del hierro en los mamíferos, actuando como antioxidante al prevenir la reacción de Fenton. Juega un papel muy importante como antioxidante citoprotector del endotelio y protege del daño oxidativo mediado por fagocitos.

- La albúmina desempeñaría un papel en este contexto por su alta capacidad para transportar cobre, lo mismo que la ceruloplasmina. Además, su medición proporciona información acerca del estado general del paciente con relación a su nutrición o con alguna enfermedad orgánica grave (como en los estados con pérdida de proteínas).

#### 2.3.3.2.2 Antioxidantes exógenos.

Los alimentos y bebidas presentes en la dieta ingeridos a diario nos aportan moléculas que, además de tener una capacidad antioxidante intrínseca o formar parte indispensable de determinadas enzimas, actúan como sustratos o suponen un estímulo metabólico para el sistema de defensa antioxidante endógeno (*Walqvist, 2013*). Parece ser que la calidad de la dieta (contenido en vitaminas, minerales y otros compuestos) contribuiría de diferentes formas al desarrollo de enfermedades relacionadas con el envejecimiento.

Hoy en día se considera que los principales antioxidantes presentes en la dieta son las vitaminas (C y E), carotenoides,

polifenoles (flavonoides, catequinas, antocianidinas e isoflavonas) y la coenzima Q o ubiquinona:

- Vitamina C: produce reducción de diversos RL, secuestro de varias formas de oxígeno (oxígeno singlete, radical hidroxilo y superóxido) y regeneración de  $\alpha$ -tocoferol. Las mayores fuentes de ascorbato en la dieta son las frutas, especialmente los cítricos, el kiwi, las cerezas y el melón. También forma parte de la composición de algunos vegetales como tomates, coliflor, coles de Bruselas, col, o brócoli.

- Vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol: es el principal antioxidante en relación con las LDL. Es capaz de captar radicales del oxígeno y cortar la cadena de reacciones de los RL; después de su interacción con el RL, el radical tocoferoxilo puede ser regenerado por el ubiquinol, glutatión reducido y la vitamina C.

- Carotenoides: son pigmentos que se encuentran en plantas y microorganismos, pero no son sintetizados por animales. Los principales carotenoides hallados en el plasma humano son: luteína, criptoxantina, y carotenos. Las mayores fuentes de carotenoides de la dieta son las frutas y vegetales como zanahoria, brócoli, melón, tomates, naranjas entre otros.

- Flavonoides: gran grupo de antioxidantes polifenólicos que se hallan en muchas frutas, vegetales y bebidas como el té, el vino y la cerveza. Se pueden encontrar en forma libre y unidos a glúcidos formando los glucósidos flavonoides. Son eficientes antioxidantes capaces de reaccionar con RL, formando el radical fenoxi.

- Coenzima Q, Co Q10 o ubiquinona: es un componente de la cadena de transporte de electrones y participa en la respiración celular aeróbica, generando energía en forma de ATP. Hay tres estados redox de la misma: totalmente oxidada (ubiquinona), semiquinona (ubisemiquinona) y totalmente reducida (ubiquinol). La capacidad de esta molécula para existir en una forma completamente oxidada y una forma completamente reducida permite que pueda desempeñar sus funciones en la cadena de transporte de electrones, y como antioxidante, respectivamente.

- Otros:

- Ácido lipoico: es un tiol endógeno que sirve como cofactor de los complejos  $\alpha$ -deshidrogenasa. Normalmente está presente en pequeñas cantidades (5-25 nmol/g) en los tejidos animales. Puede ser consumido en la dieta y no tiene efectos secundarios conocidos.

- Alopurinol [1H-pirazolo (3,4-d) pirimidina-4-ol]: es un análogo estructural de la base púrica natural hipoxantina y actúa como un inhibidor de la xantina-oxidasa, la enzima responsable de la conversión de hipoxantina a xantina y de xantina a ácido úrico, el producto final del catabolismo de las purinas. Por tanto, se puede considerar que actúa sobre el catabolismo de las purinas sin modificar su biosíntesis. La inhibición de la enzima xantina-oxidasa por este fármaco es efectiva tanto in vivo como in vitro.

- N-acetilcisteína: no es un antioxidante propiamente dicho, sino que participa en la síntesis de glutatión.

- Glucosa: se comporta como captador de radicales hidroxilo y superóxido, reteniendo a este último e impidiendo de esta forma su acción tóxica sobre otras moléculas.
- Elementos traza: se sabe desde hace algún tiempo que las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa requieren elementos traza (Cu, Zn, Mn, Fe, Se) para su biosíntesis.

## **2.4 ESTRÉS OXIDATIVO Y CÁNCER.**

### **2.4.1 MECANISMOS DE LAS EROs EN LA PATOGÉNESIS DEL CÁNCER.**

Se sabe que las EROs están implicadas en una amplia gama de enfermedades, incluyendo el cáncer, siendo creciente el número de estudios que investigan su asociación con la carcinogénesis a través de los mecanismos y consecuencias del EO (*Valko et al., 2007; Mena et al., 2009; Perše, 2013*).

#### **2.4.1.1 Daño celular producido por las EROs.**

Como ya se ha citado anteriormente, cuando las EROs se producen en cantidades excesivas e incontrolables, ellas y sus productos pueden reaccionar con distintas macromoléculas celulares como lípidos o proteínas, pudiendo modular la expresión génica:

- La peroxidación lipídica cambia la fluidez de las membranas celulares, reduce su capacidad para mantener un gradiente de concentración equilibrado y aumenta la permeabilidad e inflamación de las mismas. Además, los productos de peroxidación como el MDA y el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) pueden actuar como

transductores de señalización y tienen alta reactividad con las bases del ADN, formando aductos mutagénicos, y la evidencia indica que pueden contribuir al cáncer, incluyendo el CCR (*Marnett, 2002*).

- La oxidación de las proteínas conduce a la alteración de su estructura e inhibición del sistema proteolítico enzimático, lo cual conlleva el aumento o la disminución de la absorción por parte de las células, la inactivación de las enzimas de reparación del ADN y la pérdida de fidelidad de las polimerasas dañadas en la replicación del ADN.

Las proteínas oxidadas son catabolizadas a aminoácidos, pero las proteínas severamente oxidadas (subproductos carbonílicos) son sustratos pobres para la degradación y se acumulan en las células; la acumulación de este material dañado a lo largo del tiempo contribuye a diversas patologías relacionadas con la edad. Es decir, la acumulación de proteínas dañadas en la célula actúa como un inhibidor del proteasoma, lo que disminuye la capacidad de eliminación de proteínas oxidadas. Esto, a su vez, dificulta la rotación de proteínas y conduce gradualmente a nuevas alteraciones estructurales y funcionales de los orgánulos celulares (*Shringarpure y Davies, 2002*).

- La oxidación del ADN puede afectar a su metilación; la metilación del ADN es un proceso epigenético que participa en la regulación de la expresión génica de dos maneras, directamente al impedir la unión de factores de transcripción, e indirectamente propiciando la estructura "cerrada" de la cromatina. El ADN presenta regiones de 1000–1500 pb ricas en dinucleótidos CpG ("islas CpG"),

que son reconocidas por las enzimas ADN-metiltransferasas, las cuales, durante la replicación del ADN, metilan el carbono 5 de las citosinas de la cadena recién sintetizada, manteniéndose así la memoria del estado metilado en la molécula hija de ADN. La pérdida de metilación genómica o hipometilación de la heterocromatina conduce a una inestabilidad genómica e incrementa los eventos de recombinación mitótica y se asocia frecuentemente con la enfermedad neoplásica y es proporcional a la severidad de la misma. Por otro lado, la hipermetilación de genes individuales o de las islas CpG de genes constitutivos y genes supresores de tumor se relaciona con el desarrollo de algunos tumores. Los dos niveles de metilación pueden presentarse en forma individual o simultánea; en general, la hipermetilación está involucrada en el silenciamiento de genes y la hipometilación con la sobreexpresión de ciertas proteínas involucradas en los procesos de invasión y metástasis (*Williams y Sobol, 2013; Mesa-Cornejo et al., 2006*).

#### 2.4.1.2 Modulación de la señalización celular.

El entorno redox es un factor crítico en la señalización celular. Las EROs juegan un papel importante como moléculas de señalización intracelular. Están involucradas en varios procesos fisiológicos celulares; bajo condiciones homeostáticas, son críticas para múltiples vías de transducción de señales actuando como segundos mensajeros. También regulan funciones celulares clave como la proliferación, diferenciación, crecimiento y apoptosis a través de la señalización celular. Entre las vías más conocidas se encuentran la NF- $\kappa$ B, la vía de la fosfatidil inositol-3 quinasa

(PI3K)/Akt), las proteínas de choque térmico y la vía de la proteína-quinasa activada por mitógeno (MAPK).

Sin embargo, el papel beneficioso o perjudicial de las EROs depende de sus concentraciones (*Brieger et al., 2012*). En condiciones de EO en los que sus niveles están desequilibrados con los de los antioxidantes, las EROs pueden ser perjudiciales para la célula en sí, lo que lleva a una proliferación, inflamación o apoptosis incontrolada (*Perše, 2013*).

#### 2.4.2 ESTRÉS OXIDATIVO Y CARCINOGENESIS COLORRECTAL.

Todos estos hallazgos mencionados anteriormente apoyan la hipótesis que el EO puede estar implicado en la carcinogénesis colorrectal.

El cáncer de colon se origina en las células epiteliales que recubren el intestino. Estas células se dividen rápidamente y tienen una alta tasa metabólica, la cual se ha encontrado como factor potencial responsable del aumento de la oxidación del ADN. Las células madre o progenitoras, situadas en la parte basal inferior de la cripta, son muy sensibles al ambiente redox de la mucosa intestinal; su autorrenovación y diferenciación depende en gran medida de este ambiente. Las células proliferativas también son excepcionalmente sensibles al daño del ADN, que puede dar lugar a la detención del ciclo celular, a la inducción de la transcripción o de las vías de transducción de señales, a errores de replicación y a inestabilidad genómica, todo lo cual está asociado con el cáncer de colon (*Oberreuther-Moschner et al., 2005*). La generación de EROs puede

jugar un papel importante en todas las fases de la carcinogénesis, es decir, en las etapas de iniciación, promoción y progresión.

Se ha estudiado ampliamente la asociación entre el EO y el CCR. *Dalle-Donne et al. (2006)* revisan algunos biomarcadores de uso más común, como MDA, isoprostanos, glutatión, y ERNs en la enfermedad humana. Se ha encontrado que los tumores colorrectales humanos (adenomas y carcinomas) tienen niveles aumentados de diferentes marcadores de EO, tales como NO<sup>•</sup>, peróxidos lipídicos, CAT, 8-oxodG y metilación disminuida de citosina en el ADN (*Gào et al., 2018; Serbanescu et al., 2017; Chang et al., 2008; Dalle-Donne, 2006*).

Se encontró en un estudio que los niveles de EROs en sangre fueron más altos en pacientes con antecedentes de CCR en comparación con los controles sanos de similares características en edad y sexo, lo que sugiere que las EROs pueden jugar un papel en la etiología del CCR. Sin embargo, debido a que se carecía de información importante sobre los hábitos y estilo de vida del paciente (tipo de dieta, tabaco, alcohol, etc.), se necesitan investigaciones adicionales (*Van der Logt et al., 2005*). También fallos en los mecanismos de protección pueden representar factores de riesgo en la etiología del CCR (*Chang et al., 2008*).

Posteriormente también se han estudiado las lesiones del ADN por EO en tejido tumoral y sano y se ha visto que los niveles de estas lesiones son significativamente más bajos en los tejidos colorrectales cancerosos que en los tejidos no cancerosos circundantes. Los resultados sugieren un aumento de la reparación

del ADN en el CCR que puede contribuir a la resistencia a los agentes terapéuticos que afectan el resultado de la enfermedad y la supervivencia del paciente. Además, el nivel de lesiones de ADN varía entre los tejidos del colon y del recto, siendo menor en el primero que en el último (*Kirkali et al., 2011*).

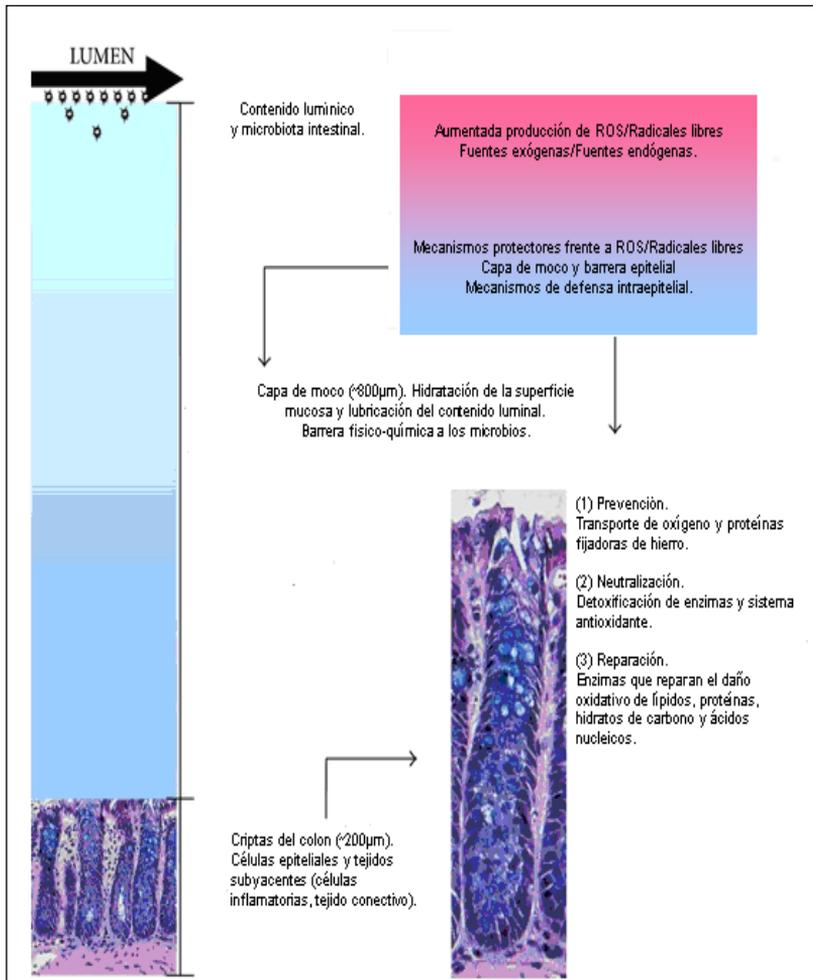
#### 2.4.2.1 Fuentes de radicales libres en colon.

El contenido del colon humano es una mezcla diversa de bilis, moco, células epiteliales descamadas, múltiples microorganismos y sus productos de fermentación; también de alimentos no digeridos o no absorbidos y sus productos metabólicos, tales como metales, sales, toxinas, mutágenos, carcinógenos y gases disueltos (como nitrógeno, hidrógeno, dióxido de carbono, metano y oxígeno).

Cabe destacar que las células epiteliales de la mucosa intestinal de un individuo sano no están en contacto directo con el contenido lumínico ni con la microbiota intestinal. La capa de moco secretada es muy espesa (~800  $\mu\text{m}$  en el colon de los roedores) y representa una barrera física y química contra los microbios. Su función es también mantener bien hidratada la superficie mucosa y lubricar el contenido lumínico.

Desde la boca hasta el recto, el tracto gastrointestinal está delimitado por una sola capa de células epiteliales que mantiene la homeostasis intestinal por dos mecanismos principales: por absorción, secretando y transportando agua, nutrientes y macromoléculas; y formando un sistema físico de separación entre el sistema inmunológico de la mucosa y el compartimento luminal, que contiene una microbiota compleja estimada en un total de  $10^{14}$

microorganismos. Por debajo se halla el tejido no epitelial subyacente, compuesto de células inflamatorias, tejido conectivo, etc. (Figura 28). Todos estos componentes están intrínsecamente ligados en una fisiología compleja.



**Figura 28. Representación esquemática de la barrera colónica y de los mecanismos de protección intracelular contra el estrés oxidativo (adaptado de Radić et al., 2009).**

La translocación inapropiada de bacterias y productos derivados de las mismas (por ejemplo, lipopolisacáridos y ácidos nucleicos) en el compartimento mucoso podría tener consecuencias patológicas para el huésped. Así, una barrera defectuosa induce inflamación de la mucosa local y favorece el crecimiento tumoral; se observa al principio de la transformación neoplásica y en su progresión a cáncer en un modelo murino de CCR (*Jobin, 2012*).

Se cree que la mucosa intestinal se enfrenta constantemente a oxidantes y carcinógenos derivados de la dieta y las bacterias. La exposición crónica a estas condiciones desafiantes puede conducir a la generación incontrolada de RL, desequilibrio redox y daño al ADN, lo que puede afectar la homeostasis metabólica intestinal, con el cáncer como punto final (*Guz et al., 2008*).

#### 2.4.2.2 Efectos nocivos, beneficiosos y modificadores.

La mucosa intestinal no está constantemente expuesta a desafíos dañinos, existiendo diversos factores beneficiosos y modificadores que pueden contrarrestar los efectos perjudiciales. Algunos ya han sido nombrados en el apartado de los factores de riesgo del CCR.

#### 2.4.2.3 Microbiota intestinal.

También llamada microflora, el intestino contiene un amplio espectro de microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal y desempeñan un papel importante en la salud humana y en las enfermedades (*Prakash et al., 2011*).

Son esenciales para el bienestar del huésped en términos de nutrición e inmunidad de las mucosas, promoviendo la salud, pero también existen numerosos estudios que han implicado a algunos

miembros de la microbiota intestinal en el desarrollo del CCR debido a diferentes mecanismos, incluyendo la generación de metabolitos reactivos (*E. faecalis* produce en el epitelio intestinal potentes radicales hidroxilo, fuente de EO), carcinógenos, alteraciones en la expresión de los carbohidratos del huésped, producción de mutágenos e inducción de inflamación crónica de la mucosa (*Hope et al., 2005*).

El hábitat intestinal humano contiene entre 300 y 500 especies diferentes de bacterias, que varía significativamente en contenido entre individuos, lo que puede representar una enorme variabilidad en la formación de RL entre los mismos.

#### 2.4.2.4 Inflamación.

Es un factor importante en el inicio y desarrollo de la carcinogénesis (*Federico et al., 2007; Reuter et al., 2010*). Es ampliamente conocido que el CCR es una complicación de un estado inflamatorio crónico en el intestino. Los pacientes con EII tienen un riesgo 6 veces mayor de desarrollar CCR en comparación con la población general (*Barrett et al., 2013*). La producción excesiva e incontrolada de EROs durante un largo período de tiempo da lugar a una lesión persistente de las células y, en consecuencia, a una inflamación crónica. Junto al daño celular, las células inflamatorias también producen mediadores solubles que actúan reclutando más células inflamatorias en el sitio de la lesión y produciendo más EROs. Este ambiente inflamatorio/oxidativo sostenido conduce a una mayor producción de hidroperóxidos en un círculo vicioso, que puede dañar las células epiteliales y estromales

sanas de las inmediaciones de la lesión y, durante mucho tiempo, provocar carcinogénesis.

El EO puede activar una variedad de factores de transcripción que puede llevar a la expresión de más de 500 genes diferentes, incluyendo los de factores de crecimiento, citoquinas inflamatorias, quimiocinas, moléculas reguladoras del ciclo celular y moléculas antiinflamatorias. En general, las observaciones sugieren que el EO, la inflamación crónica y el cáncer están estrechamente relacionados (*Reuter et al., 2010*).

Entre los parámetros de inflamación destacan:

#### 2.4.2.4.1 Interleuquina 6 (IL-6).

El aumento de la expresión de IL-6 se ha relacionado con estadios avanzados y disminución de la supervivencia en pacientes con CCR. Se ha demostrado que promueve la proliferación de células tumorales e inhibe la apoptosis a través de la activación de la gp130 en las células tumorales, con la posterior señalización a través de las janus kinasas (JAKs) y el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) (*Waldner et al., 2012*). Durante los últimos años se han desarrollado varias terapias dirigidas a la vía IL-6/STAT3 y plantean una estrategia prometedora para el tratamiento del CCR (anticuerpos anti-IL-6R, gp130Fc solubles) e inhibidores selectivos de las moléculas JAKs (*Waldner et al., 2012; Wang y Sun, 2014*).

En un meta-análisis reciente con respecto a la relación entre los polimorfismos de un sólo nucleótido promotor de IL-6 y la susceptibilidad y pronóstico del cáncer, se han identificado 97

publicaciones originales que cubren tres SNPs promotores de IL-6. El análisis de subgrupos indica que rs1800795 se asocia significativamente con un mayor riesgo de CCR y puede ser un marcador tumoral para el tratamiento de este cáncer (*Peng et al., 2018*).

#### 2.4.2.4.2 Proteína C-Reactiva (PCR).

La concentración de la PCR en suero, como biomarcador de inflamación sistémica, se halla elevada entre las personas que posteriormente desarrollan cáncer de colon, apoyando la hipótesis de que la inflamación es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de colon en individuos de riesgo medio (*Erlinger et al., 2004; Wu et al., 2013*). Pero, aunque puede ser útil para el pronóstico en pacientes con CCR primario y metastásico, actualmente no existen pruebas suficientes para justificar su uso sistemático en la subestratificación de pacientes para la consideración de terapias neoadyuvantes (*Pathak et al., 2014*).

#### 2.4.2.4.3 Índice Neutrófilos/Linfocitos (NLR).

La determinación preoperatoria de este índice, conocido como NLR (*Neutrophil Lymphocyte Ratio*) puede representar un método sencillo para identificar a los pacientes con CCR con un pronóstico precario antes de la intervención (*Walsh et al., 2005*).

Diversos estudios relacionan un aumento del NLR por encima de 5 con mayor morbilidad perioperatoria, y peor supervivencia global y libre de enfermedad en pacientes con CCR (*Urrejola et al., 2013; Dimitriou et al., 2018*).

El aumento del NLR también se asocia significativamente con la diferenciación más pobre del tumor (OR: 1,574) y con un mayor nivel de CEA (OR: 1,493), siendo de valor pronóstico para los pacientes con CCR (*Li et al., 2014*).

#### 2.4.2.4.4 Plaquetas.

Los tumores primarios producen muchos subproductos que estimulan la angiogénesis y pueden entrar en la circulación; las plaquetas pueden reconocer y responder a los subproductos tumorales circulantes e iniciar la coagulación en cascada. A medida que las plaquetas cumplen su función hemostática normal, en presencia de cáncer tienden a iniciar eventos trombóticos que pueden facilitar la progresión del mismo. Una vez que las plaquetas y la cascada de coagulación están activadas, la actividad de la trombina serin-proteasa activa el fibrinógeno para formar una malla de fibrina (*Menter et al., 2014*). La trombocitosis inducida por el cáncer aumenta significativamente el número de plaquetas circulantes, constituyendo el síndrome de Trousseau (síndrome paraneoplásico caracterizado por distintos eventos trombóticos, tanto arteriales como venosos).

En un estudio de cohortes casos-control, de 40.000 pacientes adultos mayores de 40 años con trombocitosis y 10.000 sujetos con recuento de plaquetas normales, se encontró que la trombocitosis es un marcador de riesgo de cáncer en adultos; la incidencia de cáncer del 11,6% y el 6,2% en hombres y mujeres, respectivamente, obliga a la investigación adicional de la neoplasia maligna subyacente,

siendo el CCR uno de los cánceres mas comúnmente diagnosticados (*Bailey et al., 2017*).

#### 2.4.2.4.5 Fibrinógeno.

Es una proteína catalogada como de fase aguda, por incrementarse en respuesta a estímulos inflamatorios mediados por citoquinas (IL-6, IL-8), factores de crecimiento, factor de necrosis tisular, etc. De ahí que los marcadores de inflamación sistémica se encuentren catalogados dentro de los asociados al tumor (o respuesta del huésped), debido a su producción en respuesta a una estimulación metabólica o inmunológica, secundaria a la presencia tumoral (*Herrera-Silva et al., 2008*).

Su elevación preoperatoria en el CCR se correlaciona con la gravedad, pero no ayuda a predecir el pronóstico del paciente después de la cirugía. Es decir, la hiperfibrinogenemia no mantuvo la significación estadística con respecto a la supervivencia general ( $p=0,313$ ) o relacionada con el tumor ( $p= 0,355$ ) en un estudio de *Pedrazzani et al. (2016)*.

#### 2.4.2.5 Alimentación.

Se ha demostrado que los ácidos grasos de la dieta afectan al contenido en lípidos de los tejidos y dan lugar a diferencias en susceptibilidad a la peroxidación (*Kuratko y Pence, 1991*). Los lípidos y ácidos grasos obtenidos de las grasas alimentarias se metabolizan e incorporan a los fosfolípidos de las membranas celulares de muchos tipos de células y sirven como precursores de muchas moléculas biológicamente activas, además de ser importantes para la señalización celular o la diferente intensidad de

la respuesta inflamatoria (*Perše, 2012*). Un aumento sustancial del contenido de AGPI puede superar la acción protectora del sistema antioxidante y aumentar la susceptibilidad a la peroxidación lipídica. Ha sido demostrado que el consumo a largo plazo de una dieta de alto contenido graso de lípidos mixtos aumentó significativamente la producción de peróxidos lipídicos en el hígado y en el músculo esquelético (*Perše et al., 2009*) e incrementó el desarrollo del CCR. Por otro lado, se ha encontrado que el aceite de pescado reduce el daño oxidativo del ADN (*Bancroft et al., 2003*); en cambio, la hemoglobina de la carne roja o de la hemorragia intestinal puede actuar como potenciador del daño oxidativo en el intestino (*Angeli et al., 2011*).

Por otro lado, los antioxidantes de micronutrientes pueden tener un papel importante en la homeostasis redox debido a sus propiedades de eliminación de RL. Los antioxidantes derivados de la nutrición, como las vitaminas E y C, el betacaroteno, los flavonoides y los polifenoles, pueden proporcionar una segunda línea de defensa contra la producción de EROs.

#### 2.4.2.6 Obesidad.

La obesidad, en particular la obesidad abdominal, se asocia con un mayor riesgo de CCR y se ha encontrado que aumenta el estado oxidativo en estas personas obesas (*De Tursi Ríspoli et al., 2013; Monzó-Beltran et al., 2017*). Se sabe que el tejido adiposo produce varias adipocitoquinas (adiponectina, leptina) y numerosas citoquinas (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-10) que están implicadas en el funcionamiento normal del organismo. La evidencia ha demostrado

que la obesidad altera los niveles de adipocitos, aumenta los estrógenos circulantes, disminuye la sensibilidad a la insulina y aumenta la respuesta inflamatoria (*Murdolo et al., 2013*). Causa el llamado síndrome metabólico o inflamación crónica de bajo grado, que puede ser responsable del aumento constante de la producción de RL (*Victor et al., 2011; Bañuls et al., 2017*). Se asume que con el tiempo tales condiciones de EO crean un ambiente favorable para el desarrollo del CCR (*Aleksandrova et al., 2013*).

#### 2.4.2.7 Envejecimiento.

La evidencia acumulada sugiere que el envejecimiento está asociado con una mayor producción de RL, resultando en una mayor oxidación de lípidos, proteínas y material genético (*Dröge y Schipper, 2007*). Las condiciones oxidativas causan alteraciones estructurales y funcionales progresivas de los orgánulos celulares y cambios en los procesos de señalización sensibles al estado redox. Tales condiciones celulares contribuyen a aumentar la susceptibilidad a una variedad de enfermedades, incluyendo la inflamación y el cáncer (*Federico et al., 2007*).

#### 2.4.2.8 Actividad física.

El ejercicio regular puede ayudar a prevenir el CCR debido a una mejora en el sistema de defensa antioxidante de la célula. El ejercicio estimula varias vías de señalización en las células, como MAPK y NFκB, lo que resulta en una mayor expresión de enzimas importantes asociadas con la defensa celular (*Portalfitness.com*). Muchos de los efectos biológicos de los antioxidantes parecen estar relacionados con su capacidad no sólo para eliminar los RL nocivos,

sino también para modular las vías de señalización celular. Esta modulación por parte de los antioxidantes podría ayudar a prevenir el CCR preservando la regulación normal del ciclo celular, inhibiendo la proliferación, la invasión tumoral y la angiogénesis, induciendo la apoptosis, suprimiendo la inflamación y estimulando la actividad enzimática de desintoxicación (*Scheele et al., 2009*).



## **3. HIPÓTESIS. JUSTIFICACIÓN**



### 3. HIPÓTESIS. JUSTIFICACIÓN

Los tumores colorrectales presentan una elevada prevalencia en nuestro ámbito, con diagnóstico tardío en muchos casos, a pesar de las medidas de detección precoz existentes en nuestra Comunidad Valenciana (test de sangre oculta en heces). Los marcadores tumorales determinados de forma habitual en los Laboratorios clínicos no ayudan al diagnóstico precoz de la enfermedad.

Desde que se introdujo el término de "estrés oxidativo" como un desbalance entre elementos anti-oxidantes y pro-oxidantes a favor de estos últimos (*Sies, 1991*), es importante el interés que despierta este tema en la bibliografía consultada. Existe evidencia de una asociación entre EO y CCR y se han sugerido numerosas vías biológicas subyacentes implicadas en la asociación entre ambos; sin embargo, la magnitud de dicha asociación y el mecanismo implicado no están bien definidos. El CCR como enfermedad inflamatoria podría condicionar un mayor estado de EO, así como los pacientes en estadios más avanzados podrían presentar un empeoramiento en su estado redox. La mayor afectación en el EO que se esperaría observar en los pacientes con CCR respecto a controles podría deberse a hábitos dietéticos y alteraciones metabólicas asociadas al CCR, las cuales se correlacionan con una activación de la respuesta inflamatoria, que podría estar involucrada en la asociación entre ambas enfermedades. Asimismo, los pacientes con CCR podrían responder peor al tratamiento quirúrgico en función de su estado redox.

Por ello, en este estudio se plantea si el análisis de estos biomarcadores antes y después de la cirugía (o tratamiento neoadyuvante, en su caso), podría conseguir un diagnóstico más precoz y un mejor manejo de los pacientes con CCR.

Además, nos planteamos si otros factores relacionados con el tumor y comorbilidades de los pacientes podrían ser factores pronósticos de la enfermedad.

## **4. OBJETIVOS**

---



## **4. OBJETIVOS.**

Nos planteamos un estudio prospectivo longitudinal en pacientes con CCR sometidos a tratamiento, quirúrgico en su mayoría, con seguimiento evolutivo posterior y en los que valoramos los siguientes objetivos:

### **4.1 PRINCIPALES.**

- Evaluar los niveles de los marcadores de EO en los pacientes con CCR frente a los del grupo de controles sanos.
- Determinar dichos marcadores en los pacientes antes y después de la intervención quirúrgica, comparando la situación basal con los diferentes tiempos y estudiar su asociación con la evolución del tumor.
- Calcular las características diagnósticas de los marcadores de EO y compararlas con las de los MT utilizados en la práctica clínica diaria.
- Estudiar el potencial valor predictivo pronóstico de los marcadores de EO en la evolución del CCR, así como de otros factores que conllevan mal pronóstico e incluso de los asociados a efecto protector.

### **4.2 SECUNDARIOS.**

- Analizar las comorbilidades y factores de riesgo que presenten los pacientes y que puedan influir en los niveles de EO, analizando también todos los factores referentes al tumor que indiquen un peor pronóstico.

- Determinar la influencia en los niveles de EO de factores con potencial preventivo del desarrollo de CCR, especialmente adherencia a la dieta mediterránea e ingesta de antiinflamatorios no esteroideos (AAS).
- Estudiar las diferencias en los resultados de EO entre los adenomas y carcinomas presentes en los pacientes, así como con el grupo control. Analizar los resultados del único tumor no carcinomatoso o GIST (tumor del estroma gastrointestinal).
- Estudiar la evolución de otros analitos en los pacientes antes y después de la cirugía: marcadores tumorales, factores de inflamación sistémica y marcadores de anemia.
  - Correlación de los distintos marcadores con estadio tumoral.
  - Evaluar otras asociaciones: niveles de EO según localización derecha o izquierda del tumor en colon; incidencia de anemia y localización tumoral, así como correlación de marcadores de inflamación sistémica con marcadores de anemia.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## **5. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Se trata de un estudio analítico, longitudinal y prospectivo, de carácter observacional, de pacientes con diagnóstico de tumoración colorrectal, subsidiarios de cirugía de resección tumoral y/o tratamiento quimio-radioterápico, remitidos al Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Dr. Peset, con la finalidad de realizar su seguimiento durante un periodo de un año.

Este estudio fue diseñado de acuerdo con los principios de ética de la Declaración de Helsinki (Finlandia, 1964), siendo evaluado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Dr. Peset (CEIC, Código: 5/15), con fecha 30 de enero de 2015.

Por tanto, se divide en dos fases:

- Estudio basal, previo al tratamiento, en el que se comparará el grupo de pacientes con un grupo de controles sanos.
- Control evolutivo de los pacientes a 1, 6 y 12 meses.

### **5.2 MATERIAL. SELECCIÓN DE MUESTRAS DEL ESTUDIO.**

#### **5.2.1 Pacientes.**

##### **5.2.1.1 Tamaño muestral.**

Para la estimación del tamaño muestral se escogieron como variables de referencia el CEA y el CA 19.9 y se calculó, de forma preliminar, las medias y desviación estándar (DE) de muestras de suero de 30 sujetos sanos y 30 pacientes con diagnóstico de CCR

de distinta procedencia (hospitalizados y Hospital de día). Se fijó un error tipo  $\alpha$  del 5% y un poder estadístico ( $1-\beta$ ) del 80% para muestras pareadas y se calculó con el T-test del paquete estadístico R, versión 2.14.2 (Auckland, Nueva Zelanda). En el caso del CEA, para una diferencia de medias de 5 ng/mL y una DE de 9,3 ng/mL, se obtuvo un tamaño muestral de 55; en el caso del CA 19.9, para una diferencia de medias de 19,1UI/ml y una DE de 36,2 UI/ml, el programa obtuvo un resultado de 57 muestras. Por ello, inicialmente se pensó en una  $n=60$ , pero dado que se esperaban unas pérdidas en el seguimiento entre el 10 y el 20%, el tamaño muestral se aumentó a un total de 80 pacientes.

#### 5.2.1.2 Criterios de inclusión.

Fueron incorporados al estudio secuencialmente todos los pacientes con diagnóstico de tumor colorrectal, tanto adenomas avanzados como carcinomas, desde marzo de 2015 a enero de 2017, incluyéndose 80 pacientes. Se considera que la neoplasia adenomatosa está avanzada cuando los pólipos tienen 1 cm o más de diámetro, y hay un componente vellosos o una displasia de alto grado (*Bujanda et al., 2010*).

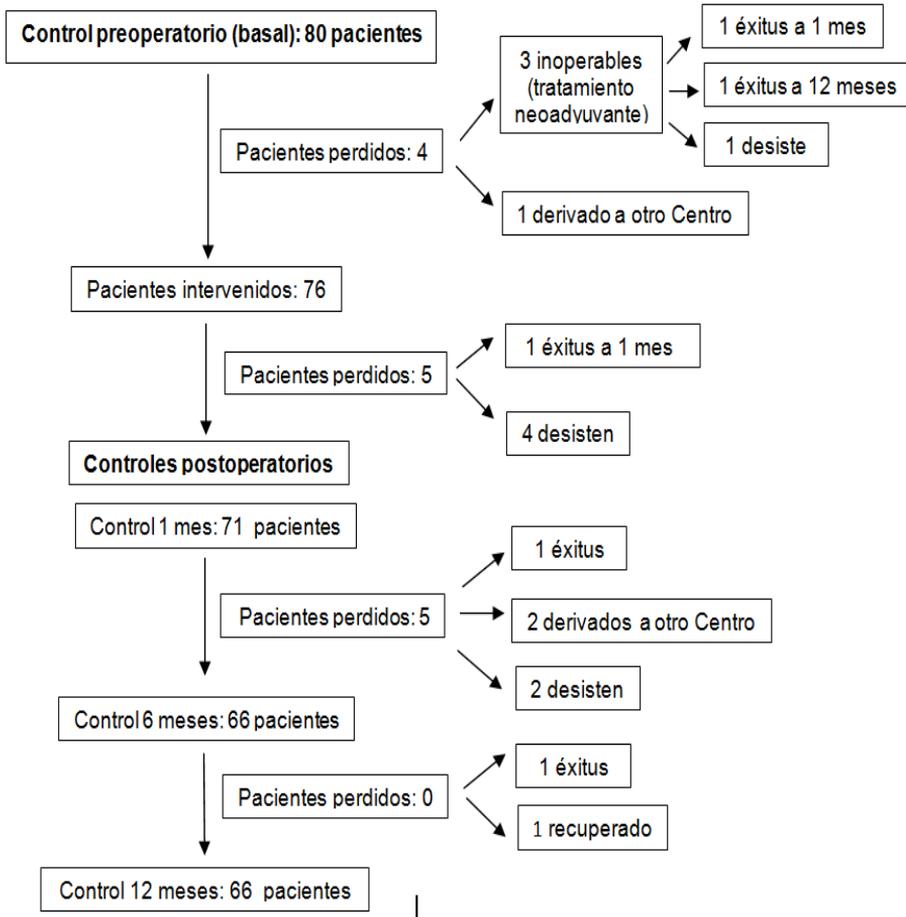
#### 5.2.1.3 Criterios de exclusión.

Solamente fueron excluidos los pacientes que:

- No quisieron participar voluntariamente.
- No firmaron el consentimiento informado.
- Los que por edad avanzada o mal estado general pudieran ver comprometida su salud durante la realización del estudio.

En la figura 29 se muestra el diagrama de flujo de los pacientes a

lo largo del estudio:



**Figura 29. Diagrama de flujo de los pacientes en el control evolutivo.**

### 5.2.2 Controles sanos.

Como población control se seleccionaron 60 sujetos sanos de características clínicas similares a las de los pacientes: edad mayoritariamente superior a 50 años, ambos géneros, IMC < 30 Kg/m<sup>2</sup>, no hábitos tóxicos (tabaco, alcohol), ni toma de fármacos y

sin patologías clínicas, especialmente dislipemia, DM, HTA, IRC, cardiopatía isquémica o EII.

### **5.3 PROTOCOLO DEL ESTUDIO.**

#### 5.3.1 Información y cuestionarios.

El primer día de contacto con los pacientes les fueron entregadas tres hojas a los que voluntariamente quisieron participar:

- Hoja informativa sobre el proyecto, con descripción de sus objetivos, investigadores participantes y toda la información necesaria según la legislación vigente que regula el procedimiento y normas de los estudios biomédicos (Anexo I).
- Hoja de consentimiento informado: para autorizar con su firma la extracción de muestras y su participación voluntaria (Anexo II).
- Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea, el utilizado en el estudio PREDIMED. Consta de 14 ítems sobre consumo diario o semanal, según el grupo de alimentos, que, resumiendo brevemente, hacen referencia al consumo de:
  - Aceite de oliva (1 y 2).
  - Verduras y hortalizas (3).
  - Fruta (4).
  - Carnes rojas, embutidos y similares (5).
  - Mantequilla, margarina o nata (6).
  - Bebidas carbonatadas y/o azucaradas (7).
  - Vino (8).
  - Legumbres (9).
  - Pescado o marisco (10).
  - Repostería comercial, no casera (11).

- Frutos secos (12).
- Carne de pollo, pavo o conejo frente a las de ternera o cerdo (13).
- Vegetales, pasta o arroz cocinados y aderezados con salsa que incluya aceite de oliva (14).

Se consideró buena la adherencia cuando se obtuvo una puntuación igual o superior a 9 (Anexo III).

- También se les preguntó sobre hábitos tóxicos: tabaco (fumador o exfumador), número de cigarrillos/día y años de hábito; alcohol, número de unidades/semana (1 unidad=caña, vaso vino, medio whisky o copa).

## **5.4 MÉTODOS.**

### 5.4.1 Recogida de datos. Historia clínica.

De todos los pacientes que se incluyeron en el proyecto se estudió su historia clínica hospitalaria (Orion), con recogida de todos los datos clínicos de interés:

- Variables antropométricas: sexo, fecha de nacimiento, talla, peso y cálculo del IMC.
- Tensión arterial sistólica y diastólica.
- Antecedentes de interés: antecedentes propios o familiares de CCR o de pólipos adenomatosos, EII y diverticulosis.
- Datos clínicos y comorbilidades de interés: HTA, DM, dislipemia, cardiopatía isquémica e insuficiencia renal.
- Ingesta de fármacos para tratamiento de las patologías mencionadas: antihipertensivos, insulina y/o antidiabéticos orales, hipolipemiantes y aspirina a dosis bajas (AAS).

- Otras enfermedades asociadas: patología tumoral previa, infecciones, procesos inflamatorios, alergias, asma, procesos autoinmunes, etc.
- Otros fármacos habituales: hierro, alopurinol, fibratos, anticoagulantes (heparina, Sintrom), etc.
- Datos relacionados con el tumor:
  - Síntomas iniciales de sospecha: astenia, adelgazamiento, anemia, hemorragia digestiva baja, tenesmo/meteorismo, cambios en el hábito intestinal (estreñimiento/diarrea), incontinencia, SOH positivo, aumento del CEA en una analítica ordinaria o hallazgo fortuito del tumor en otras exploraciones.
  - Tratamiento pre-cirugía: quimioterapia sola o combinada con radioterapia.
  - Intervención quirúrgica: fecha, reseabilidad tumoral, técnica quirúrgica (laparoscópica o abierta).
  - Tamaño (diámetro mayor en cm) y localización tumoral: colon derecho (colon ascendente hasta ángulo esplénico, incluyendo colon transversal), colon izquierdo (ángulo esplénico y colon descendente) y recto.
  - Anatomía patológica del tumor:
    - Tipo histológico:
      - Carcinomas: adenocarcinoma, C. mucinoso, C. de células en anillo de sello, C. microcítico u otro tipo.
      - Pólipos adenomatosos: tubular, túbulo-veloso, veloso y serrado.
    - Grado histológico de la OMS en carcinoma: alto y bajo.

- Grado de displasia en adenoma: alto y bajo.
- Afectación de bordes, afectación perineural e invasión vascular extramural.
- Coexistencia de otros tumores sincrónicos o pólipos adenomatosos en colon/recto.
- IMS y KRAS/NRAS.
  - Estadificación TNM. Si metástasis, localización.
  - Tratamiento post-cirugía (quimioterapia).
  - Aparición de complicaciones post-cirugía (tempranas y tardías), recidivas, metástasis y necesidad de reintervención.

5.4.2 Reclutamiento de los pacientes. Extracción y preparación de las muestras.

Los pacientes fueron citados con la periodicidad ya comentada anteriormente. Las muestras de sangre se tomaron en la sala de extracciones de consultas externas o en el propio laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Doctor Peset.

A los pacientes también se les solicitó la primera orina de la mañana para determinación de EO. Se realizó el estudio bioquímico y hematológico de las muestras extraídas al día. A continuación se realizaron las alícuotas de suero y orina y congelación a  $-80^{\circ}\text{C}$  de las mismas hasta su determinación.

### 5.4.3 Análisis de las muestras.

#### 5.4.3.1 Estudio bioquímico.

Las muestras de suero fueron extraídas tras 12 horas de ayuno en tubos secos de 10 mL con separador de gel de silicona y

acelerador de la coagulación; tras la retracción del coágulo (unos 30 minutos a temperatura ambiente) fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos en frío en una centrífuga Rotina 380R Hettich (Tuttlingen, Alemania); del suero se separaron varias alícuotas para la determinación del EO, dejando un volumen de 1mL para las determinaciones bioquímicas, que se realizaron el mismo día. Las alícuotas fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  en el congelador New Brunswick Scientific Premium U 410 (Eppendorf, Nueva Jersey, EEUU) hasta la determinación del EO en el Laboratorio del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular-INCLIVA.

Además se recogieron 8-10 mL de orina (primera orina de la mañana) en tubos de polietileno que fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 5 min en la centrífuga Rotina 380R Hettich para precipitar y eliminar las impurezas; se separaron varias alícuotas y se conservaron a la temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  en el congelador New Brunswick Scientific Premium U 410 hasta que fueron analizadas.

En cada muestra de suero se solicitó una analítica básica más metabolismo férrico, marcadores de inflamación y MT. La metodología y equipos de medida de los analitos determinados, junto a sus unidades de medida y valores de referencia (VR) han sido:

- Cadena automatizada de los equipos Architect C16000 de Abbott (Illinois, EEUU):

- Por espectrofotometría: glucosa (70-105 mg/dL), urea (19-50 mg/dL), creatinina (0,7-1,2 mg/dL), filtrado glomerular estimado ( $>60$  mL/min), colesterol (80-200 mg/dL), HDL (45-70 mg/dL), LDL (40-

150 mg/dL), triglicéridos (30-150 mg/dL), proteínas (6,4-8,3 g/dL), albúmina (3,5-5 g/dL), ácido úrico (2,5-6 mg/dL), sodio (136-145 mEq/L), potasio (13,5-5 mEq/L), cloro (100-111 mEq/L) y hierro (50-170  $\mu$ g/dL).

Este método es el más usado en los laboratorios de Bioquímica clínica y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración; la intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente la concentración de la sustancia absorbente, cuando este haz pasa a través de un medio homogéneo (ley de Beer)

- Por inmunturbidimetría: transferrina (120-360 mg/dL) y PCR (0-10 mg/L). Este método mide la disminución de la intensidad de la luz transmitida a  $180^\circ$  debida a la difracción producida por los complejos inmunes formados.

- Por quimioluminiscencia: ferritina (32-274  $\mu$ g/L) y CEA (0-5 ng/mL). Este método se basa en la producción de luz a partir de una reacción química; dos compuestos químicos reaccionan para formar un intermediario en estado excitado (de alta energía), que pasa a un estado menos excitado o fundamental, liberando parte de su energía como fotones de luz.

- En el Cobas 6000 de Roche Diagnostics (Mannheim, Alemania) por electroquimioluminiscencia: la interleuquina 6 o IL-6 (de 0-7 pg/mL) y el CA 19.9 (0-40 UI/mL).

Al igual que en la quimioluminiscencia, en este inmunoensayo se generan (a partir de sustratos estables) productos capaces de emitir

fotones al pasar de un estado intermedio inestable y energéticamente superior, a uno de energía inferior más estable, aunque en este caso su origen es electroquímico y no una reacción enzimática.

El filtrado glomerular se estimó con el CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), fórmula matemática que incluye como variables la creatinina sérica, la edad, el sexo y la raza.

El índice de saturación de la transferrina (IST) es igual al cociente entre hierro y transferrina por 100 (15-45%).

#### 5.4.3.2 Estudio hematológico.

Las muestras de sangre total fueron extraídas en tubos de EDTA-K3 y de citrato sódico de 5 mL, para la realización del hemograma y coagulación, respectivamente.

Se realizó hemograma completo y coagulación básica, con determinación del fibrinógeno (con unidades de medida y VR):

- Serie roja:
  - Hemoglobina (g/dL): M=12,0 -17,5; F=11,5-16,5.
  - Hematocrito (%): M=40-54; F=37-47.
  - VCM (fL): 80-95.
- Serie blanca:
  - Leucocitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ): 4-11,3.
  - Neutrófilos (%): 55-65.
  - Linfocitos (%): 23-35.
  - Índice Neutrófilos/Linfocitos: <5.
- Plaquetas ( $\times 10^5/\text{mm}^3$ ): 120-450.
- Fibrinógeno (mg/dL): 200-500.

Las determinaciones hematimétricas fueron realizadas en contadores LH 500 de Beckman-Coulter (Brea, California, EEUU), tecnología basada en el principio Coulter (uso de un campo eléctrico para contar y dimensionar partículas que se encuentran en suspensión en un líquido conductor).

La coagulación se realizó en el plasma remanente de los tubos de citrato sódico tras su centrifugación a 1500 rpm durante 5 minutos, en el coagulómetro ACL-TOP de Instrumentation Laboratory Company (IL, Bedford, Massachusetts, USA).

#### 5.4.3.3. Estudio de estrés oxidativo.

Para todas las determinaciones (excepto 8-oxodG) se utilizaron los ensayos espectrofotométricos de Cayman Chemical (Ann Arbor, USA) y se siguió el protocolo metodológico del fabricante, con posterior lectura de las absorbancias en el lector de ELISAS/espectrofotometría Multiskan EX de Thermo Labsystems (Beverly, MA, USA).

La 8-oxodG se determinó por Cromatografía de alta resolución con detección electroquímica (HPLC-EC). Todas las diluciones de muestras, preparación de reactivos y lavados de material para la determinación de EO se realizó con agua de pureza grado HPLC (ultrapura o tipo I).

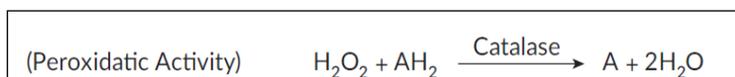
- En las muestras de suero se determinaron CAT, GSH, GSSG e índice GSSG/GSH.
- En las muestras de orina de la mañana, 8-oxodG y F2-Isoprostanos.

#### 5.4.3.3.1 Muestras de suero.

##### 5.4.3.3.1.1 Catalasa (CAT).

Se determinó mediante el test Catalase assay (Nº. de artículo 707002).

Aparte de su actividad catalítica (conversión de dos moléculas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a oxígeno molecular y dos moléculas de agua), la CAT también tiene actividad peroxidásica, en la cual alcoholes alifáticos de pequeño peso molecular pueden servir de donantes de electrones (Figura 30), siendo ésta la utilizada en el ensayo:



**Figura 30. Actividad de la Catalasa** (*Catalase assay, Cayman Chemical*).

El método está basado en la reacción de la enzima en presencia de metanol y una concentración óptima de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . El formaldehído producido es medido colorimétricamente con 4-amino-3-hidracino-5-mercapto-1,2,4-triazol (Purpald) como cromógeno. El Purpald forma específicamente un heterociclo bicíclico con aldehídos, el cual tras la oxidación cambia de incoloro a un color púrpura.

El sobrecalentamiento puede inactivar la enzima, que debe mantenerse fría durante la preparación y el análisis de la muestra.

El ensayo proporciona un estándar de formaldehído (del que se hacen 7 diluciones) y un control positivo, pudiendo realizar 40 muestras en cada placa, todo por duplicado.

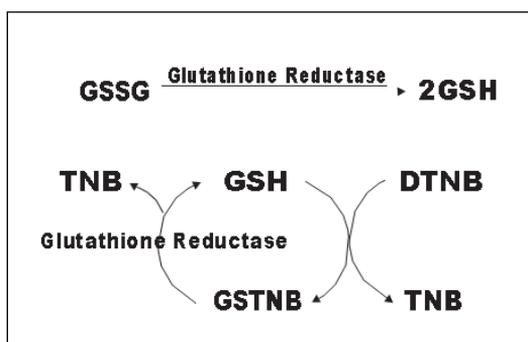
La lectura de las absorbancias se realiza a punto final a 540 nm, calculándose las concentraciones utilizando la ecuación obtenida a

partir de la curva estándar. Los resultados se expresan en nmol/min/mL (mU/mL).

#### 5.4.3.3.1.2. GSH, GSSG e índice GSSG/GSH.

Se analizaron con el reactivo Glutthione assay (Nº. de artículo 703002).

El GSH se oxida fácilmente al dímero de disulfuro GSSG. El GSSG se reduce a GSH por la enzima GR (Figura 31) y es la forma reducida la que existe principalmente en los sistemas biológicos. En este ensayo se utiliza la GR y se miden tanto GSH como GSSG, reflejándose el glutatión total.



**Figura 31. Reacción del reciclado del glutatión reducido.** TNB: 5-tio-2-ácido nitrobenzoico; DTNB: 5,5'-ditio-bis-2ácido nitrobenzoico o reactivo de Ellman; GSTNB: disulfuro mixto, entre GSH y TNB (*Glutthione assay, Cayman Chemical*).

Es importante el paso de la desproteínización previa de las muestras, debido a la interferencia de los grupos sulfhidrilo de las proteínas.

El ensayo también se puede utilizar para medir sólo GSSG; para ello primero se ha de derivatizar (es decir, transformar) el GSH a GSSG añadiendo 10 µl por mL de muestra de una solución 1 M de

2-vinilpiridina (Sigma-Aldrich, Art. N° 13229-2) en etanol después de la desproteínación de la muestra con trietanolamina (TEAM). Los estándares también se han de derivatizar, pero como éstos no han de ser desproteinizados, y por tanto no han sido diluidos a  $\frac{1}{2}$  con TEAM, añadimos sólo 5  $\mu$ l de solución de 2-vinilpiridina por tubo de estándar.

Tras mezclar bien en un agitador tipo vórtex, incubamos a temperatura ambiente durante 60 minutos y ya se puede determinar el GSSG.

Los resultados de ambos se expresan en  $\mu$ mol/mL; el índice GSSG/GSH (en %) se calcula dividiendo ambos y multiplicando por 100.

#### 5.4.3.3.2 Muestras de orina.

Dado que las orinas recogidas por los pacientes eran orinas puntuales de la mañana, los resultados fueron corregidos determinando creatinina en las muestras y así eliminar la variabilidad en la concentración de las mismas, y por tanto, de los metabolitos estudiados.

##### 5.4.3.3.2.1 Creatinina.

Para su análisis se utilizó el Creatinine (urinary) Colorimetric Assay (N° de artículo 500701), también de Cayman Chemical.

Se trata de un ensayo colorimétrico basado en la reacción de Jaffé, en la cual se genera un color amarillo/anaranjado cuando la creatinina se trata con picrato alcalino. La reacción se para después con una solución de pH ácido (mezcla de ácido sulfúrico y ácido acético); la diferencia en la intensidad de color medida a 500 nm

antes y después de la acidificación es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra. La concentración de las muestras se determina a partir de la curva de los estándares.

La curva de calibración se realiza con 8 diluciones del estándar y tanto éstos como las muestras se analizan por duplicado, pudiendo determinar 40 muestras en cada ensayo. Resultados expresados en mmol/L.

#### 5.4.3.3.2.2 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina.

Se utilizó la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección electroquímica (EC) para la estimación de la 8-oxodG. El equipo Waters (Milford, EEUU) consta de una bomba 515 HPLC Pump, el detector 486 Tunable absorbance detector, el 2487 Dual Absorbance Detector, y el 717 plus Autosampler; el detector electroquímico HPLC es el ESA Coulochem II (Hucoa-Erlöss, Madrid), equipado con una celda analítica de alta sensibilidad 5011 (sensibilidad de 1 mA). Está equipado con electrodos coloumétricos (electrodo 1) y amperométricos (electrodo 2) conectados en serie. Los potenciales establecidos para los dos electrodos fueron 0.2 y 0.4V, respectivamente. Se utilizaron las columnas Bond Elute C18 (OH) de Agile (Santa Clara, EEUU) con un caudal de 1 mL/min. El tampón de la fase móvil para la 8-oxodG fue 50 mmol/L de fosfato de potasio pH 5,1 en 5% de acetonitrilo y el tiempo de retención fue de 7,5 minutos. El método de detección de 8-oxodG se basó en el descrito por *Li et al. (2013)* con modificaciones de *Borrego et al. (2013)*.

A las muestras de orina se añadieron 100  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de tampón Tris-EDTA 3 M pH 8,6 y se mezcló en vórtex durante 30 segundos. Para la purificación previa de la muestra, esta solución se introdujo en una columna Bond Elute C18 (OH) SPE (3 mL) previamente preparada con 3 mL de metanol y 3 mL de agua grado HPLC.

La columna se lavó con 3 mL de agua seguidos de 3 mL de acetonitrilo al 2,5% y metanol al 1,5% en 10 mmol/L de tampón borato (pH 7,9). La muestra se eluyó con 3 mL del mismo tampón y se aplicó a una columna de intercambio catiónico fuerte Bond Elute (3 mL) preparada con 3 mL de metanol y 3 mL de tampón borato pH 7,9.

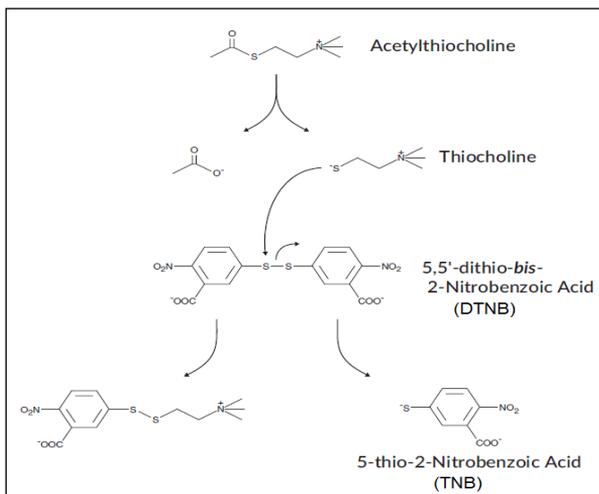
La base modificada 8-oxodG se eluyó con 2 mL de tampón de acetonitrilo/metanol en borato y luego se ajustó a pH 6,0 con 1 mol/L de HCl. A los 2 mL del volumen eluido se añadieron aproximadamente 4 mL de una solución de diclorometano/propanol-2 (50:50); se mezcló en vórtex durante 30 segundos. Una vez centrifugada durante 10 minutos a 3500 rpm, se eliminó la capa acuosa superior por aspiración y los 3 mL de la capa orgánica residual se evaporaron hasta secado completo en la cámara de vacío (Concentrator plus; Eppendorf AG, 2331 Hamburg) a 50°C. Finalmente, la muestra se reconstituyó con 1 mL de tampón fosfato potásico 50 mmol/L (pH 5,1) sin acetonitrilo y se inyectaron 50  $\mu\text{L}$  en la columna de cromatografía HPLC. Las inyecciones de las muestras se realizaron por duplicado.

Como estándar se utilizó 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine >98% de Sigma Aldrich (Saint Luis MO, USA), referencia H5653. Los resultados de la 8-oxodG se expresan en nmol/mmol creatinina.

#### 5.4.5.5.2.3 F2-Isoprostanos.

Se utilizó el 8-Isoprostane ELISA kit (Nº. de artículo 516351), ELISA competitivo basado en la competencia entre el conjugado del 8-Isoprostano y una 8-Isoprostano-acetilcolinesterasa (AChE), trazador de 8-Isoprostano para un número limitado de sitios de unión de anticuerpos de conejo específicos de 8-Isoprostano (Figura 32).

Debido a que la concentración del trazador se mantiene constante, mientras que la concentración de 8-Isoprostano es variable según la muestra, la cantidad de trazador que es capaz de unirse al anticuerpo de conejo será inversamente proporcional a la concentración de 8-Isoprostano en la muestra.



**Figura 32. Esquema de la reacción de F2-Isoprostanos catalizada por la acetilcolina (8-Isoprostane ELISA kit, Cayman Chemical).**

Este complejo de 8-Isoprostano-anticuerpo de conejo (ya sea libre o trazador) se une al anticuerpo monoclonal IgG de ratón anti-anticuerpo de conejo que previamente se había unido al pocillo. La placa se lava para eliminar cualquier reactivo no unido y luego se añade el reactivo de Ellman (ácido 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic]), que contiene el sustrato para la AChE.

El producto de esta reacción enzimática tiene un color amarillo distintivo que absorbe fuertemente a 412 nm. La intensidad de este color, determinada espectrofotométricamente, es proporcional a la cantidad de 8-Isoprostano trazador unido al pocillo, e inversamente proporcional a la cantidad de 8-Isoprostano libre presente en la muestra.

Un gran porcentaje de 8-Isoprostanos puede ser esterificado en lípidos en la muestra y no serán detectados por la medición de 8-Isoprostanos libres, por lo que debemos hidrolizarlos antes. Para ello añadimos un volumen de 15% (p/v) de KOH a todos los tubos e incubamos a 40°C durante 60 minutos. Neutralizamos las muestras mediante la adición de aproximadamente 10 veces el volumen original de la muestra de tampón de fosfato potásico 1 M, pH 7,0-7,4.

Se realizan 8 diluciones del estándar y además se preparan 4 tubos para:

- Blanco (B): absorbancia de fondo causada por el reactivo de Ellman. La absorbancia del blanco debe ser restada de la lectura de absorbancia de las muestras.

- Total actividad (TA): actividad enzimática total del trazador vinculado a la AChE.

- Unión no específica (NSB, *Non-Specific Binding*): unión no inmunológica del trazador al pocillo de reacción. Incluso en ausencia de anticuerpo específico, una pequeña cantidad de trazador puede estar unida al pocillo.
- Máxima unión (B<sub>0</sub>): cantidad máxima de trazador que el anticuerpo puede unir en ausencia de analito libre.

Estos tubos más la curva de calibración fueron analizados por duplicado, y para asegurar la reproducibilidad de resultados, las muestras por triplicado (pudiendo analizar en total 24 en cada ensayo).

Se determinó la concentración de las muestras utilizando la ecuación obtenida a partir de la curva estándar, realizando una transformación logística de las concentraciones. Los resultados se expresaron en pg/mg de creatinina.

#### 5.4.4. Análisis estadístico de los datos.

El análisis estadístico se realizó con el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) en su versión 17.0 para Windows (Chicago, EEUU).

Los resultados de las variables cuantitativas continuas se expresan como media y DE; los datos cualitativos en números absolutos y porcentajes.

Antes de establecer comparaciones se estudió la normalidad de las variables por el método de Kolmogorov-Smirnov. Cuando las variables no siguieron el criterio de normalidad y/o homogeneidad, fueron analizadas mediante métodos no paramétricos.

Las diferencias de medias entre el grupo control y los pacientes fueron analizadas empleando el método paramétrico de la T de Student con prueba de Levene para la igualdad de varianzas (si la prueba de Levene de igualdad de varianzas tiene un valor de  $p > 0,05$  se asume el  $p$  valor de las varianzas iguales y en caso de  $p < 0,05$  se asume el  $p$  valor de las varianzas diferentes); cuando la distribución de las variables no siguió el criterio de normalidad y las varianzas no fueron homogéneas se aplicó el método no paramétrico U de Mann-Whitney.

Cuando la comparación fue entre más de dos medias se utilizó el análisis de la Varianza-ANOVA de una vía para muestras independientes, seguido del test a posteriori (pruebas post hoc) de Student-Newmann-Keuls (SNK) y el ANOVA de medidas repetidas cuando se trató de muestras relacionadas (como en el caso del seguimiento evolutivo de los pacientes), seguido del test post hoc de Bonferroni. Se usó en ambos casos el test de Levene para evaluar la igualdad de varianzas. En el caso de variables no paramétricas se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis.

Se utilizó la prueba de  $\chi^2$  de Pearson para la comparación de variables cualitativas. Para el estudio de las distintas correlaciones entre las variables se practicó una correlación bivariada con P de Pearson en variables de distribución paramétrica y en no paramétricas la Rho de Spearman.

Para efectuar los estudios estadísticos de asociación de las distintas variables con la estadificación tumoral se realizó una transformación de los estadios TNM de la AJCC en las variables

cualitativas 0, 1 y 2 del siguiente modo (*American Cancer Society 2018*): tumores localizados en colon/recto, incluyendo los estadios TNM 0, I y II = Estadio 0; tumores regionales, afectando ganglios linfáticos, estadio TNM III = Estadio 1 y tumores avanzados, con metástasis o invasión en sitios distantes del peritoneo, estadio TNM IV= Estadio 2.

Se realizaron tablas de contingencia y curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para estudiar las características diagnósticas de los marcadores de EO y de los MT.

Para estudiar el potencial valor predictivo independiente del EO en la evolución tumoral, así como de las variables estudiadas en los pacientes que hayan resultado significativas, y de los marcadores de anemia, inflamación y tumorales, se realizaron estudios de regresión: un modelo de regresión lineal múltiple más otro modelo de regresión logística binaria en cada una de las etapas evolutivas de los pacientes durante el estudio.

El nivel de significación estadística utilizado en todos los casos ha sido  $\alpha$ , existiendo diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .



## **6. RESULTADOS**

---



## 6. RESULTADOS.

### 6.1 ANÁLISIS COMPARATIVO DE PACIENTES Y CONTROLES EN PERIODO BASAL.

#### 6.1.1 Características demográfico-antropométricas.

Las diferencias entre ambos grupos se muestran en la siguiente tabla:

Variable	Controles n=60	Pacientes n=80	p valor
Edad (años)	64,0 ± 9,0	67,5 ± 11,8	0,052
Género M/F [n (%)]	36/24 (60/40)	52/28 (65/35)	0,548
Peso (Kg)	74,4 ± 16,3	77,3 ± 15,0	<0,001
Talla (cm)	168,0 ± 11,0	165,5 ± 9,8	<0,001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,1 ± 3,0	28,1 ± 3,9	0,001

**Tabla 5. Variables demográfico-antropométricas de controles y pacientes.** IMC: índice de masa corporal. Resultados expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos.

Las medianas y rangos de edad fueron de 64 años (33-82) para los controles y de 67,5 años (37-89) para los pacientes.

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a edad y sexo, pero sí en cuanto a peso y altura, y consecuentemente en el IMC. Por ello, y dado que la edad también mostraba una tendencia, se realizó un análisis de la Varianza univariante para comparar todos los resultados de los marcadores estudiados introduciendo IMC y edad como covariables, para poder eliminar su posible efecto confusor.

### 6.1.2 Marcadores bioquímicos, hematológicos y tumorales.

Los resultados analíticos bioquímicos, hematológicos y de MT basales en sangre de ambos grupos se muestran en las siguientes tablas 6 a 8:

Variable (Unidades)	Controles n=60	Pacientes n=80	p valor	p* ajustada
Glucosa (mg/dL)	96,2±14,4	116,6±52,3	<0,001	0,001
Creatinina (mg/dL)	0,9±0,2	2,0±8,6	0,319	0,269
Urea (mg/dL)	40,9 ± 7,2	38,8±15,9	0,878	0,296
FGE (mL/min)	81,1±8,7	78,9±20,9	0,399	0,720
Colesterol total (mg/dL)	195,7±34,3	180,4±39,1	0,018	0,026
Colesterol HDL (mg/dL)	50,7±12,8	43,2±10,8	<0,001	<0,001
Colesterol LDL (mg/dL)	144,9±30,0	114,5±34,7	<0,001	<0,001
Triglicéridos (mg/dL)	112,0 (98,0;142,8)	108,5 (83,3;141,0)	0,954	0,777
Ácido úrico (mg/dL)	4,5±1,6	5,3±1,7	0,003	0,058
Albumina (g/dL)	3,9±0,4	4,2±0,5	0,001	<0,001
Proteínas (g/dL)	7,0±0,5	6,9±0,4	0,472	0,577
Ferritina (µg/L)	133,5±75,4	67,5±144,9	0,002	0,008
Hierro (µg/dL)	79,7±19,1	57,6±41,0	<0,001	<0,001
Transferrina (mg/dL)	269,3±46,5	291,1±51,4	0,011	0,016
IST (%)	30,5±8,9	16,2±11,1	<0,001	<0,001
PCR: (mg/L)	6,2±1,3	11,0±23,6	0,072	0,076
IL-6 (pg/mL)	2,7±1,4	19,7±26,5	<0,001	<0,001

**Tabla 6. Parámetros bioquímicos de controles y pacientes;** \*p ajustada por edad e índice de masa corporal; n: número de casos; FGE: Filtrado glomerular estimado; IST: Índice de saturación de la transferrina; PCR: proteína C reactiva; IL-6: interleuquina 6. Los datos se expresan como media ± desviación estándar n: número de casos. Para los valores que no siguen una distribución normal (triglicéridos) se emplea la mediana (cuartil 25;75).

El grupo de pacientes mostró significativamente mayores niveles de glucosa, albúmina, transferrina e IL-6 y menores de colesterol total y fracciones, ferritina, hierro e IST que el grupo control. Sin embargo, no existieron diferencias en creatinina, urea, filtrado glomerular, triglicéridos, proteínas y PCR.

En el caso del ácido úrico, edad e IMC actuaron como factores confusores.

Marcador (Unidades)	Controles n=60	Pacientes n=80	p valor	p* ajustada
Leucocitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	7,0 $\pm$ 1,7	7,7 $\pm$ 1,8	<b>0,016</b>	<b>0,018</b>
Neutrófilos (%)	56,0 $\pm$ 6,0	62,9 $\pm$ 8,4	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Linfocitos (%)	29,8 $\pm$ 10,2	27,7 $\pm$ 12,0	0,221	0,531
N/L (-)	2,1 $\pm$ 1,4	2,7 $\pm$ 1,6	<b>0,005</b>	<b>0,013</b>
Hemoglobina (g/dL)	14,2 $\pm$ 1,5	12,9 $\pm$ 1,9	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Hematocrito (%)	42,5 $\pm$ 4,6	37,7 $\pm$ 5,1	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
VCM (fL)	85,7 $\pm$ 4,8	83,4 $\pm$ 8,4	<b>0,046</b>	0,135
Plaquetas ( $\times 10^5/\text{mm}^3$ )	206,0 $\pm$ 60,0	253,5 $\pm$ 74,0	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Fibrinógeno (mg/dL)	352,3 $\pm$ 70,8	483,8 $\pm$ 101,7	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

**Tabla 7. Parámetros hematológicos de controles y pacientes;** \*p ajustada por edad e índice de masa corporal; n: número de casos; N/L: Índice Neutrófilo/Linfocito; VCM: Volumen corpuscular medio. Datos expresados como media  $\pm$  desviación estándar.

Como se puede observar, no existen diferencias significativas entre ambos grupos en linfocitos y VCM; en este último caso, edad e IMC fueron factores de confusión.

Marcador (Unidades)	Controles n=60	Pacientes n=80	p valor	p* ajustada
CEA (ng/mL)	2,35 $\pm$ 1,15	7,51 $\pm$ 11,0	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>
CA 19.9 (UI/mL)	9,03 $\pm$ 6,53	23 $\pm$ 30,4	<b>0,002</b>	<b>0,011</b>

**Tabla 8. Marcadores tumorales de controles y pacientes;** \*p ajustada por edad e Índice de masa corporal; n: número de casos. Resultados expresados como media  $\pm$  desviación estándar. CEA: antígeno carcinoembrionario; CA 19.9: antígeno carbohidrato 19.9.

En cuanto a los MT se observan diferencias significativas entre ambos grupos de controles sanos y pacientes.

### 6.1.3 Marcadores de estrés oxidativo.

A continuación se muestran los marcadores determinados en suero y orina (Tabla 9):

Marcador (Unidades)	Controles n=60	Pacientes n=80	p valor	p* ajustada
CAT (mU/mL) <sup>a</sup>	229,7±45,6	149,4±54,2	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>
GSH (μmol/mL) <sup>a</sup>	5,94±0,79	2,69±0,96	<b>0,041</b>	<b>&lt;0,001</b>
GSSG (μmol/mL) <sup>a</sup>	0,45±0,16	1,10±0,47	<b>0,039</b>	<b>&lt;0,001</b>
GSSG/GSH (%) <sup>a</sup>	8,17±2,74	51,3±31,4	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
8-oxodG (nmol/mmol creatinina) <sup>b</sup>	2,84±1,44	12,9±5,48	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
F2-IsoPs (pg/mg creatinina) <sup>b</sup>	18,4±9,12	109,7±51,0	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

**Tabla 9. Marcadores basales de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) en controles y pacientes;** \*p ajustada por edad e Índice de masa corporal; n: número de casos. CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar.

Por lo que respecta a los marcadores de EO, la diferencia de medias fue significativa también para CAT, GSH y GSSH tras el ajuste realizado teniendo en cuenta las covariables edad e IMC.

## 6.2 VARIABLES ESTUDIADAS EN LOS PACIENTES.

### 6.2.1 PARÁMETROS ANALÍTICOS BASALES PATOLÓGICOS.

#### 6.2.1.1 Marcadores tumorales.

Con respecto a los MT, presentaron elevaciones del CEA 24 pacientes (30%) y del CA 19.9, 14 pacientes (17,5%).

#### 6.2.1.2. Marcadores de inflamación.

Entre los marcadores de inflamación, la IL-6 se elevó por encima de los valores de referencia en más de la mitad de los

pacientes (en 42, es decir, en el 52,5%), seguida de los neutrófilos en 35 (43,8%), fibrinógeno en 26 (32,5%) y PCR en 19 (23,8%); los leucocitos sólo aumentaron en 2 pacientes (2,5%) , lo mismo que el índice Neutrófilo/Linfocito (2,5%) y, por último, sólo en 1 paciente (1,3%) las plaquetas.

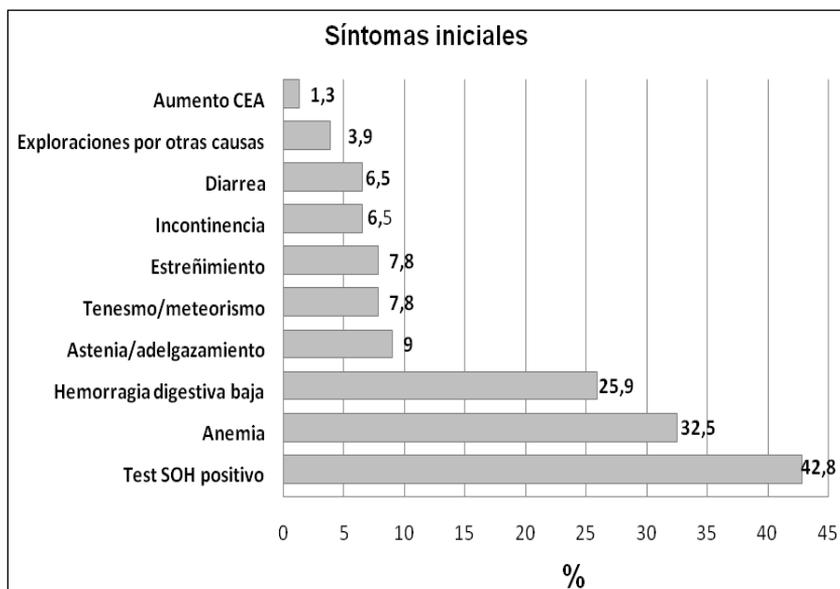
#### 6.2.1.3 Marcadores de anemia.

El parámetro que más se alteró fue el hematocrito, que descendió en 45 pacientes (56%), seguido del hierro e IST en 42 pacientes (en ambos, el 52,5%); a continuación, la ferritina en 38 pacientes (47,5%), la hemoglobina en 32 (40%) y el VCM en 24 (30%). La transferrina aumentó por encima de los valores de referencia en 7 pacientes (8,3%).

### 6.2.2 PARÁMETROS CLÍNICOS.

#### 6.2.2.1 Signos/síntomas iniciales.

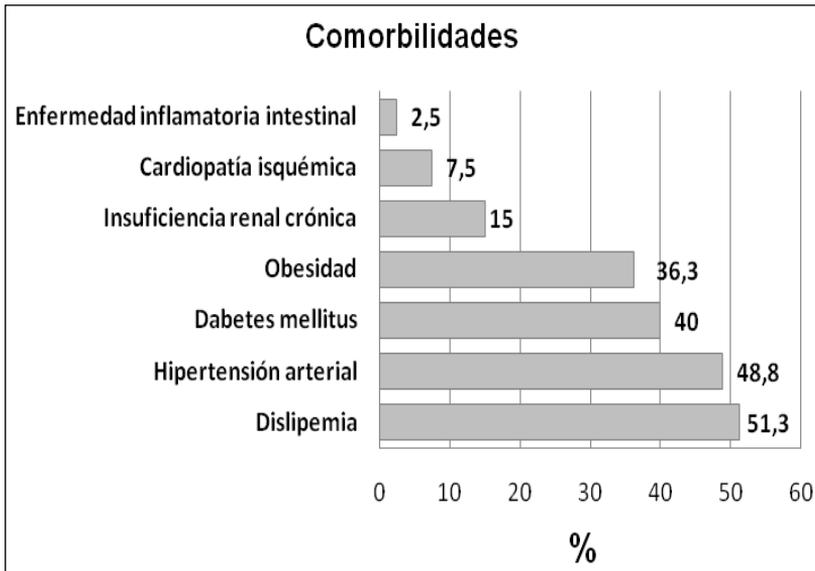
De todos los signos y síntomas por los que se llegó al diagnóstico de CCR en los pacientes, previamente a su inclusión en el estudio, en la mayoría de casos fue por la positividad del SOH, seguido de la constatación de anemia en la analítica sanguínea, aparición de sangre visible en las heces y ya a más distancia por adelgazamiento y síntomas como dolor abdominal (figura 33).



**Figura 33. Signos/síntomas clínicos iniciales de sospecha. SOH:** test de sangre oculta en heces.

#### 6.2.2.2 Comorbilidades.

La patología asociada más prevalente fue la dislipemia, en 41 pacientes (51,3%), seguida de HTA en 39 (48,8%), DM en 32 (40%) y obesidad en 29 (36,3%); la IRC, definida por un filtrado glomerular inferior a 60 mL/minuto, se encontró en 12 pacientes (15%), la cardiopatía isquémica en 6 (7,5%) y la EII en 2 (2,5%) (Figura 34).



**Figura 34. Comorbilidades presentes en los pacientes.**

En cuanto a los tratamientos seguidos por los pacientes, llevaban terapia farmacológica los cardiopatas (todos con dosis bajas de AAS, el 7,5% sobre el total de pacientes); también llevaban tratamiento 34 de los dislipémicos (42,5%, de los cuales 32 con estatinas, es decir, el 40%), 38 de los hipertensos (47,5%) y de los diabéticos sólo 10 pacientes llevaban tratamiento con insulina, es decir, el 12,5%.

#### 6.2.2.3 Hábitos tóxicos.

Eran fumadores 10 pacientes (12,5%), no fumadores 34 (42,5%) y ex fumadores 36 (45%), de modo que habían fumado alguna vez en su vida 46 pacientes (57,5%). Dos de los 10 fumadores (3,8%) fumaban más de 10 cigarrillos diarios.

En cuanto al alcohol, admitían beber 40 pacientes (50%), de los cuales 7 (8,8%) bebían más de 7 unidades semanales.

#### 6.2.2.4 Adherencia a la dieta mediterránea.

La puntuación media obtenida fue de 8,6 (sobre 14 máximos totales). Afirmaron buena

adherencia a la dieta mediterránea 41 pacientes (51,3%), siendo los ítems más cumplidos por el total de los 80 pacientes los números 1, 6, 7 y 13 (85%), seguidos del 2 (81,3%), 5 (73,8%), 14 (71,3%), 11 (62,5%), 4 (60%), 12 (50%), 10 y 3 (cada uno 33,8%), 9 (28,8%) y por último el 8 (25%) (véase Anexo III).

#### 6.2.2.5 Variables referidas al tumor.

##### 6.2.2.5.1 Antecedentes familiares de CCR.

Existían antecedentes de CCR en familiares de primer grado en 13 pacientes (16,3%) y de segundo-tercer grado en 11 pacientes (13,8%). Hubo 6 pacientes (7,5%) con menos de 50 años y ninguno de ellos tenía antecedentes en familiares de primer grado, aunque sí de segundo-tercero.

Hubo un caso de sospecha de síndrome de Lynch al cumplir alguno de los criterios de Bethesda: se trató de una paciente de 48 años con tumor en sigma más tumoración en ovario, con un hermano de 50 años afecto de CCR. Pero este diagnóstico fue descartado por varios motivos: tumor de localización en colon distal y el tumor de ovario no se consideró sincrónico, sino una metástasis, al tener la misma histología que el colónico (adenocarcinoma); el hermano se considera familiar de segundo grado y no presentó IMS

(sin pérdida de expresión nuclear de MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6); el KRAS y NRAS eran nativos.

#### 6.2.2.5.2 Tamaño tumoral.

De los 76 pacientes intervenidos, la media del diámetro tumoral mayor fue de  $4,2 \pm 1,9$  cm. Este diámetro fue inferior a 6 cm en la mayoría de tumores (en 67, es decir, en el 88,2%) frente al 11,8% de tumores grandes, mayores de 6 cm, que alcanzó hasta 9 cm en un paciente. Todos los adenomas tuvieron un diámetro  $>1$  cm.

#### 6.2.2.5.3 Histología.

Los tipos histológicos de los tumores se muestran en la tabla 10.

Del total de adenomas, hubo 1 tubular (1,3%), 1 túbulo-velloso (1,3%) y 6 vellosos (7,6%). La mitad de los vellosos fueron de alto grado de displasia. La mayoría de los carcinomas fueron adenocarcinomas y sólo 7 de ellos eran de alto grado de la OMS (8,9%).

El GIST (*gastrointestinal stromal tumor* según sus siglas en inglés), tumor mesenquimatoso perteneciente a la familia de los sarcomas de tejidos blandos, se presentó en un paciente en recto y ano.

<b>Tipo histológico cáncer</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Adenoma	8	10,1
Adenocarcinoma	66	83,5
Carcinoma mucinoso	2	2,5
Adenocarcinoma/carcinoma mucinoso	1	1,3
Carcinoma mucinoso /Carcinoma de células en anillo	1	1,3
Tumor del estroma (GIST)	1	1,3

**Tabla 10. Histología tumoral del cáncer colorrectal;** n: número de casos.

Excluyendo el tumor GIST, fueron de bajo grado histológico de la OMS los tumores de 69 pacientes (87,3%), y de alto grado los 10 restantes (13,9%).

#### 6.2.2.5.4 Estadio tumoral.

Los pacientes fueron clasificados por el sistema TNM, aplicable sólo a los carcinomas, por lo que el tumor GIST no se pudo clasificar. Los resultados fueron (Tabla 11):

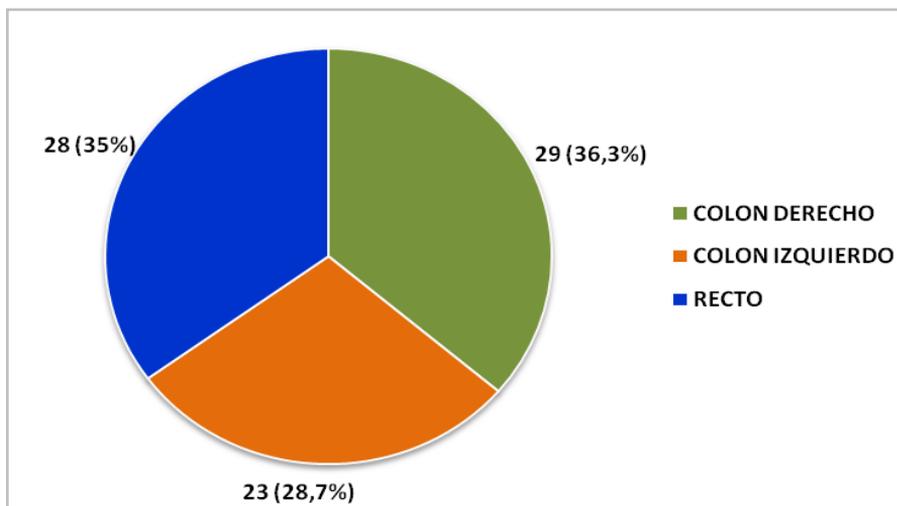
<b>Estadio</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>0</b>	<b>8</b>	<b>10,1</b>
<b>I</b>	<b>16</b>	<b>20,3</b>
<b>II</b>	<b>20</b>	<b>25,3</b>
A	18	22,8
B	2	2,5
<b>III</b>	<b>26</b>	<b>32,9</b>
A	3	3,8
B	13	16,5
C	10	12,6
<b>IV</b>	<b>9</b>	<b>11,4</b>
A	8	10,1
B	1	1,3

**Tabla 11. Estadificación TNM de los tumores colorrectales;**  
n: número de casos.

Estos estadios los reagrupamos para el estudio de correlación como se indicó anteriormente en las variables cualitativas 0, 1 y 2, quedando distribuidos los tumores de los pacientes en: localizados (Estadio 0) = 44 pacientes (55,7%); en progresión (Estadio 1): 26 pacientes (32,9%) e invasivos (Estadio 2): 9 pacientes (11,4%).

#### 6.2.2.5.5 Localización.

De los 80 pacientes estudiados, 52 eran tumores de colon (65%) y 28 de recto (35%); su localización se muestra en la siguiente figura:



**Figura 35. Localización de los tumores colorrectales.**

A 6 pacientes (7,5%) se les diagnosticaron neoplasias sincrónicas al hacer el diagnóstico del tumor principal: 3 pacientes en colon derecho e izquierdo, 1 en colon izquierdo y recto medio, 1 paciente con ambos tumores en el recto (uno en tercio superior y otro a 5 cm del ano, en recto inferior) y otro paciente en recto medio y estómago.

#### 6.2.2.5.6 Afectación peritumoral.

Se encontró afectación de bordes de resección en 7 pacientes (9,2%), perineural en 7 (9,2%) e invasión vascular extramural también en 7 (9,2%), no siempre coincidentes.

#### 6.2.2.5.7 Tipo de cirugía.

En la mayoría de casos se realizó cirugía laparoscópica, siendo abierta (laparotomía) sólo en 10 casos de los 76 pacientes intervenidos (13,2%). De los 4 pacientes restantes, 1 tenía tumoración en sigma y se operó en otro Centro sanitario; los otros 3

eran cánceres de recto que no se operaron tras recibir tratamiento neoadyuvante con quimiorradioterapia.

Se realizaron las siguientes intervenciones, teniendo en cuenta que a algunos pacientes se les realizaron dos tipos de exéresis por tumores sincrónicos o para mejorar el tránsito intestinal:

- Resección segmentaria derecha: 1 (1,3%).
- Hemicolectomía derecha: 7 (9,2%).
- Hemicolectomía derecha ampliada: 1 (1,3%).
- Colectomía derecha: 17 (22,4%).
- Colectomía derecha ampliada: 8 (10,5%).
- Sigmoidectomía: 15 (19,7%).
- Hemicolectomía izquierda: 2 (2,6%).
- Colectomía total: 2 (2,6%).
- Resección endoscópica transanal: 4 (5,3%).
- Resección anterior baja de recto: 21 (27,6%).
- Intervención de Hartmann: 3 (3,9%).

La intervención más practicada fue la resección anterior baja de recto, seguida de la colectomía derecha.

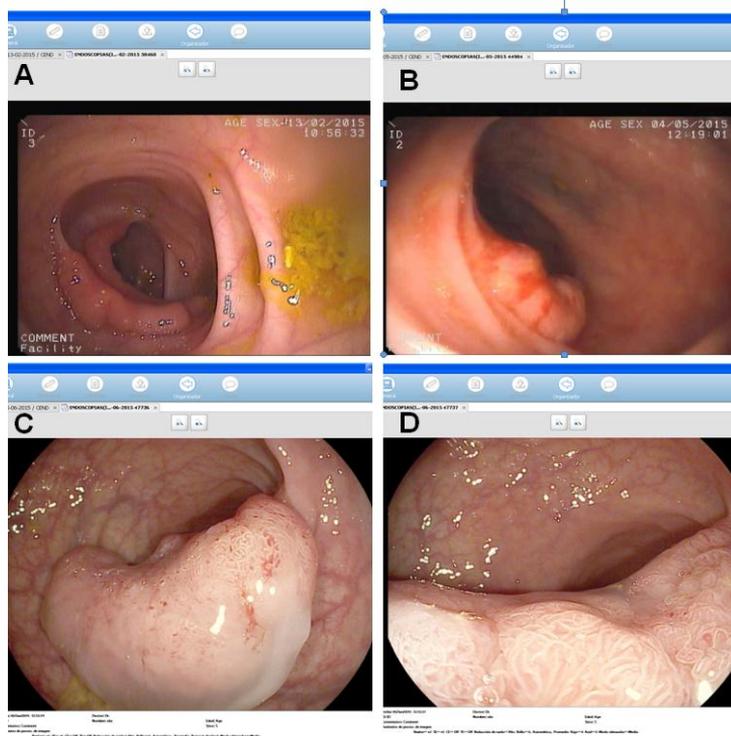
#### 6.2.2.5.8 Tratamiento pre y postcirugía (neoadyuvante y adyuvante).

Excluyendo un paciente derivado a otro Centro sanitario, recibieron tratamiento previo un total de 11 pacientes (13,9%): 8 quimioterapia más radioterapia (10,1%) y 3 sólo quimioterapia (3,8%). En todos los casos se trató de neoplasias de recto avanzadas.

Tras la cirugía, recibieron ciclos de quimioterapia 37 pacientes (46,8%), a uno de los cuales se le añadió también radioterapia.

#### 6.2.2.5.9 Lesiones asociadas.

Se encontraron pólipos adenomatosos coexistentes con el tumor en 36 pacientes (45,6%), de los cuales 20 tenían componente vellosos (55,5%), siendo de alto grado 8 de ellos (22,2%), lo que les confiere características de adenomas avanzados. Aunque en la mayoría de casos los pólipos eran pediculados, en algunos pacientes eran de base ancha (sésil), como se muestra en la figura 36, correspondientes a diferentes pacientes del estudio.



**Figura 36. Endoscopia digestiva baja.** Pólipos adenomatosos de base ancha, abarcando gran parte de la luz del colon. A y B: Adenomas tubulares; C y D: Adenomas vellosos.

En 15 pacientes (19,0%) se asoció diverticulosis, presente en colon sigmoideo en todos los casos y fue múltiple, afectando a todo el colon, en 6 de ellos (7,6%).

#### 6.2.2.5.10 Estudio de IMS, KRAS, NRAS, BRAF y Kit.

Se estudió en todos los pacientes con antecedentes familiares de CCR (24) la pérdida de expresión nuclear de los genes reparadores de errores de la replicación del ADN (IMS): MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, encontrando pérdida de expresión de PMS2 en dos pacientes y de MLH1 en uno (total en 3 pacientes, el 12.5%).

En los 9 pacientes que se hallaban en estadio IV tumoral, con la finalidad de establecer terapia con fármacos anti-EGFR, se solicitó el estudio de los genes RAS y BRAF, encontrando 4 KRAS mutados (mutación en el codón 12 o 13), mientras que todos los NRAS y BRAF fueron nativos.

También se estudió en el tumor GIST la mutación del gen Kit, localizado en el cromosoma 4q12, proto-oncogén que codifica para el receptor del Stem cell factor o CD117, determinación indicada en las guías del European Group on Tumor Markers (*Duffy et al., 2014*). Se encontró una mutación en el exón 11 en este paciente.

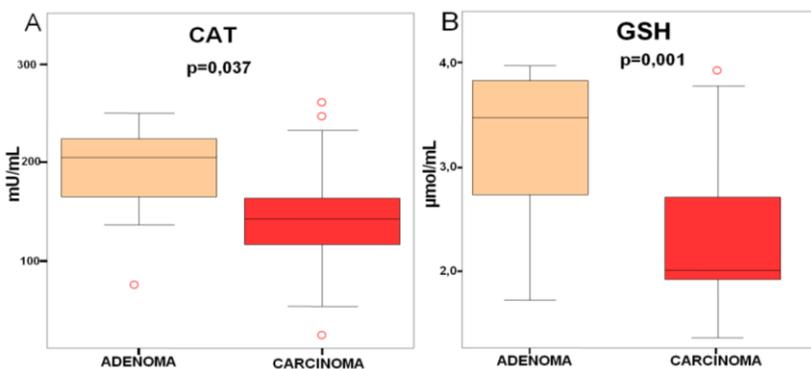
#### 6.2.2.5.11 Evolución post-tratamiento.

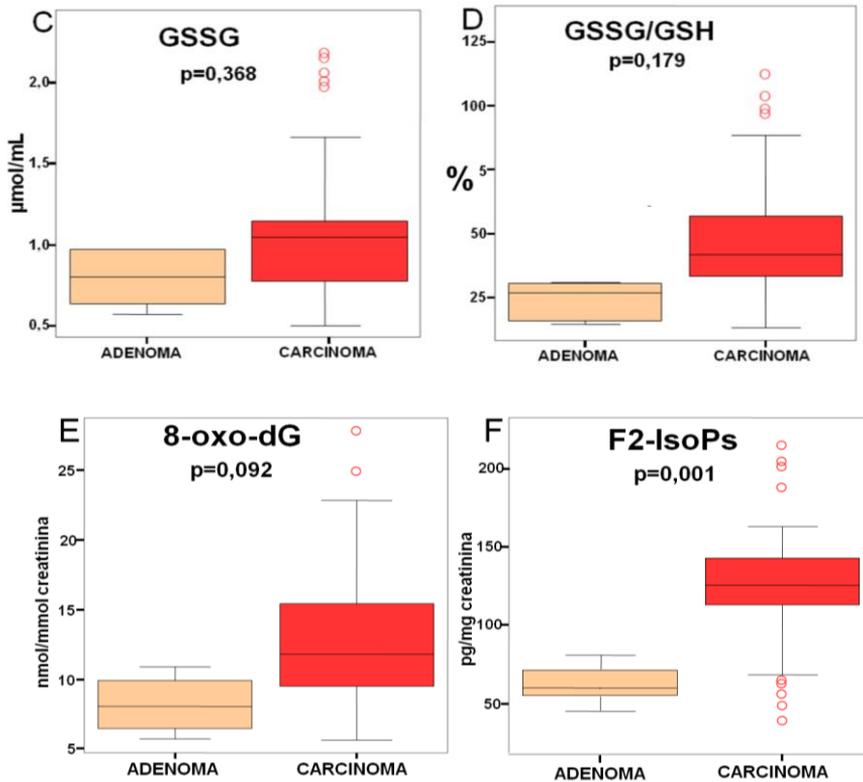
- Aparición de 17 complicaciones postoperatorias (22,4%):
  - Inmediatas, 11 (14,5%): 3 íleos (3,9%), 3 hemorragias (3,9%), 3 dehiscencias de sutura (3,9%), 1 evisceración (1,3%) y 1 lesión de vasos mesentéricos con hemoperitoneo (1,3%),
  - Tardías, 6 (7,9%): 3 oclusiones (3,9%), 2 eventraciones y 1 estenosis de la anastomosis (1,3%).

- Necesidad de reintervención: en 8 casos (10,5%).
- Recidivas en 5 pacientes (6,3%).
- Aparición de metástasis en 10 pacientes (12,7%): 6 en hígado (7,6%), 4 en peritoneo (5%) o carcinomatosis peritoneal y uno de estos últimos presentó también una tumoración cerebral (1,3%).
- Éxitus. Se produjeron 5 (6,3%) en el tiempo total del estudio:
  - Precoces: 3 pacientes; dos fallecieron al mes del control preoperatorio, que no habían sido intervenidos (recibieron tratamiento neoadyuvante) y otro al mes de la cirugía (a los 2 meses del control basal preoperatorio).
  - Tardías: 2 pacientes, al año del control basal (uno de los cuales tampoco había sido intervenido).

### 6.2.3 COMPARACIÓN ADENOMAS/CARCINOMAS.

Se comparó en los pacientes el comportamiento de los marcadores de EO en los adenomas y los carcinomas:

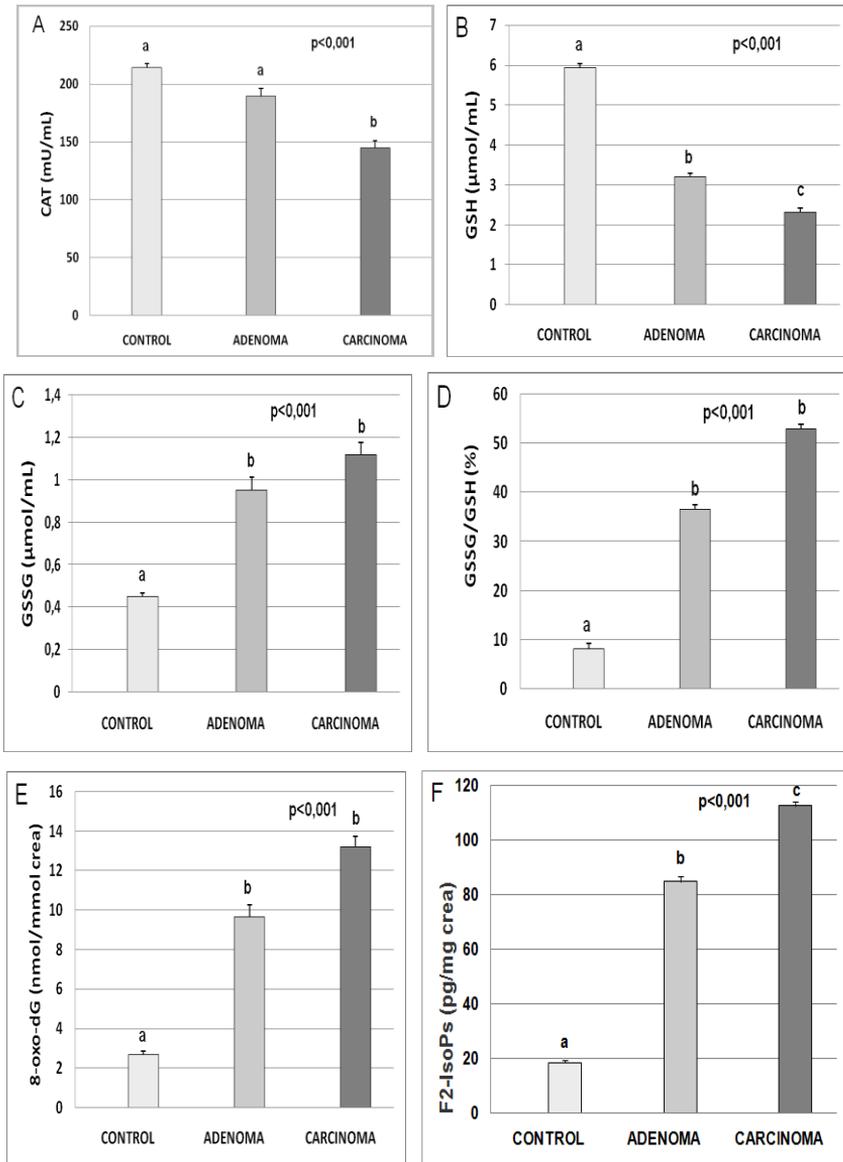




**Figura 37. Comparación de medias de marcadores de estrés oxidativo entre adenomas y carcinomas.** En suero = A: Catalasa; B: Glutathión reducido; C: GSSG: Glutathión oxidado; D: Relación GSSG/GSH. En orina = E: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F: F2-Isoprostanos.

Se encontraron diferencias significativas en los resultados de EO entre los adenomas y los carcinomas en CAT, GSH y F2-Isoprostanos.

Se realizó un ANOVA de un factor introduciendo los resultados del grupo de controles para compararlo con los de los adenomas y carcinomas (Figura 38):



**Figura 38. Diferencias de medias de los marcadores de estrés oxidativo entre controles y dos grupos de pacientes según el tipo de tumor (adenoma y carcinoma).** En suero = A: Catalasa; B: Glutathión reducido; C: GSSG: Glutathión oxidado; D: Relación GSSG/GSH. En orina = E:8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F: F2-Isoprostanos. Las diferencias estadísticas entre los tres grupos se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos con letras, de tal forma que las medias con las mismas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

En todos los casos existen diferencias significativas entre los tres grupos ( $p < 0,001$ ); también entre controles y adenomas, excepto en el caso de la CAT, y entre adenomas y carcinomas (excepto para GSSG, GSSG/GSH y 8-oxodG).

#### 6.2.4 COMPARACIÓN DEL TUMOR GIST CON ADENOMAS/ CARCINOMAS.

Se ha querido estudiar y comparar el comportamiento del tumor GIST respecto a los tumores carcinomatosos. Revisada la historia clínica del paciente, no presentó antecedentes de CCR, ni DM, pero sí HTA e historia de cardiopatía isquémica, por lo que llevaba tratamiento crónico con AAS a dosis bajas. Era exfumador, tomaba alcohol y no presentó adherencia a la dieta mediterránea.

El tumor era de localización rectal, de diámetro mayor inferior a 6 cm y no presentó complicaciones ni recidivas posteriores tras el tratamiento neoadyuvante.

Por lo que se refiere a los niveles de los MT y de EO comparados con los restantes tumores de los pacientes, los resultados se muestran en la siguiente tabla:

<b>Marcador (Unidades)</b>	<b>Tumor GIST (n=1)</b>	<b>Adenomas/Carcinomas (n=79)</b>	<b>p valor</b>
<b>CEA</b> suero (ng/mL)	2,00	7,59±11,1	0,618
<b>CA 19.9</b> suero (UI/mL)	2,50	23,3±30,5	0,502
<b>CAT</b> suero (mU/mL)	163,7	149,1±54,5	0,760
<b>GSH</b> suero (μmol/mL)	3,77	2,39±0,68	0,058
<b>GSSG</b> suero (μmol/mL)	0,50	1,11±0,47	0,207
<b>GSSG/GSH</b> suero (%)	13,3	51,7±31,3	0,235
<b>8-oxodG</b> orina (nmol/mmol creatinina)	6,98	13,0±4,80	0,230
<b>F2-IsoPs</b> orina (pg/mg creatinina)	42,2	109,1±51,5	<b>&lt;0,001</b>

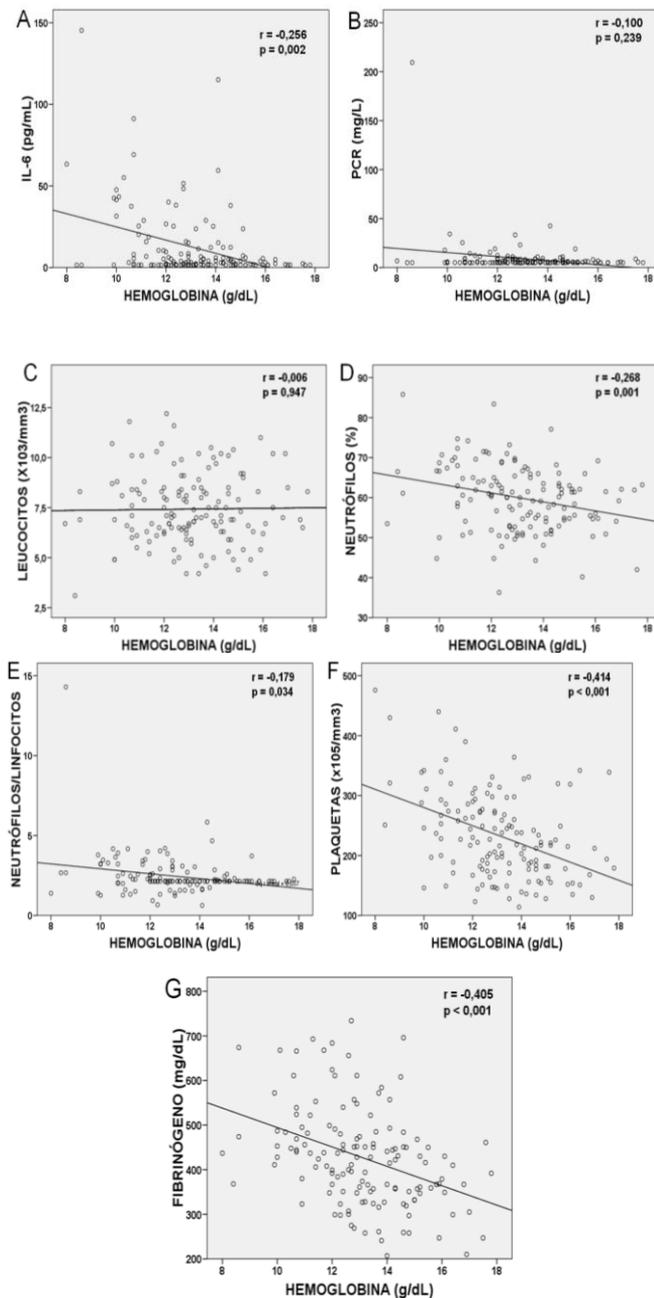
**Tabla 12. Comparación de resultados de marcadores tumorales y de estrés oxidativo entre el tumor GIST y el resto de adenomas y carcinomas.** CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina. F2-IsoPs: F2-Isoprosanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos.

Existen diferencias significativas con el resto de tumores sólo en el caso de los F2-Isoprosanos.

### 6.2.5 CORRELACIÓN DE LA HEMOGLOBINA.

Se ha estudiado la correlación de la hemoglobina con otros marcadores y variables aplicando el coeficiente de correlación de Pearson en las variables paramétricas y el de Spearman en las no paramétricas.

#### 6.2.5.1 Con marcadores de inflamación (Figura 39):



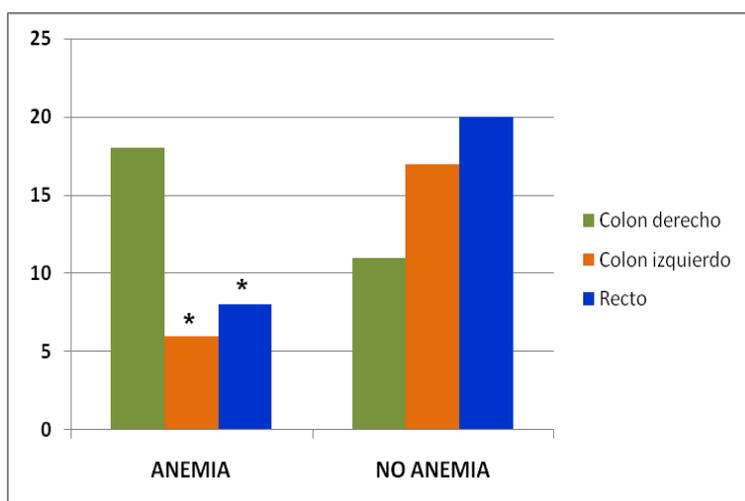
**Figura 39. Correlación de la hemoglobina con marcadores de inflamación.**

A: IL-6; B: PCR; C: leucocitos; D: neutrófilos; E: índice neutrófilo/linfocito; F: plaquetas; G: fibrinógeno; r: coeficiente de correlación; p: significación.

Se observa correlación negativa de la hemoglobina, de débil a moderada, con todos los marcadores de inflamación, excepto con leucocitos y PCR.

#### 6.2.5.2 Con localización del tumor.

Para relacionar la anemia con localización tumoral se utilizó la variable categórica hemoglobina baja (por debajo del valor de referencia según sexo) y se realizó el test de  $\chi^2$ ; se obtuvieron los siguientes resultados:



**Figura 40. Frecuencia de anemia según la localización tumoral;** \* $p < 0,05$ , indica asociación entre anemia y localización tumoral cuando se compara colon derecho con colon izquierdo y recto.

Al relacionar la presencia de anemia con localización del tumor, se observó asociación al comparar los tumores de colon derecho con los localizados en colon izquierdo ( $p=0,010$ ) y recto ( $p=0,011$ ); en cambio, no se observó entre colon izquierdo y recto ( $p=0,843$ ).

## 6.2.6 CORRELACIÓN DE MARCADORES DE INFLAMACIÓN CON MARCADORES TUMORALES.

Se han estudiado correlaciones de los marcadores inflamatorios con los tumorales aplicando el coeficiente de correlación de Pearson en las variables de distribución paramétrica y el de Spearman en las no paramétricas (Tabla 13):

Marcador	PCR (mg/mL)	IL-6 (pg/mL)	Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Neutrófilos (%)	N/L (-)	Plaquetas (x10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup> )	Fibrinógeno (mg/dL)
<b>CEA (ng/mL)</b>							
r	0,138	0,356	0,080	0,103	0,203	0,082	0,196
p	0,106	<b>&lt;0,001</b>	0,348	0,231	<b>0,017</b>	0,342	<b>0,021</b>
<b>CA 19.9 (UI/mL)</b>							
r	0,008	0,085	0,064	0,138	0,191	0,168	0,299
p	0,928	0,319	0,453	0,107	<b>0,025</b>	<b>0,049</b>	<b>&lt;0,001</b>

**Tabla 13. Correlación entre marcadores tumorales y marcadores de inflamación sistémica.** N/L: índice neutrófilo/linfocito.

La correlación entre ambos tipos de marcadores osciló entre débil y moderada, destacando IL-6 con CEA; e índice N/L, plaquetas y fibrinógeno con CA 19.9.

## 6.2.7 ASOCIACIONES DE LA DIETA MEDITERRÁNEA.

Para ello se ha aplicado el test  $\chi^2$  de Pearson y el test de Student.

### 6.2.7.1 Con las comorbilidades.

No se encontró asociación con ninguna de las comorbilidades que presentaban los pacientes:

Variable	Adherencia (%)	No adherencia (%)	r	p valor
<b>Obesidad</b>			0,087	0,439
No (n=52)	51,9	48,1		
Sí (n=28)	60,7	35,7		
<b>Hipertensión arterial</b>			0,001	0,996
No (n=41)	48,8	51,2		
Sí (n=39)	48,7	51,3		
<b>Dislipemia</b>			-0,001	0,996
No (n=39)	48,7	51,3		
Sí (n=41)	48,8	51,2		
<b>Diabetes</b>			0,057	0,610
No (n=48)	51,0	49,0		
Sí (n=32)	45,2	54,8		
<b>Cardiopatía isquémica</b>			-0,004	0,974
No (n=74)	50,0	50,0		
Sí (n=6)	50,0	50,0		
<b>Insuficiencia renal</b>			0,060	0,600
No (n=68)	50,0	50,0		
Sí (n=12)	41,7	58,3		
<b>Enfermedad inflamatoria intestinal</b>			0,156	0,162
No (n=78)	54,5	35,1		
Sí (n=2)	50,0	50,0		

**Tabla 14. Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con las comorbilidades de los pacientes;** r: coeficiente de correlación; p: significación.

#### 6.2.7.2 Con estadio tumoral.

Tampoco se observó asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con estadio tumoral:

Variable	Estadio 0 (%)	Estadio 1 (%)	Estadio 2 (%)	r	p valor
<b>Dieta mediterránea</b>				0,107	0,220
No adherencia (n=39)	47,4	36,8	15,8		
Adherencia (n=41)	61,0	34,1	4,9		

**Tabla 15. Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con estadio tumoral;** r: coeficiente de correlación; p: significación.

### 6.2.7.3 Con factores relacionados con el tumor.

Se encontró asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el grado histológico del tumor, así como con la coexistencia de adenomas en los pacientes:

Variable	No adherencia (%)	Adherencia (%)	r	p valor
<b>Diámetro mayor tumor</b>			0,079	0,923
<6 (n=67)	47,8	52,2		
≥6 (n=9)	44,4	55,5		
<b>Grado histológico OMS</b>			-0,243	<b>0,031</b>
Bajo (n=69)	43,5	56,5		
Alto (n=10)	80,0	20,0		
<b>Coexistencia adenomas</b>			-0,238	<b>0,034</b>
No (n=44)	37,2	62,8		
Sí (n=36)	61,1	38,9		
<b>Diverticulosis</b>			0,143	0,203
No (n=65)	51,6	48,4		
Sí (n=15)	33,3	66,7		
<b>Metástasis post-tratamiento</b>			-0,025	0,825
No (n=69)	46,3	53,7		
Sí (n=10)	50,0	50,0		
<b>Localización tumor</b>			-0,163	0,137
Colon derecho (n=29)	34,5	65,5		
Colon izquierdo (n=23)	60,9	39,1		
Recto (n= 28)	53,6	46,4		
<b>Tumores sincrónicos</b>			-0,007	0,949
No (n=74)	48,6	51,4		
Sí (n=6)	50,0	50,0		
<b>Complicaciones</b>			0,127	0,270
No (n=61)	49,2	50,8		
Sí (n=15)	33,3	66,7		
<b>Recidiva tumoral</b>			-0,011	0,926
No (n=74)	46,7	53,3		
Sí (n=2)	50,0	50,0		

**Tabla 16. Asociación de la adherencia a la dieta mediterránea con los factores relacionados con el tumor; r: coeficiente de correlación; p: significación.**

#### 6.2.7.4 Con marcadores tumorales.

No se observaron diferencias significativas en las medias de los resultados de los marcadores tumorales según la adherencia a la dieta mediterránea:

Variable (Unidades)	No adherencia (n=39)	Adherencia (n=41)	p valor
CEA (ng/mL)	7,90±10,2	7,13±11,8	0,757
CA 19.9 (U/mL)	24,6±30,3	20,8±30,2	0,227

**Tabla 17. Comparación de los marcadores tumorales según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.** Resultados expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

#### 6.2.7.5 Con marcadores bioquímicos.

Sólo se observaron diferencias significativas en los resultados bioquímicos según la adherencia a la dieta mediterránea en el caso del colesterol HDL:

Variable (Unidades)	No adherencia (n=39)	Adherencia (n=41)	p valor
Glucosa (mg/dL)	116,3±40,6	116,9±30,2	0,943
Colesterol total (mg/dL)	181,3±36,0	179,6±42,2	0,850
Colesterol HDL (mg/dL)	40,8±9,77	45,5±11,4	<b>0,048</b>
Colesterol LDL (mg/dL)	115,7±33,6	115,3±36,2	0,762
Triglicéridos (mg/dL)	109 (83,0;150,0)	106,0 (81,5;1133,5)	0,185
Ácido úrico (mg/dL)	5,1±1,8	5,5±1,6	0,282
Albúmina (g/dL)	4,2±0,3	4,2±0,6	0,505

**Tabla 18. Comparación de los marcadores bioquímicos según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.** Resultados expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

#### 6.2.7.6 Con marcadores de inflamación y de anemia.

Tampoco se encontraron diferencias significativas en las medias de estos marcadores (tablas 19 y 20):

Marcador (Unidades)	No adherencia (n=39)	Adherencia (n =41)	p valor
IL-6 (pg/mL)	16,9±20,9	22,3±30,9	0,372
PCR (mg/L)	9,2±8,1	12,7±32,1	0,510
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,8±1,9	7,7±1,7	0,881
Neutrófilos (%)	63,6±8,2	62,3±8,7	0,500
N/L (-)	2,6±1,1	2,8±2,1	0,632
Plaquetas (x10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup> )	260,4±63,7	247,0±82,9	0,423
Fibrinógeno (mg/dL)	489,9±107,9	478,0±96,5	0,605

**Tabla 19. Comparación de los marcadores inflamatorios según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.** PCR: proteína C reactiva; N/L: índice neutrófilo/linfocito. Resultados expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

Marcador (Unidades)	No adherencia (n=39)	Adherencia (n=41)	p valor
Hemoglobina (g/dL)	12,4±1,9	12,1±1,8	0,421
Hematocrito (%)	38,3±5,2	37,1±4,9	0,319
VCM (fL)	83,0±8,5	83,8 ±8,4	0,705
Hierro (µg/dL)	53,7±37,3	61,2±41,4	0,414
Ferritina (µg/L)	67,1±188,1	67,9±88,7	0,981
Transferrina (mg/dL)	293,8±50,2	288,6±52,9	0,655
IST (%)	15,2±11,5	17,1±10,8	0,444

**Tabla 20. Comparación de los marcadores de anemia según adherencia de los pacientes a la dieta mediterránea.** VCM: volumen corpuscular medio; IST: índice de saturación de la transferrina. Resultados expresados como media±desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

## 6.2.8 RELACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO CON DISTINTOS FACTORES CLÍNICOS DE LOS PACIENTES.

Al comparar las medias de los marcadores de EO en suero y orina de pacientes con CCR con el test de Student, se han encontrado los siguientes resultados:

## 6.2.8.1 Con las comorbilidades y factores de riesgo.

Se ha estudiado la influencia en los marcadores de EO de las variables senectud (edad > 65 años), obesidad (IMC  $\geq$  30 Kg/m<sup>2</sup>), dislipemia, DM, HTA, IRC, cardiopatía isquémica, EII y los hábitos tabaco y alcohol (Tabla 21):

Parámetro	CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	GSH <sup>a</sup> ( $\mu$ mol/mL)	GSSG <sup>a</sup> ( $\mu$ mol/mL)	GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)
<b>Edad (años)</b>						
<65 (n=33)	150,0 $\pm$ 55,9	2,29 $\pm$ 0,65	1,07 $\pm$ 0,45	51,6 $\pm$ 29,1	12,7 $\pm$ 4,98	110,5 $\pm$ 55,6
$\geq$ 65 (n=47)	149,2 $\pm$ 53,6	2,49 $\pm$ 0,73	1,12 $\pm$ 0,48	51,1 $\pm$ 33,2	12,9 $\pm$ 4,66	109,5 $\pm$ 56,7
p valor	0,969	0,197	0,648	0,945	0,903	0,707
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>						
<30 (n=52)	148,7 $\pm$ 57,7	2,45 $\pm$ 0,72	1,13 $\pm$ 0,48	51,3 $\pm$ 31,1	12,2 $\pm$ 4,61	110,3 $\pm$ 56,4
$\geq$ 30 (n=28)	152,3 $\pm$ 48,3	2,34 $\pm$ 0,65	1,06 $\pm$ 0,46	51,4 $\pm$ 32,3	13,9 $\pm$ 4,93	108,5 $\pm$ 56,2
p valor	0,777	0,523	0,580	0,991	0,139	0,638
<b>Dislipemia</b>						
No (n=39)	144,1 $\pm$ 50,7	2,39 $\pm$ 0,62	1,16 $\pm$ 0,54	53,8 $\pm$ 35,0	13,1 $\pm$ 5,07	109,8 $\pm$ 57,9
Sí (n=41)	154,5 $\pm$ 57,5	2,43 $\pm$ 0,77	1,05 $\pm$ 0,38	48,9 $\pm$ 27,7	12,5 $\pm$ 4,49	109,5 $\pm$ 54,8
p valor	0,424	0,835	0,336	0,493	0,610	0,918
<b>Diabetes</b>						
No (n=48)	147,3 $\pm$ 51,4	2,40 $\pm$ 0,69	1,05 $\pm$ 0,43	48,2 $\pm$ 27,7	12,4 $\pm$ 4,48	107,7 $\pm$ 16,6
Sí (n=32)	153,0 $\pm$ 58,7	2,42 $\pm$ 0,72	1,18 $\pm$ 0,52	56,0 $\pm$ 36,2	13,4 $\pm$ 5,16	112,6 $\pm$ 15,6
p valor	0,612	0,132	0,223	0,310	0,330	0,190
<b>Hipertensión arterial</b>						
No (n=41)	146,1 $\pm$ 53,5	2,26 $\pm$ 0,59	1,09 $\pm$ 0,50	52,8 $\pm$ 31,9	19,9 $\pm$ 4,70	111,6 $\pm$ 54,5
Sí (n=39)	153,4 $\pm$ 55,4	2,57 $\pm$ 0,77	1,12 $\pm$ 0,44	49,7 $\pm$ 31,1	12,7 $\pm$ 4,89	107,6 $\pm$ 57,9
p valor	0,570	<b>0,044</b>	0,825	0,665	0,801	0,280
<b>Insuficiencia renal crónica</b>						
No (n=68)	150,6 $\pm$ 55,0	2,39 $\pm$ 0,67	1,08 $\pm$ 0,45	49,9 $\pm$ 28,6	12,8 $\pm$ 4,85	109,3 $\pm$ 56,2
Sí (n=12)	147,2 $\pm$ 51,8	2,54 $\pm$ 0,87	1,23 $\pm$ 0,52	59,5 $\pm$ 44,8	13,1 $\pm$ 4,41	111,6 $\pm$ 57,3
p valor	0,852	0,472	0,324	0,484	0,814	0,664
<b>Cardiopatía Isquémica</b>						
No (n=74)	145,0 $\pm$ 51,0	2,35 $\pm$ 0,65	1,10 $\pm$ 0,47	52,0 $\pm$ 31,1	12,9 $\pm$ 4,86	110,0 $\pm$ 55,9
Sí (n=6)	203,0 $\pm$ 68,4	3,14 $\pm$ 0,95	1,09 $\pm$ 0,48	42,9 $\pm$ 36,3	12,1 $\pm$ 2,57	105,7 $\pm$ 62,0
p valor	<b>0,011</b>	<b>0,007</b>	0,956	0,497	0,713	0,544
<b>Enfermedad inflamatoria intestinal</b>						
No (n=78)	150,0 $\pm$ 54,0	2,42 $\pm$ 0,70	1,09 $\pm$ 0,46	50,5 $\pm$ 30,7	12,7 $\pm$ 4,65	109,4 $\pm$ 56,2
Sí (n=2)	110,2 $\pm$ 60,8	2,09 $\pm$ 0,28	1,66 $\pm$ 0,87	83,0 $\pm$ 52,5	15,5 $\pm$ 10,5	118,8 $\pm$ 58,4
p valor	0,301	0,508	0,092	0,150	0,430	0,425

-----						
<b>Fumador</b>						
No (n=34)	140,3±54,1	2,45±0,71	1,18±0,54	56,2±36,7	12,9±4,92	108,3±57,9
Sí (n=46)	157,1±53,7	2,38±0,69	1,03±0,40	47,7±26,6	12,8±4,69	110,72±54,5
p valor	0,162	0,694	0,125	0,238	0,923	0,517
<b>Ingesta de alcohol</b>						
No (n=38)	147,6±52,5	2,47±0,72	1,16±0,50	53,5±34,0	13,1±4,94	108,8±56,1
Sí (n=40)	150,8±56,9	2,33±0,65	1,06±0,44	50,2±29,5	12,5±4,74	110,4±57,3
p valor	0,848	0,370	0,323	0,657	0,572	0,673

**Tabla 21. Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) entre pacientes con distintas variables clínicas y comorbilidades.** IMC: índice de masa corporal; CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina.; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

Se encontraron diferencias significativas en la media de CAT y GSH entre los pacientes con y sin cardiopatía isquémica y en GSH en pacientes con HTA respecto a los que no presentaban esta enfermedad.

#### 6.2.8.2 Con factores con potencial preventivo de CCR.

Del mismo modo se han comparado las medias de los marcadores de EO, tanto en suero como en orina en dos grupos de pacientes, según presentaran o no adherencia a la dieta mediterránea o llevaran tratamiento farmacológico de sus comorbilidades como HTA, dislipemia, cardiopatía isquémica (con toma regular de AAS) y DM, distinguiendo entre insulina y diabéticos orales (Tabla 22):

Parámetro	CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	GSH <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)
<b>Tratamiento Hipertensión</b>						
No (n=42)	147,5±52,4	2,30±0,61	1,05±0,47	49,9±29,2	12,9±4,64	110,8±54,3
Sí (n=38)	152,4±56,7	2,54±0,77	1,16±0,47	52,9±33,9	12,8±4,95	108,5±58,4
p valor	0,634	0,129	0,318	0,669	0,921	0,503
<b>Tratamiento Diabetes</b>						
Insulina (n=10)	135,6±55,2	2,14±0,71	1,36±0,66	72,2±45,9	13,3±5,91	111,0±59,4
ADO (n=22)	164,0±61,4	2,54±0,73	1,11±0,41	48,7±27,6	13,8±5,12	112,7±55,2
p valor	0,267	0,202	0,227	0,101	0,836	0,8
<b>Tratamiento Dislipemia</b>						
No (n=46)	142,8±53,2	2,39±0,64	1,15±0,52	53,7±34,0	12,9±4,93	93,8±54,5
Sí (n=34)	159,0±54,9	2,44±0,77	1,04±0,38	48,1±27,6	12,7±4,60	92,3±53,2
p valor	0,168	0,757	0,284	0,437	0,586	0,629
<b>Toma crónica de AAS</b>						
No (n=73)	145,7±51,2	2,34±0,64	1,11±0,47	52,4±31,2	13,0±4,83	110,0±56,0
Sí (n=6)	203,0±68,4	3,14±0,95	1,09±0,48	42,9±36,3	12,1±3,57	105,7±62,0
p valor	<b>0,012</b>	<b>0,006</b>	0,937	0,481	0,679	0,547
<b>Dieta mediterránea</b>						
No (n=39)	145,5±54,2	2,30±0,69	1,18±0,52	51,3±28,6	13,9±4,83	111,8±55,6
Sí (n=41)	153,7±54,6	2,51±0,70	1,03±0,41	41,0±44,8	11,8±4,51	107,6±56,7
p valor	0,517	0,186	0,139	0,098	<b>0,043</b>	0,253

**Tabla 22. Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) entre pacientes con distintos factores potencialmente protectores.** ADO: antidiabéticos orales; AAS: ácido acetil-salicílico. CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

La toma crónica de bajas dosis de AAS está relacionada con diferencias en los niveles de CAT y GSH con respecto a los que no la toman. En los pacientes con adherencia a la dieta mediterránea se observaron diferencias en la 8-oxodG.

### 6.2.8.3 Con factores relacionados con el tumor.

También se han estudiado las diferencias en los resultados de todos los marcadores de EO según factores relacionados con el tumor:

Parámetro	CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	GSH <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)
<b>Antecedentes de CCR</b>						
No (n=56)	154,2±57,2	2,45±0,73	1,13±0,45	51,6±29,1	12,7±4,60	109,1±57,4
Sí (n=24)	141,0±45,3	2,36±0,64	0,99±0,32	45,2±21,1	12,6±5,09	109,4±53,3
p valor	0,349	0,620	0,223	0,244	0,917	0,943
<b>Grado histológico OMS</b>						
Bajo (=69)	152,3±51,3	2,46±0,70	1,06±0,43	48,2±29,8	12,2±4,54	108,8±55,9
Alto (=10)	115,6±39,8	2,12±0,63	1,43±0,60	72,7±36,6	16,9±4,70	114,3±59,3
p valor	0,072	0,152	0,086	<b>0,021</b>	<b>0,003</b>	0,341
<b>Diámetro mayor tumoral</b>						
<6 (=67)	155,1±54,3	2,40±0,69	1,05±0,45	48,9±29,9	12,6±4,61	108,9±56,7
≥6 (n=9)	121,0±48,3	2,47±0,76	1,33±0,50	62,4±40,3	12,4±4,74	101,2±55,4
p valor	0,072	0,787	0,092	0,230	0,919	0,580
<b>Tratamiento pre-cirugía</b>						
No (n=68)	149,6±57,2	2,39±0,66	1,08±0,48	50,3±31,3	12,7±5,05	108,9±57,3
Sí (n=11)	150,3±39,6	2,54±0,96	1,31±0,40	60,1±34,2	13,5±2,91	100,3±59,2
p valor	0,970	0,614	0,129	0,345	0,597	0,340
<b>Tratamiento post-cirugía</b>						
No (n=39)	161,5±53,1	2,61±0,76	1,04±0,46	46,1±32,3	12,0±4,35	105,9±18,3
Sí (n=37)	137,8±48,4	2,19±0,56	1,14±0,46	55,7±29,0	13,1±4,92	112,5±13,0
p valor	<b>0,040</b>	<b>0,008</b>	0,369	0,182	0,327	0,076
<b>Localización en colon</b>						
Derecho	149,0±52,8	2,52±0,76	1,06±0,48	48,6±33,1	11,6±4,20	110,4±57,8
Izquierdo (n=15)	143,3±55,4	2,13±0,48	1,09±0,50	54,4±30,9	14,5±7,76	111,0±57,4
p valor	0,682	<b>0,039</b>	0,812	0,519	<b>0,044</b>	0,336
<b>Complicaciones</b>						
No (n=61)	153,3±54,4	2,44±0,72	1,08±0,47	50,0±31,9	13,0±4,86	108,6±16,9
Sí (n=15)	141,6±48,4	2,23±0,53	1,12±0,40	53,8±27,3	10,8±3,07	110,7±13,7
p valor	0,471	0,222	0,760	0,667	0,108	0,663
<b>Recidiva tumoral</b>						
No (n=74)	151,3±53,1	2,43±0,71	1,08±0,44	49,7±30,2	12,5±4,63	109,1±56,1
Sí (n=2)	155,4±82,7	1,82±0,99	1,42±0,92	79,5±54,9	14,5±3,38	109,8±65,8
p valor	0,928	<b>0,002</b>	0,298	0,178	0,554	0,983

<b>Diverticulosis</b>						
No (n=65)	150,8±55,4	2,36±0,69	1,12±0,48	52,3±31,1	12,8±4,74	101,7±59,0
Sí (n=15)	149,0±52,5	2,53±0,77	1,04±0,46	47,9±34,2	12,5±5,06	111,4±55,3
p valor	0,935	0,447	0,566	0,633	0,814	<b>0,040</b>
<b>Metástasis post-cirugía</b>						
No (n=69)	154,4±52,2	2,45±0,70	1,04±0,41	42,4±27,5	12,2±4,17	106,9±56,1
Sí (n=10)	131,9±58,3	2,21±0,77	1,44±0,61	65,2±42,5	15,1±6,54	123,2±67,0
p valor	0,200	0,326	0,072	0,086	0,199	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tumores sincrónicos</b>						
No (n=74)	147,6±54,3	3,08±0,68	1,12±0,48	53,0±31,9	13,0±4,87	110,1±56,4
Sí (n=6)	184,1±43,4	2,36±0,67	0,87±0,18	30,2±10,9	10,9±2,75	104,5±54,7
p valor	0,104	<b>0,013</b>	0,213	0,087	0,302	0,415
<b>Adenomas sincrónicos</b>						
No (n=44)	146,3±55,2	2,44±0,66	1,06±0,44	47,3±27,6	12,6±4,72	110,1±55,5
Sí (n=36)	154,9±54,0	2,36±0,75	1,16±0,50	56,4±35,5	12,9±4,90	108,9±60,6
P valor	0,488	0,591	0,357	0,201	0,848	0,754

**Tabla 23. Diferencias de medias de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) en pacientes según factores relacionados con el tumor.** CCR: cáncer colorrectal; CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

Por lo que respecta a los factores relacionados con el tumor, se encontraron diferencias significativas según el grado histológico del tumor (con índice GSSG/GSH y 8-oxodG), tratamiento postcirugía (con CAT y GSH), localización en colon derecho o izquierdo (GSH y 8-oxodG), aparición de recidivas postcirugía y tumores sincrónicos con GSH y coexistencia de diverticulosis y aparición de metástasis postcirugía con F2-Isoprostanos.

#### 6.2.8.4 Con localización derecha/izquierda de colon.

También se han comparado los valores del EO según la localización del tumor en colon con el test de Student:

<b>Marcador (Unidades)</b>	<b>Colon derecho (n=29)</b>	<b>Colon izquierdo (n=23)</b>	<b>p valor</b>
<b>CAT</b> suero (mU/mL)	149,0±52,8	143,2±55,4	0,682
<b>GSH</b> suero (µmol/mL)	2,52±0,76	2,13±0,48	<b>0,039</b>
<b>GSSG</b> suero (µmol/mL)	1,06±0,48	1,09±0,50	0,812
<b>GSSG/GSH</b> suero (%)	48,6±33,1	54,4±30,9	0,519
<b>8-oxodG</b> orina (nmol/mmol creatinina)	11,6±4,20	14,5±7,76	<b>0,044</b>
<b>F2-IsoPs</b> orina (pg/mg creatinina)	110,4±57,8	111,0±57,4	0,336

**Tabla 24. Diferencias de medias de estrés oxidativo en los pacientes según localización del tumor.** CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; p: significación.

Dado que las diferencias de medias entre ambos lados de colon fueron significativas en el caso de GSH y 8 oxo-dG, se han realizado también estudios de correlación de Pearson y Spearman en las variables con distribución paramétrica y no paramétrica, respectivamente (tabla 25):

<b>Marcador (Unidades)</b>	<b>Colon derecho/izquierdo</b>	
	<b>r</b>	<b>p valor</b>
<b>CAT</b> suero (mU/mL)	-0,058	0,682
<b>GSH</b> suero (µmol/mL)	-0,287	<b>0,039</b>
<b>GSSG</b> suero (µmol/mL)	0,034	0,813
<b>GSSG/GSH</b> suero (%)	0,224	0,110
<b>8-oxodG</b> orina (nmol/mmol creatinina)	0,280	<b>0,044</b>
<b>F2-IsoPs</b> orina (pg/mg creatinina)	0,183	0,194

**Tabla 25. Correlación de los marcadores de estrés oxidativo según localización tumoral en lado derecho/izquierdo de colon.** CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± desviación estándar; n: número de casos; r: coeficiente de correlación; p: significación.

De igual modo correlacionan los mismos marcadores con lado derecho/izquierdo de colon, aunque de forma moderada.

También se ha querido estudiar la asociación entre tamaño tumoral superior a 6 cm y estadio con la localización derecha o izquierda en colon con el test de  $\chi^2$  (tabla 26):

Variable	Lado derecho (%)	Lado izquierdo (%)	r	p valor
<b>Diámetro mayor del tumor</b>			-0,002	0,987
<6 cm (=45)	57,8	42,2		
≥6 cm (n=7)	57,1	42,9		
<b>Estadio tumoral</b>			0,087	0,538
0 (n=31)	61,3	38,7		
1 (n=16)	43,8	56,2		
2 (n= 5)	60,0	40,0		

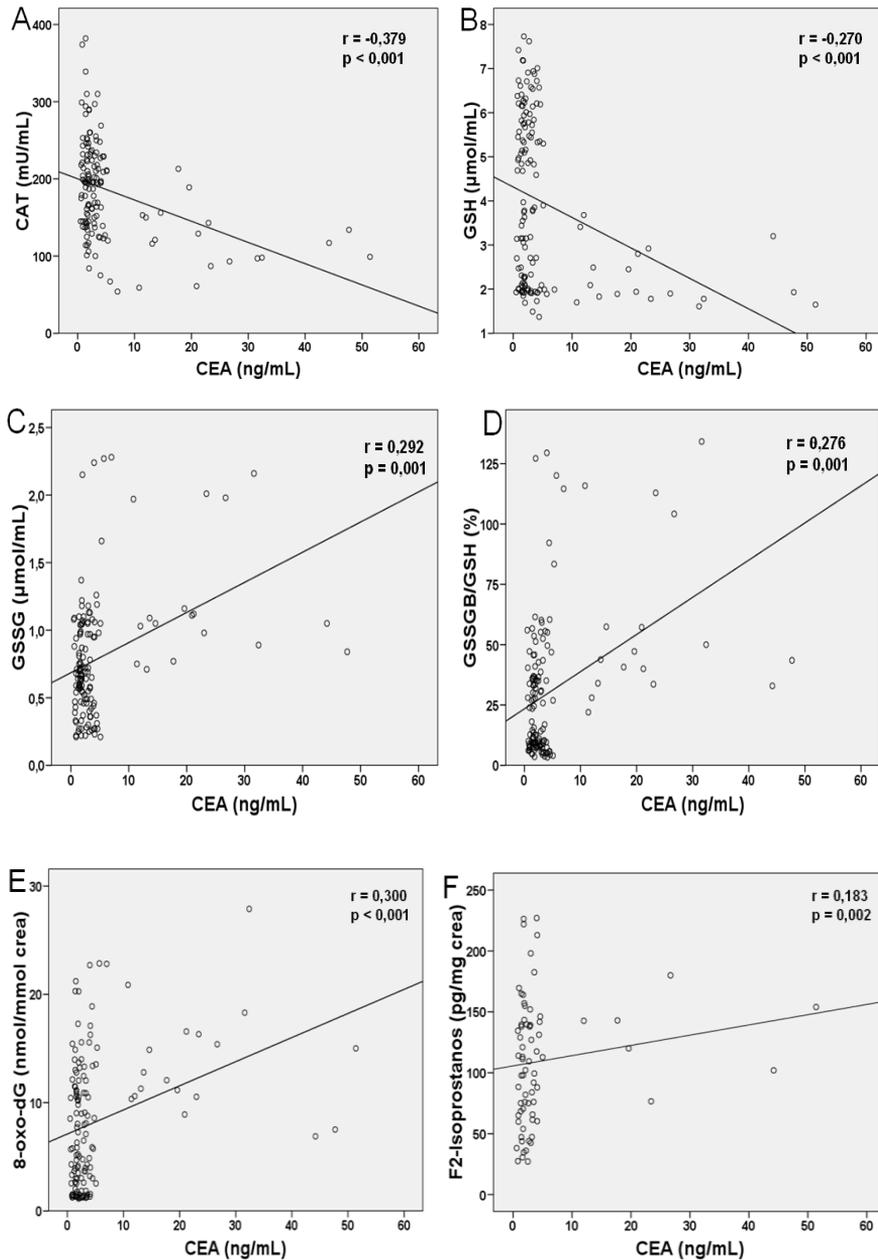
**Tabla 26. Asociación con diámetro tumoral y estadio según localización del tumor en lado derecho/izquierdo de colon;** r: coeficiente de correlación; p: significación.

No se observa ninguna asociación entre ambos parámetros y localización derecha o izquierda en colon.

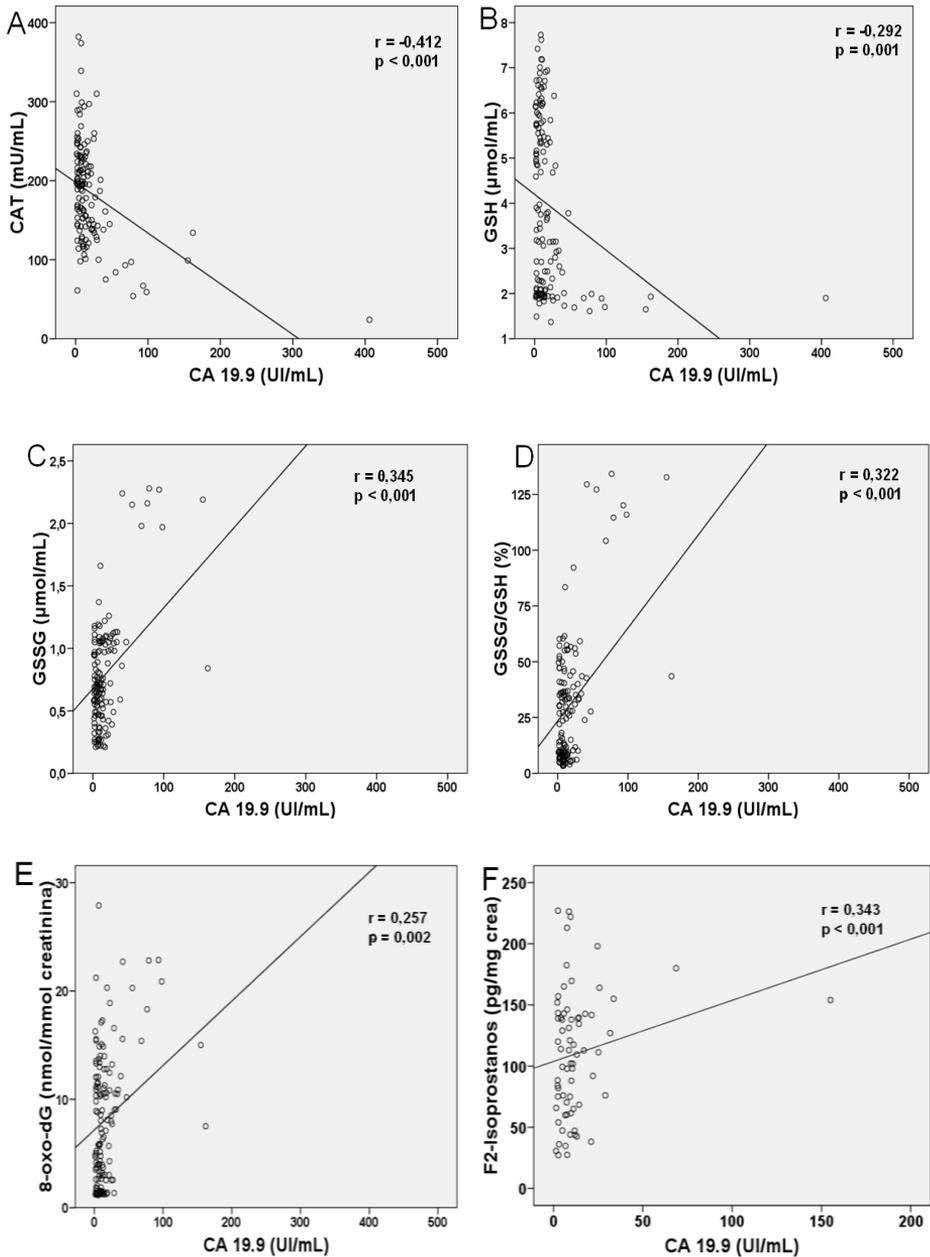
## 6.2.9 CORRELACIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO CON OTROS MARCADORES.

### 6.2.9.1 Con marcadores tumorales.

Se ha estudiado la correlación de todos los marcadores de EO con CEA y CA 19.9, aplicando el coeficiente de correlación de Pearson en las variables que presentaban una distribución paramétrica y el de Spearman en las no paramétricas (figuras 41 y 42):



**Figura 41. Correlación entre marcadores de estrés oxidativo y CEA.** En suero = A: CAT (Catalasa); B: GSH (Glutación reducido); C: GSSG (Glutación oxidado); D: Relación GSSG/GSH. En orina = E: 8-oxodG (8-oxo-7,8-dihidro 2'-deoxiguanosina); F: F2-Isoprostanos; r: coeficiente de correlación; p: significación.



**Figura 42. Correlación entre marcadores de estrés oxidativo y CA 19.9.** En suero = A: CAT (Catalasa); B: GSH (Glutación reducido); C: GSSG (Glutación oxidado); D: Relación GSSG/GSH; En orina = E: 8-oxodG (8-oxo-7,8-dihidro 2'-deoxiguanosina); F: F2-Isoprostanos; r: coeficiente de correlación; p: significación.

El análisis mostró que tanto CEA como CA 19.9 correlacionaron positivamente con GSSG, relación GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos y negativamente con CAT y GSH. No obstante, la correlación fue moderada-baja, con coeficientes de correlación inferiores a 0,500 en todos los casos.

#### 6.2.9.2 Con marcadores de inflamación.

Se ha estudiado cómo correlacionan los marcadores de EO con los de inflamación que han presentado significación (tabla 27):

Parámetro	CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	GSH <sup>a</sup> ( $\mu$ mol/mL)	GSSG <sup>a</sup> ( $\mu$ mol/mL)	GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)
<b>PCR (mg/L)</b>						
r	-0,137	-0,092	0,026	0,041	0,450	0,013
p valor	0,106	0,280	0,759	0,628	0,598	0,877
<b>IL-6 (pg/mL)</b>						
r	-0,237	-0,328	0,419	0,385	0,366	0,367
p valor	<b>0,005</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Leucocitos (<math>\times 10^3/\text{mm}^3</math>)</b>						
r	-0,237	-0,110	0,186	0,173	0,193	0,260
p valor	<b>0,005</b>	0,196	<b>0,027</b>	<b>0,041</b>	<b>0,022</b>	<b>0,002</b>
<b>Neutrófilos (%)</b>						
r	-0,232	-0,318	0,362	0,330	0,332	0,356
p valor	<b>0,006</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,262	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>N/L (-)</b>						
r	-0,187	-0,175	0,232	0,181	0,246	0,268
p valor	<b>0,027</b>	<b>0,039</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,003</b>	<b>0,001</b>
<b>Plaquetas (<math>\times 10^5/\text{mm}^3</math>)</b>						
r	-0,256	-0,300	0,240	0,240	0,302	0,294
p valor	<b>0,002</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,033</b>	<b>0,033</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

---



---

Fibrinógeno (mg/dL)						
r	-0,471	-0,462	0,521	0,521	0,522	0,535
p valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

---

**Tabla 27. Correlación de marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) con marcadores inflamatorios sistémicos.** PCR: proteína C reactiva; IL-6: interleuquina-6; N/L: Índice neutrófilo/linfocito. CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos; r: coeficiente de correlación; p: significación.

El fibrinógeno, las plaquetas, el índice N/L y la IL-6 fueron los marcadores que correlacionaron con todos los de EO, seguidos de los neutrófilos y leucocitos. En cambio, la PCR no correlacionó con ningún marcador de EO.

La CAT y GSH correlacionaron negativamente con IL-6, neutrófilos, plaquetas y fibrinógeno (y con leucocitos sólo la CAT). La GSSG, relación GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos correlacionaron positivamente con IL-6, plaquetas y fibrinógeno; también correlacionaron con leucocitos y neutrófilos (exceptuando la relación GSSG/GSH).

### 6.2.9.3 Con marcadores de anemia.

También se han correlacionado los marcadores de EO con los de anemia que resultaron con diferencias significativas al comparar los grupos de controles y pacientes (Tabla 28):

Parámetro	CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	GSH <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG <sup>a</sup> (μmol/mL)	GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>						
r	0,108	0,076	-0,052	0,040	-0,012	0,066
p valor	0,339	0,501	0,648	0,727	0,916	0,563
<b>Hematocrito (%)</b>						
r	0,051	-0,094	-0,021	0,074	0,030	0,079
p valor	0,652	0,405	0,855	0,513	0,794	0,484
<b>VCM (fL)</b>						
r	-0,032	0,041	-0,129	-0,109	-0,052	-0,078
p valor	0,777	0,719	0,253	0,335	0,649	0,489
<b>Hierro (μg/dL)</b>						
r	0,169	0,048	-0,084	-0,046	-0,031	-0,015
p valor	0,135	0,670	0,456	0,683	0,782	0,893
<b>Ferritina (μg/L)</b>						
r	-0,149	0,045	-0,116	-0,082	0,026	-0,044
p valor	0,088	0,690	0,306	0,469	0,819	0,695
<b>Transferrina (mg/dL)</b>						
r	0,150	-0,010	0,184	0,107	-0,066	0,073
p valor	0,185	0,928	0,102	0,345	0,581	0,522
<b>IST (%)</b>						
r	0,140	0,031	-0,118	-0,057	-0,007	0,001
p valor	0,216	0,786	0,297	0,617	0,954	0,997

**Tabla 28. Correlación de marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b) con marcadores de anemia.** VCM: Volumen corpuscular medio; IST: Índice de saturación de la transferrina. CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostano; r: coeficiente de correlación; p: significación.

No se ha hallado correlación entre el EO y los marcadores de anemia.

## 6.2.10 ASOCIACIÓN CON ESTADIO TUMORAL.

Para ello se categorizaron los estadios en tres niveles, como se ha comentado anteriormente (localizado=0; en progresión=1; invasivo=2) y se analizó mediante el test  $\chi^2$ .

## 6.2.10.1 Comorbilidades y factores de riesgo.

Se estudió la asociación con las características clínicas de los pacientes género, edad (senectud), obesidad, comorbilidades y otros factores de riesgo (tabla 29):

Variable	Estadio 0 (%)	Estadio 1 (%)	Estadio 2 (%)	r	p valor
<b>Género</b>				0,157	0,502
Femenino (n=28)	57,1	28,6	14,3		
Masculino (n=52)	53,0	39,2	7,8		
<b>Edad(años)</b>				0,889	0,327
<65 (=33)	46,9	37,5	15,6		
≥65 (=47)	59,6	34,0	6,4		
<b>IMC(Kg/m<sup>2</sup>)</b>				0,212	0,340
<30 (n=52)	51,0	35,3	13,7		
≥30 (n=28)	60,7	35,7	3,6		
<b>Hipertensión arterial</b>				0,957	0,974
No (n=41)	53,6	36,6	9,8		
Sí (n=39)	55,3	34,2	10,5		
<b>Dislipemia</b>				0,922	0,582
No (n=39)	56,4	30,7	12,8		
Sí (n=41)	52,5	40,0	7,5		
<b>Diabetes</b>				0,267	0,531
No (n=48)	50,0	37,5	12,5		
Sí (n=32)	61,3	32,3	6,4		
<b>Cardiopatía isquémica</b>				0,399	<b>0,039</b>
No (n=74)	54,8	37,0	8,2		
Sí (n=6)	60,0	0	40,0		
<b>IRC</b>				0,442	0,451
No (n=68)	54,9	36,6	8,5		
Sí (n=12)	42,8	28,6	28,6		
<b>EII</b>				0,905	0,845
No (n=78)	54,5	35,1	10,4		
Sí (n=2)	50,0	50,0	0		
<b>Tabaco</b>				0,723	0,723
No (n=34)	55,9	29,4	14,7		
Sí (n=46)	53,3	40,0	6,7		

<b>Alcohol</b>				0,437	0,437
No (n=38)	50,0	36,8	13,2		
Sí (n=40)	59,0	35,9	5,1		

**Tabla 29. Asociación entre características clínicas/comorbilidades de los pacientes y estadio tumoral.** IMC: índice de masa corporal; IRC: insuficiencia renal crónica; EII: enfermedad inflamatoria intestinal; n: número de casos; r: coeficiente de correlación; p: significación.

Sólo presentó asociación con estadio tumoral la cardiopatía isquémica, si bien estos resultados y los de la EII que presentaban algunos pacientes deben ser interpretados con cautela por presentar un número insuficiente de casos para el análisis estadístico.

#### 6.2.10.2 Variables referidas al tumor.

Se estudiaron los siguientes parámetros:

Variable	Estadio 0 (%)	Estadio 1 (%)	Estadio 2 (%)	r	p valor
<b>Antecedentes de CCR</b>				0,226	0,128
No (n=56)	61,1	33,3	5,6		
Sí (n=24)	40,9	40,9	18,2		
<b>Diámetro mayor tumor</b>				0,246	0,076
<6 (n=67)	66,7	27,8	5,5		
≥6 (n=9)	36,9	52,6	10,5		
<b>Localización tumor</b>				0,182	0,573
Colon derecho (n=29)	65,5	27,6	6,9		
Colon izquierdo (n=23)	52,2	39,1	8,7		
Recto (n= 28)	44,5	40,7	14,8		
<b>Tratamiento pre-cirugía</b>				0,322	<b>0,018</b>
No (n=68)	60,6	31,8	7,6		
Sí (n=11)	18,2	54,5	27,3		
<b>Tratamiento post-cirugía</b>				0,558	<b>&lt;0,001</b>
No (n=39)	85,0	12,5	2,5		
Sí (n=37)	25,0	61,1	13,9		
<b>Complicaciones</b>				0,194	0,067
No (n=61)	60,0	36,7	33,3		
Sí (n=15)	46,7	33,3	20,0		

<b>Grado histológico OMS</b>				0,479	<b>&lt;0.001</b>
Bajo (n=69)	60,9	34,8	4,3		
Alto (n=10)	10,0	40,0	50,0		
<b>Adenomas sincrónicos</b>				0,280	<b>0.032</b>
No (n=44)	41,8	44,2	14,0		
Sí (n=36)	71,4	22,9	5,7		
<b>Diverticulosis</b>				0,255	0.077
No (n=65)	49,2	19,0	12,8		
Sí (n=15)	80,0	20,0	0		
<b>Metástasis post-cirugía</b>				0,358	<b>&lt;0.001</b>
No (n=69)	60,6	36,4	3,0		
Sí (n=10)	30,0	30,0	40,0		

**Tabla 30. Asociación entre características referidas a los tumores y estadio tumoral.** CCR: cáncer colorrectal; n: número de casos; r: coeficiente de correlación; p: significación.

Presentaron asociación con estadio tumoral los tratamientos pre y post-cirugía, el grado histológico de la OMS, la aparición de adenomas sincrónicos y la presencia de metástasis post-tratamiento.

Los resultados de las diverticulosis que asociaron algunos pacientes deben ser interpretados con cautela por presentar un número insuficiente de casos para el análisis estadístico, si bien no presentaron relación con el estadio.

### 6.2.10.3 Marcadores bioquímicos, de anemia e inflamación.

Se estudiaron las diferencias de medias entre los tres estadios mediante un ANOVA univariante; se han encontrado los siguientes resultados (tabla 31):

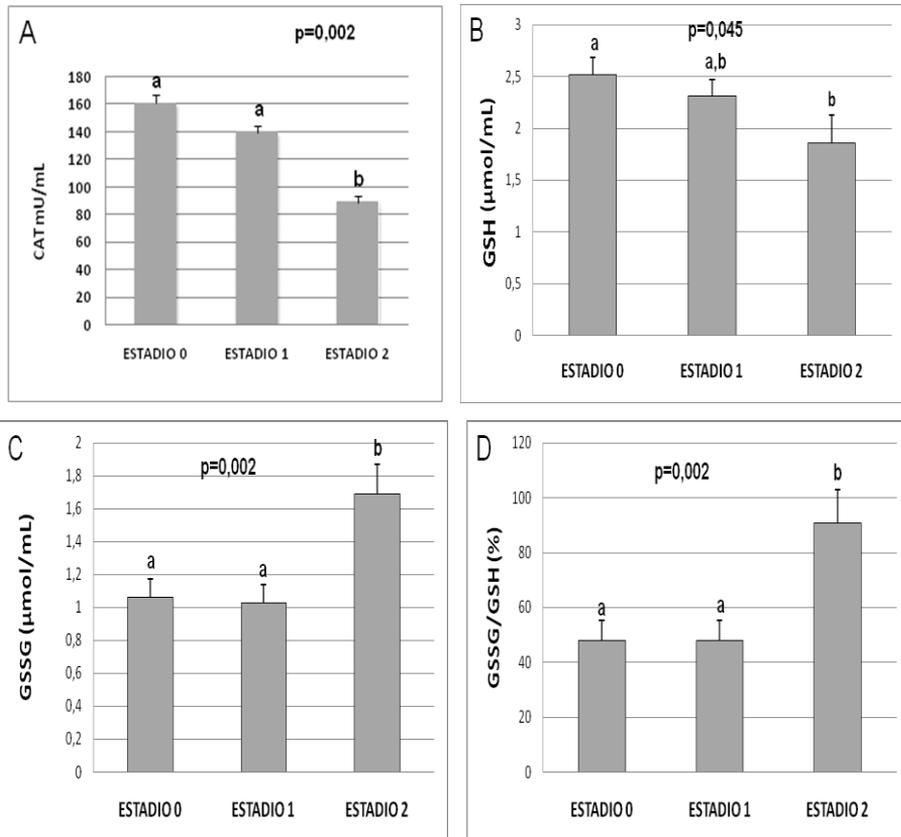
Variable	Estadio 0	Estadio 1	Estadio 2	P valor
<b>Bioquímica</b>				
Glucosa (mg/dL)	115,3±28,9	117,8±37,5	122,9±55,8	0,835
Colesterol total (mg/dL)	181,3±37,1	179,9±45,5	183,5±26,1	0,972
Colesterol HDL (mg/dL)	44,0±11,1	43,1±10,7	40,6±10,4	0,709
Colesterol LDL (mg/dL)	114,7±33,4	115,0±38,1	115,3±34,7	0,999
Ácido úrico (mg/dL)	5,57±1,67	5,09±1,53	4,94±2,28	0,402
Albúmina (g/dL)	4,23±0,57	4,14±0,33	4,16±0,32	0,725
<b>Marcadores de inflamación</b>				
IL-6 (pg/mL)	14,0±20,3	28,5±34,1	20,7±20,4	0,079
PCR (mg/L)	6,61±3,76	16,6±38,6	15,6±12,7	0,189
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,37±1,76	7,98±1,56	8,55±2,05	0,123
Neutrófilos (%)	62,9±7,64	62,4±9,33	64,5±8,45	0,835
N/L (-)	2,53±0,82	2,80±2,49	3,09±1,41	0,618
Plaquetas (x10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup> )	242,0±66,1	273,5±87,7	253,4±54,7	0,217
Fibrinógeno (mg/dL)	465,3±90,8	504,8±107,2	514,0±133,7	0,195
<b>Marcadores de anemia</b>				
Hemoglobina (g/dL)	12,4±1,96	12,1±1,80	11,7±1,40	0,647
Hematocrito (%)	38,0±5,36	37,5±5,05	36,1±3,41	0,623
VCM (fL)	83,0±9,00	84,2±7,89	82,3±7,80	0,791
Hierro (µg/dL)	61,4±46,6	52,9±32,6	43,9±25,2	0,448
Transferrina (mg/dL)	287,0±48,8	290,4±52,6	313,9±63,9	0,407
IST (%)	17,5±12,7	14,7±8,68	12,0±7,37	0,332
Ferritina (µg/L)	45,2±50,6	63,6±100,2	207±396,6	<b>0,014</b>

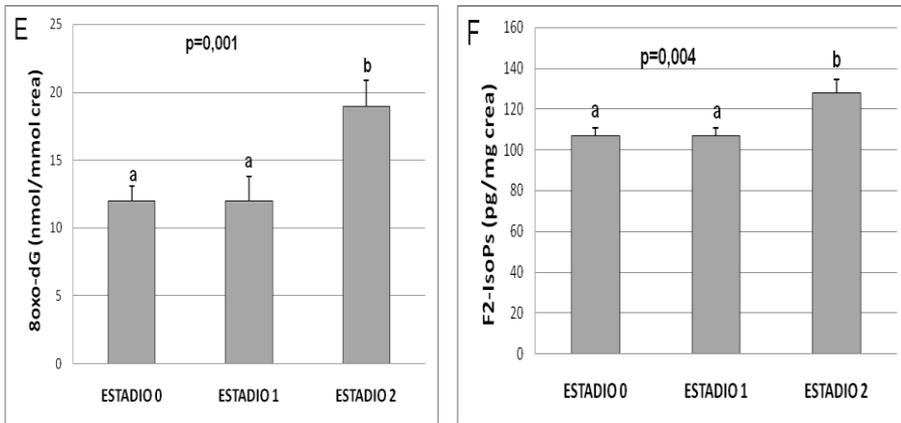
**Tabla 31. Resultados analíticos bioquímicos y hematológicos por estadio tumoral.** IL-6: Interleuquina 6; PCR: Proteína C reactiva; N/L: Índice neutrófilo/linfocito; VCM: Volumen corpuscular medio. IST: Índice de saturación de la transferrina. Datos expresados como media ± desviación estándar; p: significación.

Se encontró diferencias significativas solamente en el caso de la ferritina.

#### 6.2.10.4 Marcadores de estrés oxidativo.

Una vez que se determinó mediante un ANOVA de un factor que existen diferencias entre las medias, realizamos las pruebas de rango post hoc de Student–Newman–Keuls para determinar qué medias diferían. Los resultados se presentan en la figura 43:



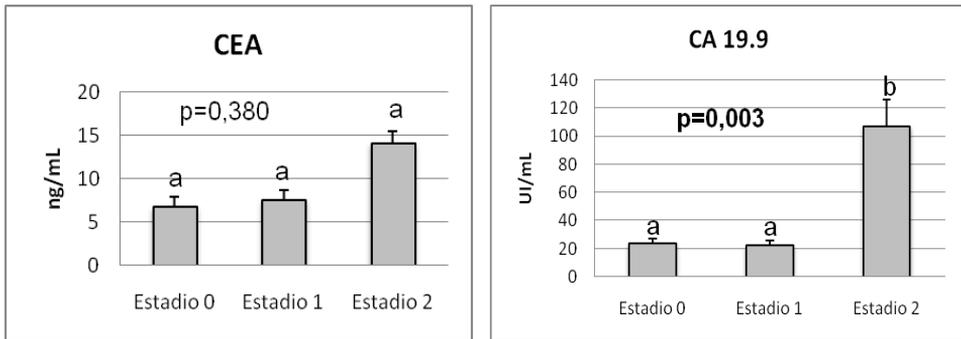


**Figura 43. Resultados de estrés oxidativo agrupados por estadios.** En suero= A: CAT (Catalasa); B: GSH (Glutathión reducido); C: GSSG (Glutathión oxidado); D: Índice GSSG/GSH. En orina= E: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F: F2-Isoprostanos. Resultados expresados como media  $\pm$  error estándar. Las diferencias estadísticas al comparar los tres estadios se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls.

Se encontraron diferencias significativas por estadios en todos los marcadores de EO.

#### 6.2.10.5 Marcadores tumorales.

Con respecto a los marcadores tumorales, no se encontraron diferencias significativas por estadios con el CEA y sí con el CA 19.9 (figura 44):

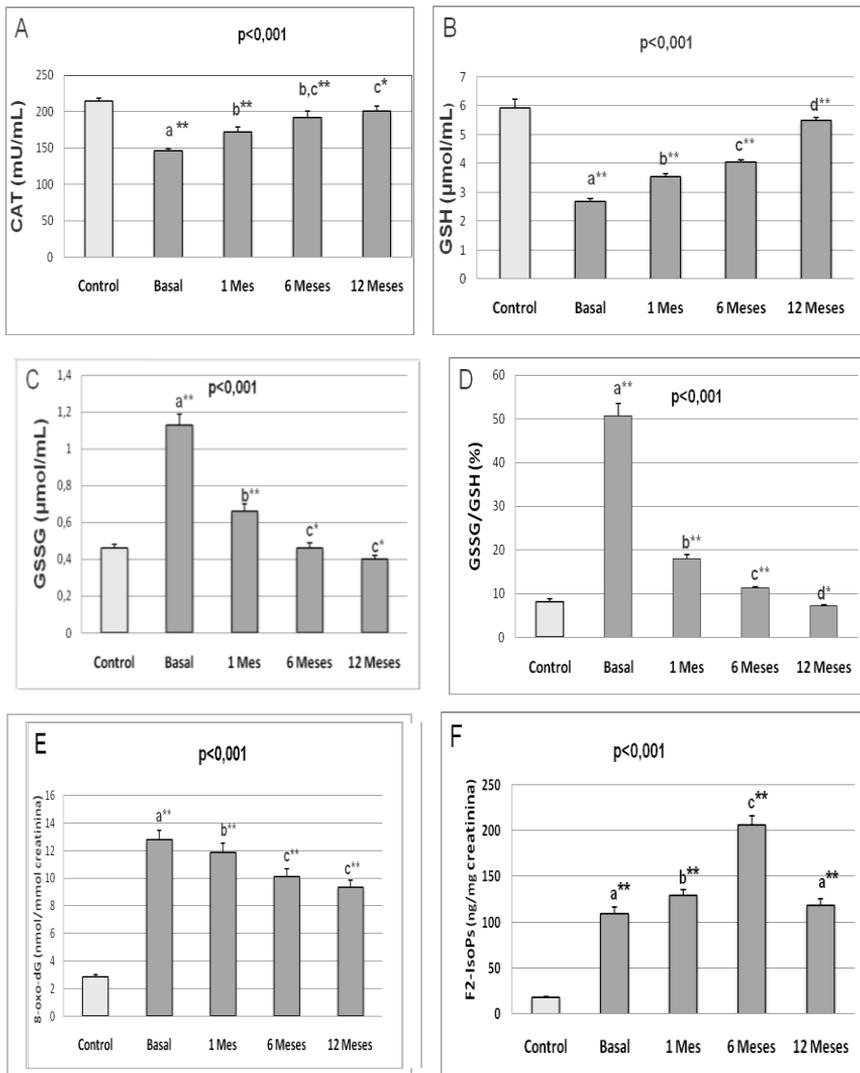


**Figura 44. Resultados de marcadores tumorales agrupados por estadios.** Resultados expresados como media  $\pm$  error estándar. Las diferencias estadísticas al comparar los tres estadios de los pacientes se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls.

### 6.3 ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE DISTINTOS ANALITOS EN LOS PACIENTES ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA.

#### 6.3.1 Marcadores de estrés oxidativo.

Se estudió su evolución en el tiempo con un ANOVA de un factor con medidas repetidas y test post hoc de SNK para estudiar las diferencias entre los diferentes tiempos evolutivos de los pacientes; se incluyen también los resultados de los controles, que se comparan uno a uno con los distintos tiempos de los pacientes mediante el test de Student (figura 45):



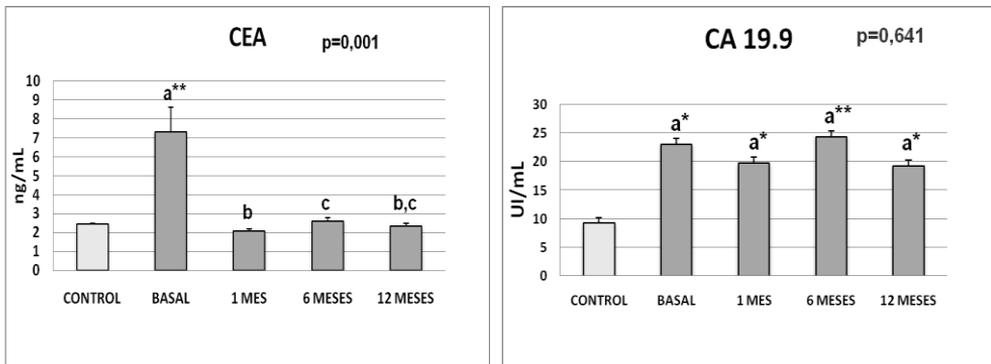
**Figura 45. Control evolutivo de los marcadores de estrés oxidativo; comparación con los controles sanos.** En suero= A: CAT (Catalasa); B: GSH (Glutación reducido); C: GSSG (Glutación oxidado); D: Índice GSSG/GSH. En orina= E: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F: F2-Isoprostanos. Datos expresados como media ± error estándar. Las diferencias estadísticas al comparar los tiempos evolutivos de los pacientes se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls. Las diferencias entre el grupo control y los distintos tiempos de los pacientes aparecen representadas por \* ( $p < 0,05$ ) y \*\* ( $p < 0,001$ ) cuando se comparan dos a dos con la t de Student.

Todos los marcadores de EO presentaron diferencias con el grupo control.

Por lo que respecta a los niveles en los distintos momentos evolutivos de los pacientes, la evolución es distinta en cada marcador de EO.

### 6.3.2 Marcadores tumorales.

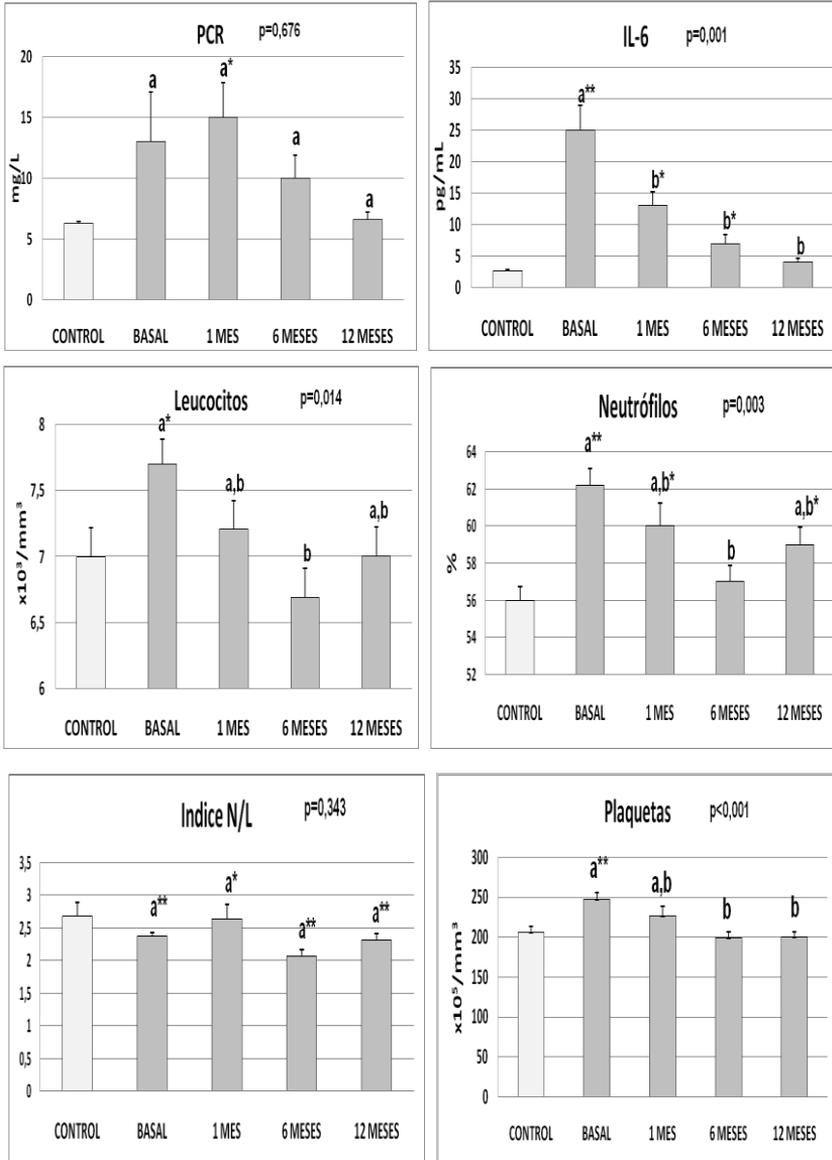
El CEA presentó diferencias significativas entre el grupo control y la determinación basal de los pacientes, pero no con los restantes estadios evolutivos, a diferencia del CA 19.9, con diferencias significativas entre todos ellos:

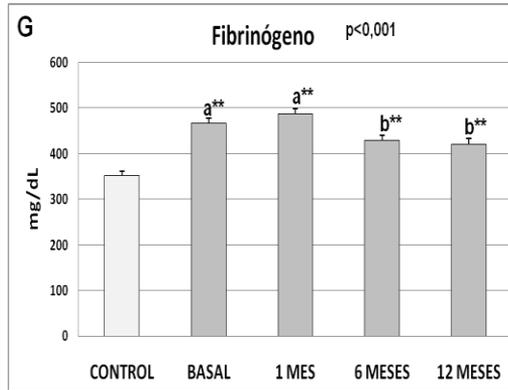


**Figura 46. Control evolutivo de los marcadores tumorales.** Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. Las diferencias estadísticas al comparar los tiempos evolutivos de los pacientes se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls. Las diferencias entre el grupo control y los distintos tiempos de los pacientes aparecen representadas por \* ( $p<0,05$ ) y \*\* ( $p<0,001$ ) cuando se comparan dos a dos con la t de Student.

### 6.3.3 Marcadores de inflamación sistémica.

Se encontraron diferencias significativas en la evolución de los leucocitos, neutrófilos, plaquetas y fibrinógeno:

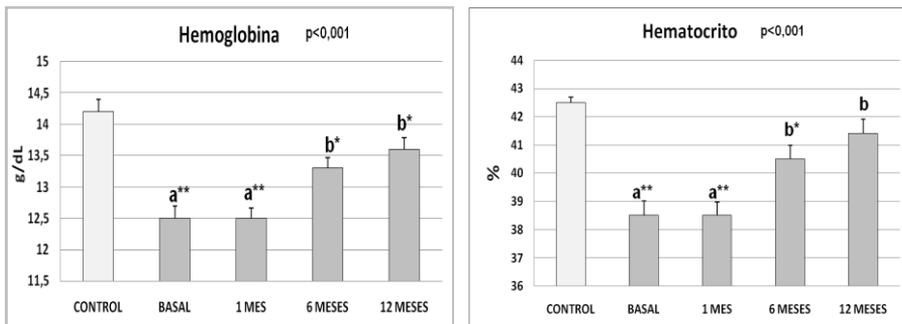


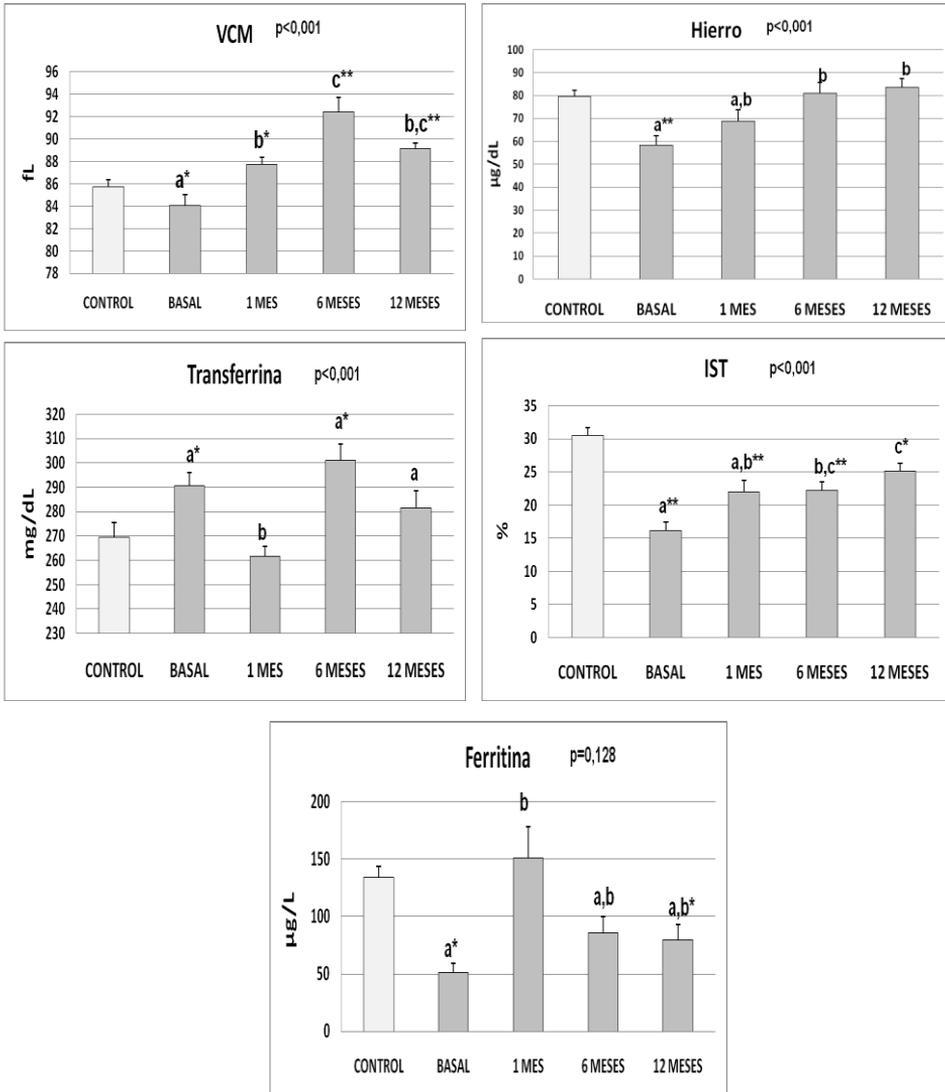


**Figura 47. Evolución en el tiempo de los marcadores de inflamación.** Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. N/L: Índice neutrófilo/linfocito. Las diferencias estadísticas al comparar los tiempos evolutivos de los pacientes se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls. Las diferencias entre el grupo control y los distintos tiempos de los pacientes aparecen representadas por \* ( $p < 0,05$ ) y \*\* ( $p < 0,001$ ) cuando se comparan dos a dos con la t de Student.

#### 6.3.4 Marcadores de anemia.

La evolución en el tiempo de los marcadores de anemia también mostró diferencias muy significativas a lo largo del estudio, con la excepción de la ferritina (figura 48):





**Figura 48. Evolución en el tiempo de los marcadores de anemia.** IST: Índice de saturación de la transferrina. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. Las diferencias estadísticas al comparar los tiempos evolutivos de los pacientes se indican con la p del margen superior y entre cada uno de ellos aparecen indicadas con letras, de tal forma que las medias que comparten dichas letras no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) cuando se comparan mediante una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas, seguidas de un test post hoc de Student–Newman–Keuls. Las diferencias entre el grupo control y los distintos tiempos de los pacientes aparecen representadas por \* ( $p < 0,05$ ) y \*\* ( $p < 0,001$ ) cuando se comparan dos a dos con la t de Student.

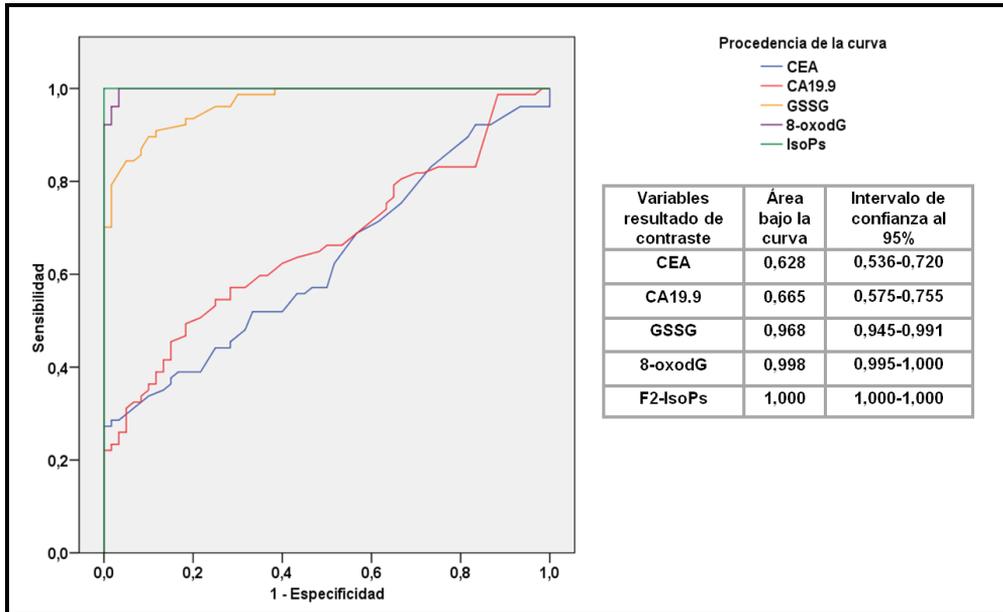
#### 6.4 EVALUACIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO: TABLAS DE CONTINGENCIA Y CURVAS ROC.

Se han querido estudiar las pruebas diagnósticas (sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y exactitud) de los marcadores de EO y MT, para lo que se han obtenido las curvas ROC de los mismos. Dichos puntos de corte, con los resultados de las pruebas diagnósticas, se observan en la siguiente tabla:

Marcador	Punto de corte	S (%)	E (%)	VPP‡ (%)	VPN‡ (%)	Exactitud (%)
CEA (ng/mL)	4,95	26,3	100	100	50,4	57,8
CA 19.9 (UI/mL)	40	17,5	100	100	47,6	52,9
CAT <sup>a</sup> (mU/mL)	191*	80,0	91,7	92,8	77,5	85,0
GSH <sup>a</sup> (μmol/mL)	3,17*	78,8	100	100	77,9	87,9
GSSG <sup>a</sup> (μmol/mL)	0,73	75,0	98,3	98,4	74,7	85,0
GSSG/GSH <sup>a</sup> (%)	14,3	98,8	98,3	92,8	98,3	98,6
8-oxodG <sup>b</sup> (nmol/mmol crea)	5,87	92,5	98,3	98,7	90,8	95,0
F2-IsoPs <sup>b</sup> (pg/mg crea)	94,5	78,8	100	100	77,9	87,9

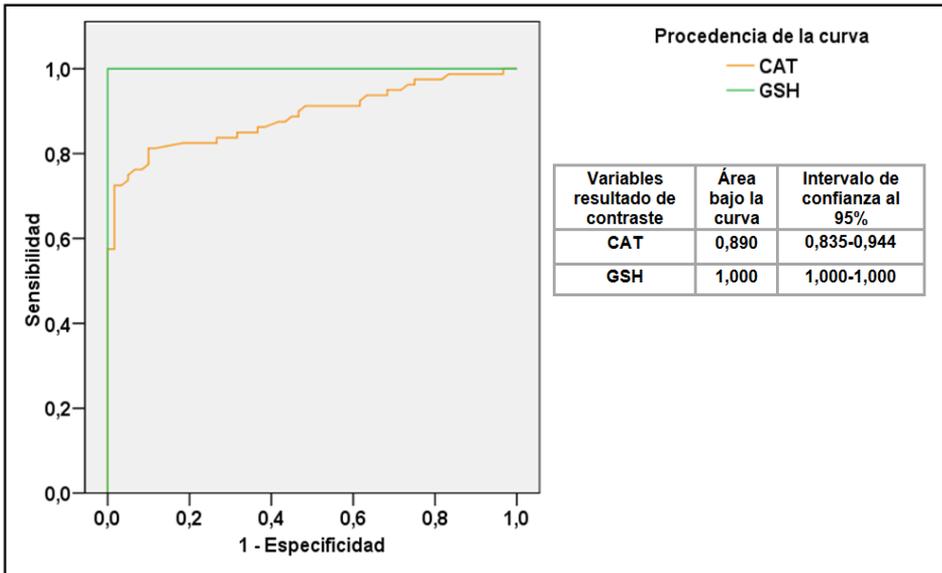
**Tabla 32. Pruebas diagnósticas de los marcadores de estrés oxidativo en suero (a) y orina (b).** ‡ Valores calculados para una prevalencia de la enfermedad en la población estudiada de 0,57. \*Se considera prueba positiva el resultado por debajo de este punto de corte; los restantes marcadores, por encima de su punto de corte. S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; CAT: Catalasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; 8-oxodG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos.

En la siguiente figura se presentan conjuntamente los marcadores que se consideran positivos cuando son superiores al punto de corte:



**Figura 49. Curva ROC y área bajo la curva correspondiente a los marcadores de estrés oxidativo y marcadores tumorales considerados positivos cuando son superiores al punto de corte.** CEA: antígeno carcinoembrionario; CA 19.9: antígeno carbohidrato 19.9; GSSG: Glutación oxidado; relación GSSG/GSH: glutación oxidado/glutación reducido; 8-oxodG: 8-oxo,7'8-dihidro-2'-deoxiguanosina; F2-IsoPs: F2-Isoprostanos.

A continuación se muestran los marcadores que se consideran positivos cuando son inferiores al punto de corte (figura 50):



**Figura 50. Curva ROC y área bajo la curva correspondiente a los marcadores de estrés oxidativo considerados positivos cuando son inferiores al punto de corte.** CAT:Catalasa; GSH:Glutatión reducido.

## 6.5 ANÁLISIS INFERENCIAL.

Para estudiar el potencial valor predictivo independiente de los MT y marcadores de EO en la evolución del CCR, ha sido aplicado un modelo de regresión lineal múltiple más otro modelo de regresión logística binaria en cada una de las etapas evolutivas de control de los pacientes durante el estudio. Esto es debido a que para estudiar si el cambio de los marcadores de EO (además de la presencia o no de otras variables presentes en los pacientes), influye en una peor evolución de la enfermedad, disponemos tanto de variables cuantitativas como cualitativas. Es decir, disponemos de las variables: tamaño tumoral, estadio tumoral avanzado y aparición de metástasis post-cirugía, todas ellas claramente relacionadas con un

---

peor pronóstico. Dado que la variable dependiente a relacionar ha de ser cuantitativa en la regresión lineal y categórica en la logística (en la cual calcularemos también los odds ratio), han sido aplicadas ambas.

#### 6.5.1 REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE.

Ha sido utilizado el procedimiento denominado “pasos sucesivos” (stepwise), en el que el propio programa selecciona el factor de máxima correlación y va añadiendo factores hasta que no haya más factores que aporten nada sustantivo al modelo y entonces finaliza el procedimiento. Hay una continua reevaluación de los factores incluidos en el modelo, de forma que si algún factor queda explicado por los restantes (en el sentido de que carece de contribución específica propia) queda eliminado. El análisis selecciona varios modelos según va incorporando las variables.

Se ha seleccionado como variable dependiente “diámetro mayor tumoral” y como variables independientes los marcadores de EO y MT de cada etapa evolutiva.

Se han obtenido los siguientes modelos (Tablas 33 y 34):

Modelo	Variables independientes	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	p valor	R <sup>2</sup> ajustada
		B	Error típico			
Basal	CEA	0,010	0,004	0,272	0,030	0,059
1 mes	F2-Isoprostanos	0,042	0,021	0,349	0,046	0,073
12 meses	8-oxodG	-0,172	0,550	-0,379	0,003	0,136

**Tabla 33. Regresión lineal multivariante para marcadores de estrés oxidativo y tumorales. Variable dependiente: diámetro mayor tumoral.** B: coeficiente de regresión parcial;  $\beta$ : coeficiente beta; R: coeficiente de determinación. Las variables independientes introducidas en los modelos que fueron excluidas por no presentar significación estadística ( $p > 0,05$ ) fueron: CA 19.9, Catalasa, Glutación reducido (GSH), Glutación oxidado (GSSG), e índice GSSG/GSH.

Existe una asociación positiva entre diámetro mayor tumoral y CEA y F2-Isoprostanos: en el primer modelo basal antes de la cirugía, el aumento del CEA en 0,010 unidades (B) o en 0,272 DE ( $\beta$ ), predice aumento de la variable dependiente en las mismas unidades, explicando el 5,9% de la misma (R<sup>2</sup> ajustada); del mismo modo, en el segundo modelo del control a 1 mes, aumentos en los F2-Isoprostanos predicen aumentos de la variable dependiente y explican el 7,3% del segundo modelo.

Por el contrario, se ha observado una asociación negativa entre diámetro mayor tumoral y 8-oxodG (factor protector): en el tercer modelo, del control a 12 meses, descensos en la 8-oxodG son predictoras de descensos en la variable dependiente, explicando el 13,6% del modelo.

Posteriormente se han introducido las demás variables preoperatorias bioquímicas y clínicas de los pacientes y del tumor, resultando significativos los siguientes modelos:

Modelo	Variables independientes	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	p valor	R <sup>2</sup> ajustada
		B	Error típico	β		
Bioquímico	LDL-Colesterol	-0,016	0,007	-0,276	0,019	0,063
Anemia	VCM bajo	-0,080	0,029	-0,341	0,008	
	Hemoglobina baja	1,145	0,495	0,288	0,250	0,277
Inflamación	Fibrinógeno	0,006	0,002	0,296	0,012	
Clínico	Fumó alguna vez	-0,974	0,453	-0,252	0,035	0,064
Tumoral	Grado histológico	1,153	0,436	0,429	0,013	
	Estadio tumoral	1,259	0,594	0,394	0,043	0,271

**Tabla 34. Regresión lineal multivariante para variables bioquímicas, marcadores de anemia, marcadores de inflamación, características clínicas y tumorales; variable dependiente: diámetro mayor tumoral.** B: coeficiente de regresión parcial; β: coeficiente beta; R: coeficiente de determinación. Las variables independientes introducidas en los modelos que fueron excluidas por no presentar significación estadística ( $p > 0,05$ ) fueron en bioquímica: ácido úrico, albúmina, colesterol total y colesterol HDL; en marcadores de anemia: hierro, ferritina, transferrina, índice de saturación de la transferrina y hematocrito; en marcadores de inflamación: IL-6, PCR, leucocitos, neutrófilos, índice neutrófilo/linfocito, plaquetas y fibrinógeno; en las variables clínicas: edad, sexo, IMC, DM, HTA, dislipemia, cardiopatía isquémica, IRC, enfermedad inflamatoria intestinal, alcohol y adherencia a la dieta mediterránea; en las variables tumorales: localización, metástasis post-tratamiento, recidivas, complicaciones, adenomas, diverticulosis, grado histológico, tratamiento neoadyuvante y adyuvante.

Los descensos en colesterol-LDL y el consumo de tabaco se asocian con descensos en la variable dependiente, explicando el 6,3 y el 6,4% de los modelos bioquímico y clínico, respectivamente. El

aumento del fibrinógeno, grado histológico y estadio tumoral se correlacionan con el aumento de la variable dependiente, explicando el 8,8 y 27,1% de los modelos de inflamación y tumoral. El aumento de anemia (hemoglobina baja) y la disminución de anemia microcítica (VCM bajo) se asocian con aumento y descenso de la variable dependiente, respectivamente; ambas explican el 27,7% del modelo.

### 6.5.2 REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA.

Posteriormente se realizó una regresión logística binaria utilizando el método de selección por pasos hacia atrás, porque se desea que el modelo incluya en un principio todas las variables independientes (marcadores de EO y tumorales) y vaya quitando variables en cada paso hasta quedar sólo las variables explicativas. Se seleccionó primero como variable dependiente el “estadio tumoral avanzado” (Tabla 35):

Modelo	Variable independiente	B	Error típico	Wald	P valor	OR	IC 95%
Basal	8-oxodG	0,225	0,093	5,832	0,016	1,253	1,043-1,504

**Tabla 35. Regresión logística binaria para variables de estrés oxidativo y marcadores tumorales. Variable dependiente: estadio tumoral avanzado; variables independientes: marcadores de estrés oxidativo y tumorales.** B: coeficiente de regresión parcial; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza. Las variables introducidas que fueron excluidas por no presentar significación estadística ( $p > 0,05$ ) fueron: CEA, CA 19.9, Catalasa, Glutación reducido (GSH), Glutación oxidado (GSSG), relación GSSG/GSH y F2-Isoprostanos.

La 8-oxodG fue el único marcador que se asoció, positivamente, con el estadio avanzado del tumor, con una odds de 1,253; es decir,

el aumento en 0,225 unidades de 8-oxodG aumenta el riesgo de estadio avanzado 1,253 veces.

Al introducir las variables preoperatorias bioquímicas y clínicas de los pacientes y del tumor, no se obtuvo ningún resultado significativo.

Posteriormente se realizó la regresión con la “aparición de metástasis post-cirugía” como variable dependiente y las mismas variables independientes (Tabla 36):

Modelo	Variable independiente	B	Error típico	Wald	p valor	OR	IC 95%
Basal	F2-Isoprostanos	0,112	0,048	5,478	0,019	1,118	1,018-1,228
6 meses	8-oxodG	-0,487	0,225	4,662	0,031	0,615	0,395-0,956
12 meses	CEA	0,364	0,364	5,062	0,024	1,440	1,048-1,977

**Tabla 36. Regresión logística binaria para variables de estrés oxidativo y marcadores tumorales. Variable dependiente: aparición de metástasis post-cirugía; variables independientes: marcadores de estrés oxidativo y tumorales.** B: coeficiente de regresión parcial; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza. Las variables introducidas que fueron excluidas por no presentar significación estadística ( $p > 0,05$ ) fueron: CA 19.9, Catalasa, Glutación reducido (GSH), Glutación oxidado (GSSG) y relación GSSG/GSH.

Presentaron asociación positiva el primer y tercer modelo (basal y control a 12 meses): el aumento de los F-2 Isoprostanos basales en 0,112 unidades y el del CEA a los 12 meses de la intervención en 0,364 unidades aumentan el riesgo de metástasis post-cirugía 1,118 y 1,440 veces, respectivamente. En cambio, presentó asociación negativa el segundo modelo, la 8-oxodG del control a 6 meses, pues sus descensos en 0,487 unidades son

predictoras de disminución de riesgo de dichas metástasis (por 0,615), resultando su descenso un factor protector.

En este caso tampoco se obtuvo ningún modelo con las variables preoperatorias bioquímicas y clínicas de los pacientes y del tumor.

A la vista de los resultados se puede observar que la 8-oxodG presenta asociación con las tres variables predictoras de mal pronóstico de la enfermedad (tamaño tumoral, estadio avanzado y aparición de metástasis post-cirugía).

## **7. DISCUSIÓN**

---



## 7. DISCUSION.

### CÁNCER COLORRECTAL Y ESTRÉS OXIDATIVO.

La elección de este tipo de cáncer para la presente tesis ha sido debido a su alta incidencia entre las enfermedades tumorales, ocupando el tercer lugar a nivel mundial (*GLOBOCAN 2018*), siendo por sexos el segundo tras el cáncer de pulmón en el hombre y el de mama en la mujer. Asimismo, por sexos supone la segunda causa de muerte tras estos dos cánceres, estimándose en nuestra Comunidad una pérdida de años potenciales de vida del 10% en el varón y del 8% en la mujer (*DGSP, 2018*).

Todos estos datos llevan a plantearnos la necesidad de mejorar su diagnóstico estudiando en profundidad los factores etiológicos y determinaciones de laboratorio que nos puedan llevar a un diagnóstico más precoz. Ningún marcador tumoral identificado hasta el momento es suficientemente sensible o específico para que pueda usarse únicamente por sí mismo como examen para la detección del CCR (*Hermida Lazcano et al., 2016; NIH, 2018*). Establecer un diagnóstico sobre la base de los marcadores tumorales solamente (especialmente un único resultado) es muy arriesgado debido al problema de la baja sensibilidad y la no especificidad (*Sharma, 2009*). Las concentraciones elevadas de CEA sólo se identifican en raras ocasiones en el estadio I del CCR; además, no diferencia entre pólipos benignos y malignos (*Lech et al., 2016*). Las guías clínicas del Grupo Europeo de Marcadores Tumorales, la Sociedad Europea de Oncología Médica y la Sociedad Americana de Oncología Clínica

no lo aconsejan como screening diagnóstico (*Locker et al., 2006; Labianca et al., 2010; Duffy et al., 2014*). Con respecto al CA 19.9, su relevancia en el diagnóstico del CCR sigue siendo un problema; la mayoría de investigadores llegan a la conclusión de que su sensibilidad es muy inferior a la del CEA, y que la elevación de sus niveles es un factor de mal pronóstico, asociado a estadios avanzados (*Nicolini et al., 2010; Lumachi et al., 2012*).

Por ello, la identificación de nuevos biomarcadores que, solos o como complemento de pruebas existentes, permitan reconocer fases tempranas de la enfermedad, sigue siendo de gran importancia para el manejo más adecuado de los pacientes afectos.

El componente inflamatorio sistémico tiene una repercusión importante en el cáncer en general, y en el CCR en particular, contribuyendo en gran medida a la expansión de las células tumorales y la aparición de complicaciones. Distintos autores lo consideran un factor importante en el inicio y desarrollo de la carcinogénesis (*Federico et al., 2007; Reuter et al., 2010*).

En estrecha relación con este hecho está el fenómeno de oxidación espontánea de las moléculas orgánicas, a través de la formación de EROs. Desde que se definiera el concepto de “estrés oxidativo” (*Sies, 1985*) y se conociera el poder de los agentes oxidantes como promotores tumorales a través de las EROs y los productos de peroxidación de moléculas (*Cerutti, 1985*), son muchos los estudios que relacionan EO-inflamación-cáncer. La asociación entre la inflamación crónica y el cáncer está bien establecida (*Apte et al., 2006*). Un mecanismo importante de la inflamación inducida

por el cáncer se debe a EO (*Rose-John y Schooltink, 2007*), que es el resultado de la liberación de RL de las células inmunitarias activadas y las citoquinas. La activación de interleuquinas inflamatorias, como IL-1 e IL-6 y la sobreexpresión de proteínas de membrana, como MAP17, juegan un importante papel en el desarrollo de inflamación crónica y su potencial transformación en cáncer (*Apte et al., 2006; Rose-John y Schooltink, 2007; García-Heredia y Carnero, 2017*). Las células inflamatorias secretan un gran número de citoquinas y quimioquinas que promueven el crecimiento de las células neoplásicas, además de la producción de factores de crecimiento autocrino por las propias células tumorales. Las EROs y ERNs se producen bajo el estímulo de citoquinas proinflamatorias en células fagocíticas y no fagocíticas a través de la activación de la señalización proteín-quinasa. Por ejemplo, TNF- $\alpha$  aumenta la formación de EROs por parte de los neutrófilos y otras células, mientras que la interleuquina-1-a (IL-1-a), TNF-a e IFN- $\gamma$  estimulan la expresión de NO-sintasa inducible en células inflamatorias y epiteliales (*Federico et al., 2007*).

La respuesta inflamatoria fisiológica (reclutamiento de leucocitos/macrófagos en el foco) es autolimitada, pero si la inflamación está desregulada puede volverse crónica, induciendo el crecimiento maligno y la iniciación de tumores en el tejido circundante, debido a la producción persistente de factores de crecimiento, así como de EROs y ERNs que interactúan con el ADN del tejido, el cual prolifera y da lugar a alteraciones genómicas permanentes (*Todoric et al., 2016*).

Los macrófagos, un componente esencial del sistema inmunológico innato en humanos, pueden representar hasta el 50% de la masa tumoral, lo que los convierte en una parte importante del estroma del mismo, por lo que se les conoce comúnmente como macrófagos asociados al tumor (TAM). Los TAM generalmente pueden promover la proliferación de células cancerosas, estimular la angiogénesis tumoral y la ruptura de la matriz extracelular, suprimir las respuestas inmunitarias antitumorales, y aumentar la invasión tumoral y las metástasis (*Qian y Pollard, 2010*).

Es ampliamente conocido que el CCR es una complicación de un estado inflamatorio crónico en el intestino; la producción excesiva e incontrolada de EROs durante un largo período de tiempo da lugar a una lesión persistente de las células y, en consecuencia, a una inflamación crónica. Junto al daño celular, las células inflamatorias también producen mediadores solubles que actúan reclutando más células inflamatorias en el sitio de la lesión y produciendo más especies reactivas. Este ambiente inflamatorio/oxidativo sostenido conduce a una mayor producción de hidropéroxidos en un círculo vicioso que puede dañar las células sanas de las inmediaciones de la lesión y, durante mucho tiempo, puede conducir al desarrollo del cáncer. Además, el EO crónico puede provocar carcinogénesis al alterar la expresión de genes relacionados con el cáncer causando mutación y transformación maligna.

La mucosa intestinal se enfrenta constantemente a oxidantes y carcinógenos derivados de la dieta y las bacterias. La exposición crónica a estas condiciones desafiantes puede conducir a la

generación incontrolada de RL, desequilibrio redox y daño al ADN, lo que puede afectar la homeostasis metabólica intestinal, con el cáncer como punto final (*Guz et al., 2008*).

En el cáncer se ha demostrado que las células cancerosas tienen mayores niveles de EROs en comparación con las células normales; esto se debe en parte a un aumento del metabolismo y a una disfunción mitocondrial en las células cancerosas. La generación en aumento de EROs en las células cancerosas contribuye a los cambios bioquímicos y moleculares necesarios para la iniciación, promoción y progresión del tumor, así como a su resistencia a la quimioterapia.

Las altas concentraciones de EROs, por ejemplo en el curso de la inflamación, pueden provocar daños en el ADN, lo que da lugar a ácidos nucleicos no reparados que dan lugar a mutaciones; éste es especialmente el caso de los protooncogenes y los genes supresores de tumores cuyas mutaciones, si no se reparan, pueden iniciar el desarrollo del cáncer. Los daños en el ADN inducidos por EROs y las mutaciones genéticas son causas críticas de cánceres, incluido el CCR. Las principales lesiones de ADN intracelular causadas por EROs son roturas de ADN de cadena simple y doble, y las mutaciones genéticas comunes que incluyen mutaciones de p53, KRAS, APC y BRAF (*Liu et al., 2017*). Esos genes mutados pueden promover también la producción de EROs, como en el caso de la activación de mutaciones del oncogén KRAS, que además causan daño al ADN y transformación maligna (*Helfinger y Schröder, 2018*).

La incapacidad de los agentes anticancerosos para atacar selectivamente las células tumorales sigue siendo un impedimento significativo para el éxito de la quimioterapia, por lo que uno de los enfoques factibles para lograr la selectividad terapéutica es atacar las características bioquímicas únicas de las células cancerosas, lo que limitaría la toxicidad severa del huésped. Por ello, en los últimos años y como perspectiva de futuro se encuentran los medicamentos contra el cáncer basados en la activación dependiente de EROs. La terapia anticancerosa mediada por EROs consiste en aumentar las mismas a niveles altamente tóxicos intracelulares, activando así las vías de muerte celular inducida por las EROs (*He et al., 2017*); esto puede lograrse utilizando agentes que aumenten su generación o inhibiendo la defensa antioxidante, o una combinación de ambos. Varios de estos agentes se están utilizando actualmente para el tratamiento del cáncer, o están en ensayos clínicos.

Por lo tanto, el aumento de EROs en las células cancerosas puede ser un potencial terapéutico mediante el desarrollo de profármacos anticancerosos que puedan activarse bajo un alto nivel de EROs y de esa forma inhibir selectivamente la proliferación de células cancerosas. De ahí la paradoja de las EROs y el cáncer: “¿promover o suprimir?” (*Galadari et al., 2017*). Sin embargo, se debe tener precaución al utilizar agentes generadores de EROs, ya que éstas pueden inducir efectos biológicos múltiples y no lineales, contribuyendo a la aparición de reacciones farmacológicas adversas.

## MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO.

Los marcadores de EO son herramientas importantes para evaluar el estado redox biológico de la enfermedad y su progresión, así como los efectos beneficiosos para la salud de los antioxidantes en los humanos (*Marrocco et al., 2017*). La identificación de los marcadores de EO ha sido el foco de muchos estudios, y distintas biomoléculas de variadas fuentes han sido propuestas en los últimos años (*Halliwell y Gutteridge, 2007*). El EO se considera un componente importante de distintas enfermedades; se ha desarrollado y utilizado un gran número de métodos en prácticamente todas las enfermedades para medir el grado y la naturaleza del EO, que van desde la oxidación del ADN hasta las proteínas, los lípidos y los aminoácidos libres (*Frijhoff et al., 2015*).

Cuando se valora el EO es importante medir tanto los productos de oxidación molecular como las enzimas antioxidantes. Los polimorfismos en las enzimas antioxidantes están asociados con el daño al ADN y, por consiguiente, con el riesgo de que el individuo sea susceptible al cáncer (*Khan et al., 2010*).

De entre todos los marcadores de EO han sido elegidos para la presente tesis en suero la enzima del sistema antioxidante CAT y el sistema glutatión como marcador de daño oxidativo (GSH y GSSG); en orina, la 8-oxodG como índice de lesión del ADN y los F2-Isoprostanos como marcadores de oxidación lipoperoxídica.

La red de defensa antioxidante del organismo consta de antioxidantes enzimáticos endógenos y antioxidantes no enzimáticos. Estas moléculas actúan colectivamente contra los RL

para contrarrestar sus efectos dañinos producidos en las biomoléculas vitales y, en última instancia, en los tejidos corporales. Basado en su respuesta a los RL, se pueden categorizar en antioxidantes de defensa de primera, segunda, tercera e incluso cuarta línea.

El papel y eficacia de los antioxidantes de defensa de primera línea, entre los que se encuentra la enzima clave CAT, es importante e indispensable en la estrategia de defensa, especialmente en referencia al radical aniónico superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), que es perpetuamente generado en el metabolismo normal del cuerpo, particularmente a través de la producción de energía mitocondrial, previniendo el EO y el daño celular concomitante (*Ighodaro y Akinloye, 2018*).

La CAT es altamente eficiente, pudiendo descomponer millones de moléculas de  $H_2O_2$  en un segundo. En cantidades bajas, el  $H_2O_2$  tiende a regular algunos procesos fisiológicos como la señalización en la proliferación celular, la muerte celular, metabolismo de carbohidratos y mantenimiento mitocondrial normal del balance redox del tiol; sin embargo, en altas concentraciones es muy perjudicial para las células. Por lo tanto, la capacidad de la CAT para limitar efectivamente la concentración de  $H_2O_2$  en las células subraya su importancia en los procesos fisiológicos mencionados. La mutación de esta enzima o niveles bajos de la misma (hipo o acatalasemia) están relacionados con mayor predisposición a la DM tipo 2, HTA y vitiligo, y algunas veces con aterosclerosis y neoplasias (*Góth et al., 2004; Glorieux y Calderon, 2017*). Por otro

lado, algunos autores encuentran que su concentración aumenta en enfermedades con elevado EO, como en afecciones cardiovasculares, inflamación y tumores (*Al-Abrash et al., 2000*).

La homeostasis redox se mantiene, entre otros, por el sistema glutatión, regulador no enzimático intracelular. En condiciones celulares normales, la principal parte de este regulador está en su forma reducida (GSH) y se distribuye por núcleo, retículo endoplásmico y mitocondria; está ubicuamente presente en todos los tipos de células en concentración milimolar. Además, actúa como coenzima de numerosas enzimas involucradas en la defensa celular (*Masella et al., 2005*). El glutatión oxidado (GSSG) acumulado dentro de las células y la proporción de GSSG/GSH es una buena medida del estado redox de un organismo.

Por lo que respecta a la 8-oxodG, es una de las principales bases oxidadas, por oxidación directa en el ADN o bien en el pool de nucleótidos, producida por EROs y es altamente mutagénica porque puede asociarse con adenina o con citosina en el ADN. Entre los residuos de guanina de las distintas formas de ácidos nucleicos, como la deoxiguanosina (dG), poli G y poli(dG-dC): poli(dG-dC), la posición C-8 es la más efectivamente oxidada, generando 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodG); causa mutaciones de transversión de G a T (sustitución de una purina por una pirimidina) y se acumula en el ADN nuclear y mitocondrial durante el envejecimiento, siendo una causa importante de cáncer. Además,

conduce a la muerte celular en mamíferos si se acumula en el ADN (*Nakabeppu, 2014*).

La 8-oxodG se elimina gracias a los sistemas de reparación a través de glicosilasas específicas humanas (8-oxoG DNA glicosilasa u hOGG1) y MutYH (mutY Homolog (*E. coli*)) para iniciar la reparación de la escisión de la base (REB), sin posterior modificación de su estructura (*Dahle et al., 2008*).

Hace algunos años se descubrió que unos compuestos de la familia de las prostaglandinas (prostaglandin-like) se forman in vivo por peroxidación no enzimática del ácido araquidónico catalizada por RL. Debido a que estos compuestos constituyen una serie de isómeros que contienen el anillo prostano de las prostaglandinas, se denominaron F2-Isoprostanos (*Montuschi et al., 2004*). Son compuestos biológicamente activos que pueden medirse con precisión a nivel picomolar, son bastante estables y no exhiben variaciones diurnas; pueden detectarse en casi todos los tejidos biológicos, estando sus niveles modulados por el estado antioxidante del organismo, pero no por la composición lipídica de la dieta (*Halliwel y Gutteridge, 2007*).

Los F2-Isoprostanos se encuentran elevados en un amplio rango de condiciones clínicas humanas, como obesidad, isquemia, enfermedades del sistema nervioso central, trastornos genéticos (fibrosis quística, anemia drepanocítica) y cáncer (*Milne et al., 2015*).

## 7.1 Evaluación de los marcadores de estrés oxidativo en los pacientes frente al grupo de controles sanos.

En el presente estudio, la comparación de medias entre ambos grupos de pacientes y controles presentó diferencias muy significativas ( $p < 0,001$ ) en todos los marcadores de EO estudiados; tras el ajuste por edad e IMC, no variaron las diferencias, pese a que está descrito que el EO aumenta en la obesidad (*Martínez Abundis y Sánchez Rodríguez, 2005; De Tursi Ríspoli et al., 2013*). Las medias fueron inferiores en CAT y GSH y superiores en GSSG, relación GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos en los pacientes respecto a los controles sanos.

Este ajuste se realizó con todos los parámetros comparados entre ambos grupos, para eliminar el factor de confusión (*Molina Arias y Ochoa Sangrador, 2016*) de peso e IMC, que solo habían influido en el resultado del ácido úrico y VCM.

Por lo que respecta al EO, son diversos los estudios que analizan por inmunohistoquímica la CAT en tejido tumoral, encontrando niveles disminuidos en células tumorales en pacientes con CCR (*Laurer et al., 1999; Skrzydlewska et al., 2005*), carcinoma pancreático (*Cullen et al., 2003*) y cáncer gástrico (*Hwang et al., 2007*), frente al tejido normal; otros autores, en cambio, encuentran niveles aumentados de CAT en tejido tumoral de 25 pacientes con CCR, probablemente en respuesta al aumento del estrés de los RL que se produce en los tejidos cancerosos (*Rainis et al., 2007*). En una revisión de 2017, *Glorieux y Calderón* recogen resultados de

esta enzima disminuidos en hepatocarcinoma, leucemia y cáncer de mama.

En cuanto a sus niveles en sangre en pacientes con cáncer, se han encontrado también niveles disminuidos de CAT en pacientes con carcinoma de mama (Veni et al., 2011), de ovario (Didžiapetrienė et al., 2014) y en los linfocitos de la leucemia linfática crónica (Oltra et al., 2001).

De forma análoga a nuestro estudio, Chang et al. (2008) en un seguimiento de 36 pacientes con CCR y 40 controles sanos, de edades comprendidas entre 38 y 82 años (similares a las de nuestro estudio), encuentran descenso sérico de las enzimas antioxidantes y GSH (aunque no significativo este último) y aumento de cuatro veces de la 8-oxodG sérica en los pacientes respecto a los controles. Algunos autores, en cambio (Mahmood, 2010), han encontrado aumentos en la CAT sérica en un estudio de casos-control en pacientes con CCR (n=40) respecto a los controles (n=20); también Gopčević et al. (2013) refieren un desbalance en las enzimas antioxidantes de pacientes con CCR, con aumento de CAT y descensos de otras enzimas como la SOD.

El GSH se ha estudiado en diversas muestras orgánicas: Saygili et al. (2003) lo determinan en glóbulos rojos, hallando niveles reducidos en pacientes con CCR. Oliva et al. (1997) encuentran niveles disminuidos de CAT con aumento de GSH y 8-oxodG en tejido tumoral de pacientes con CCR; en cambio, Skrzydlewska et al. (2005) hallan en pacientes con CCR estadio IV descensos tanto de CAT como de GSH en la mucosa tumoral frente a la mucosa

colónica normal. *Uno et al. (2010)* correlacionan positivamente el contenido intracelular de GSH en monocitos de pacientes con CCR con la infiltración de células T en los islotes tumorales y la supervivencia general de los pacientes.

En general, cualquier condición asociada con el exceso de EROs disminuirá los niveles séricos de GSH, como en el envejecimiento (*Dröge, 2002*) o disminuirá la relación GSH/GSSG (*Frijhoff et al., 2015*). *Avinash et al. (2009)* refieren disminución de GSH en el plasma de 45 enfermos de CCR respecto a los mismos controles sanos; *Baltruskeviciene et al. (2016)*, en su estudio con 40 controles sanos y 58 pacientes con CCR (18 sin metástasis y 40 con metástasis), encuentran que el nivel de GSH fue significativamente menor en el suero de los pacientes con CCR (con y sin metástasis hepáticas) que en el de los voluntarios sanos, de forma similar a los obtenidos en nuestro estudio; también *Dusak et al. (2017)* refieren niveles disminuidos de GSH en suero de 25 pacientes con CCR respecto a los controles sanos.

En un estudio reciente (*Rasool et al. 2018*) de 50 pacientes con CCR y 20 controles sanos se detectan niveles bajos de CAT y GSH (entre más metabolitos) en el suero de los pacientes con respecto a los controles, en consonancia con nuestros resultados.

Otros marcadores de EO aumentan en distintos tipos de cáncer; así *Kuo et al. (2007)* hallan niveles de 8-oxodG urinarios más elevados en cáncer de mama que en el grupo control; *Khadem-Ansari et al. (2011)* encuentran un aumento de 8-oxodG y F2-Isoprostanos en orina de pacientes con cáncer de pulmón; *Borrego*

*et al.* (2013) observan aumento de la 8-oxodG en orina de pacientes con cáncer gástrico respecto a los controles sanos. También se ha observado aumento de 8-oxodG en el carcinoma renal (*Huang et al.*, 2012) y en el escamoso de esófago (*Kubo et al.*, 2014).

*Roszkowski et al.* (2011), determinan la 8-oxodG en plasma, suero y leucocitos de pacientes con CCR, encontrando sus niveles en todos ellos más elevados que en los controles sanos; también en tejido tumoral se ha encontrado correlación positiva entre la presencia de 8-oxodG en las células tumorales y peores resultados clínicos, así como mayor grado tumoral (*Matosevic et al.* 2015). También se ha visto aumentada la 8-oxodG en células mononucleares, plasma, líquido cefalorraquídeo y orina en un variado y amplio número procesos inflamatorios, entre las que se encuentran las alteraciones cardiovasculares, metabólicas, degenerativos y tumorales (*Oltra et al.*, 2001; *Delgado Roche et al.*, 2009; *Broedbaek et al.*, 2011; *Borrego et al.*, 2013; *Poulsen et al.*, 2014).

La 8-oxodG urinaria es la más medida de los biomarcadores no invasivos de EO derivados del ADN; existen distintas metodologías, por lo que se han hecho estudios para evaluar la precisión de las mediciones intra e intertécnicas e interlaboratorios, comparando espectrometría de masas, cromatografía de alta precisión con detección electroquímica (HPLC-EC) y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Los niveles de creatinina urinaria se utilizan de forma rutinaria como factor de corrección para la concentración de orina y, al comparar su determinación entre

laboratorios la correlación es buena entre ellos, tanto en el caso de la 8-oxodG como de la creatinina urinarias, con desvíos inferiores a 1 DE de sus medias de consenso, excepto en el caso del ELISA, que mostró más variación que las técnicas cromatográficas, informando valores más altos (*Evans et al., 2010*). La HPLC-EC es muy sensible, tres órdenes de magnitud más que la detección UV, capaz de detectar niveles muy bajos de 8-oxodG en la orina (*Domijan y Peraica, 2008*); éste ha sido el método utilizado en la presente tesis.

Además, la medición de 8-oxodG en orina tiene las siguientes ventajas sobre la medición del daño oxidativo del ADN en el tejido o linfocitos: no es un método invasivo; no se produce 8-oxodG artificialmente durante la operación de aislamiento del ADN, y es estable durante el almacenamiento de la orina (es estable congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante un período prolongado) y durante el ensayo. Por tanto, la medición de productos de la base de ADN excretados en la orina refleja bien el daño oxidativo del ADN en todo el organismo (*Domijan y Peraica, 2008*).

Debido a su estabilidad química y sensibilidad a los cambios en el EO, los F2-Isoprostanos se consideran a menudo los marcadores más fiables para monitorizar el EO in vivo (*Kadiiska et al., 2005*). La cuantificación de los mismos en plasma u orina proporciona un índice altamente preciso de EO (*Morrow, 2005; Palmieri y Sblendorio, 2007*); también *Forman et al. (2015)* lo consideran el mejor marcador de peroxidación lipídica de los existentes acualmente.

Algunos autores los determinan en plasma; así, en un estudio piloto realizado en un grupo de pacientes con tumores de colon a los que se dio una combinación de micronutrientes antioxidantes durante 4 meses, se encontró un descenso de los F2-Isoprostanos e IL-6 plasmáticos en pacientes no fumadores con adenomas de colon (*Hopkins et al., 2010*). *Rasool et al. (2018)* también los determinan en suero, encontrando niveles significativamente más elevados en pacientes con CCR que en los controles sanos.

Para *Il'yasova et al. (2012)*, los biomarcadores recomendados para monitorizar el estado oxidativo a lo largo del tiempo son la 8-oxodG y los F2-Isoprostanos; también diferentes autores los combinan para el estudio del EO (*Khadem-Ansari et al., 2011*; *Mesaros et al., 2012*).

Dado que sus niveles se encuentran elevados en distintos tipos de cáncer y su determinación constituye un paso de avance importante en los estudios de RL, se decidió suplementarlos en la determinación de orina de nuestros pacientes.

## **7.2 Evaluación de los marcadores de estrés oxidativo en situación basal y en los diferentes tiempos de evolución del tumor.**

Se han hecho estudios longitudinales con distintos marcadores de EO y distintas patologías. *Mizoue et al. (2007)* miden por HPLC 8-oxodG en tres tiempos (basal, a 4 y a 12 meses) en 174 participantes sin antecedentes patológicos y encuentran una asociación inversa entre el IMC y el riesgo de cáncer por incremento del daño oxidativo del ADN. *Arakaki et al. (2016)* hacen un

seguimiento longitudinal a 30 pacientes con linfoma folicular determinando 8-oxodG y d-ROMs (derivados de los metabolitos reactivos de oxígeno), concluyendo que el aumento de sus niveles se asocia con un pobre pronóstico.

*Borrego et al. (2013)* realizan el seguimiento durante 12 meses de 48 pacientes con cáncer gástrico determinando marcadores de EO en tumor, células mononucleares periféricas y 8-oxodG en orina; los pacientes exhiben elevados niveles de peroxidación lipídica y daños en el ADN, que descienden progresivamente tras la intervención quirúrgica hasta niveles cercanos a los de los individuos sanos.

Al igual que en nuestro estudio, *Farias et al. (2011)* correlacionan los niveles de peroxidación lipídica con la evolución del CCR en 43 pacientes tratados con quimioterapia, concluyendo que pueden ser útiles en el pronóstico de estos pacientes por incrementarse antes que otros biomarcadores; en los pacientes con buena evolución tras el tratamiento observan aumentos de la CAT. En cambio, *Gopčević et al. (2013)*, en un estudio que incluyó 70 pacientes con CCR y 42 controles sanos, hallan niveles de CAT superiores en los pacientes.

En nuestro estudio, la evolución con el tiempo fue, en general, progresiva; niveles basales más bajos que los controles en el caso de la CAT y GSH y, por el contrario, más elevados en el de GSSG, índice GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos. A los 12 meses de la intervención, alcanzan casi los niveles de los controles la CAT y el

sistema glutatión; en cambio, la 8-oxodG y los F2 Isoprostanos quedaron lejos de aproximarse a los valores medios de los mismos.

Todos los marcadores de EO de los pacientes presentaron durante todos los tiempos evolutivos diferencias significativas con las determinaciones del grupo control, sobre todo en las basales y a 1 y 6 meses ( $p < 0,001$ ); a los 12 meses fueron menos significativas para CAT, GSSG y GSSG/GSH ( $p < 0,05$ ).

### **7.3 Características diagnósticas de los marcadores de estrés oxidativo en la evolución del CCR. Comparación con los marcadores tumorales utilizados en la práctica clínica.**

Se ha calculado sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y exactitud de los marcadores de EO y MT tras realizar las curvas ROC para cada uno de ellos y así establecer el punto de corte con la mayor sensibilidad y el menor número de falsos positivos (1-especificidad) de cada uno de ellos.

En el caso de los MT, dichos puntos de corte son los correspondientes al valor superior de los rangos de referencia para la metodología utilizada, siendo su especificidad y VPP máximos, pero su sensibilidad muy baja, especialmente en el caso del CA 19.9. El VPN y la exactitud de ambos se sitúan cerca del 50%.

En cuanto a los marcadores de EO, GSH y F2-Isoprostanos presentan también una especificidad y VPP máximas con una sensibilidad adecuada, aunque inferior al 80%. Por su parte, CAT y 8-oxodG exhiben sensibilidades superiores al 80% y especificidades por encima del 90%. El índice GSSG/GSH presenta todas las pruebas diagnósticas superiores al 90%.

Para una prevalencia de la enfermedad en la población estudiada de 0,57, la exactitud de todos los marcadores de EO osciló entre el 85,0% y el 98,6%.

#### **7.4 Valor predictivo pronóstico de los marcadores de estrés oxidativo y otros marcadores en la evolución del CCR.**

Al aplicar los métodos de regresión para evaluar las variables independientes predictoras de mal pronóstico de la enfermedad (marcadores de EO y MT, tanto las determinaciones basales como las de los periodos evolutivos, así como otras variables preoperatorias bioquímicas y clínicas de los pacientes y del tumor), se han seleccionado tres variables dependientes: tamaño tumoral, estadio avanzado y aparición de metástasis post-cirugía. De los marcadores de EO se ha encontrado asociación entre tamaño tumoral y los F2-Isoprostanos a 1 mes de la intervención (positiva); y entre tamaño tumoral y la 8-oxodG a los 12 meses post-intervención (negativa). Con estadio avanzado se asoció positivamente la 8-oxodG (OR: 1,253). Por último, con la aparición de metástasis post-cirugía mostraron asociación positiva F2-Isoprostanos (OR: 1,118), mientras que la 8-oxodG a los 6 meses de control se asoció negativamente (OR: 0,615).

Por tanto, el aumento de los F2-Isoprostanos ha resultado marcador predictor de mal pronóstico, mientras que el descenso de la 8-oxodG posee características de factor protector para las variables tamaño tumoral y aparición de metástasis post-cirugía.

Por lo que respecta a los MT, sólo presentó asociación positiva el CEA preoperatorio con tamaño tumoral y a los 12 meses de control con aparición de metástasis post-cirugía (OR: 1,440).

También se introdujeron como variables independientes las variables bioquímicas y hematológicas, las características clínicas y tumorales, resultando positiva la asociación de la anemia, el aumento de fibrinógeno, grado histológico y estadio tumoral con el tamaño tumoral; en cambio, resultó negativa la asociación con LDL-colesterol, anemia microcítica (VCM bajo) y consumo de tabaco, siendo protector el descenso de estos factores.

Estas variables no presentaron asociación con estadio avanzado ni con aparición de metástasis post-cirugía.

### **7.5 Influencia de las comorbilidades y factores de riesgo en la evolución del proceso tumoral.**

Respecto a la influencia de las comorbilidades y factores de riesgo de los pacientes en la evolución del proceso tumoral, se estudiaron los marcadores de EO en los pacientes según la presencia o no de las siguientes variables: senectud (edad>65 años), obesidad (IMC≥30 Kg/m<sup>2</sup>), dislipemia, DM, HTA, IRC, cardiopatía isquémica, EII, fumador e ingestión de alcohol.

Sólo se encontraron aumentos en la media de CAT y GSH en los pacientes con cardiopatía isquémica y de GSH en pacientes con HTA respecto a los que no presentaban dichas enfermedades, siendo las diferencias significativas en ambos casos ( $p<0,05$ ), quizá relacionado con la toma de AAS en los cardiópatas (ver más adelante).

## 7.6 Influencia de factores con potencial preventivo en los niveles de estrés oxidativo y en la evolución del CCR.

### *Dieta mediterránea.*

Por lo que respecta a la dieta mediterránea, en la literatura existen diversos estudios que evalúan la asociación de la dieta y otros factores del estilo de vida con el CCR, como el COLON Study (*Winkels et al., 2014*). Hay muchos estudios sobre dieta mediterránea y CCR; por citar algunos, *Bamia et al. (2013)*, en un estudio europeo de cohortes con seguimiento de más de 5 millones de personas, usando los sistemas de puntuación de *Trichopoulou MDS (1995)* y *MMDS (2005)* (*Mediterranean Diet Score* y *Modified Mediterranean Diet Score*, respectivamente), estimaron una disminución del riesgo de CCR del 8 y 11 %, respectivamente, cuando se comparó la adherencia más alta con la más baja de la escala; además, un incremento de 2 unidades en cualquiera de las escalas mediterráneas se asoció con una reducción estadísticamente significativa del 3 - 4 % en el riesgo de CCR. Estos hallazgos sugieren que seguir una dieta mediterránea puede tener un efecto beneficioso moderado sobre el riesgo de CCR.

*Schwingshackl et al. (2017)*, en una revisión y meta-análisis amplio de más de 2 millones de pacientes de distintos tipos de cáncer, confirman una importante asociación inversa entre el cumplimiento de una dieta mediterránea, el riesgo de varios tipos de cáncer y la mortalidad por cáncer, especialmente por el CCR.

En una revisión de los efectos de la dieta mediterránea en los últimos 10 años de *Donovan et al. (2017)*, los autores concluyen

que, en general, los estudios de casos-control realizados en poblaciones mediterráneas apoyaron consistentemente la disminución del riesgo de CCR cuando se utilizaron los sistemas de puntuación MDS y MMDS. En cambio, hay discrepancias en las conclusiones de los estudios de cohortes, con estudios que informan disminución del riesgo en ambos sexos; otros estudios que no indican ningún efecto y estudios que informan efectos específicos para hombres y otros para mujeres. Estas inconsistencias en los resultados podrían estar relacionadas con los diferentes índices de puntuación utilizados para determinar el cumplimiento de la dieta mediterránea.

De los 80 pacientes con CCR del presente estudio mostraron adherencia a la dieta mediterránea prácticamente la mitad, 41 de 80 (51,3%) y no se encontraron diferencias significativas respecto a los que no la seguían en los MT ni en los marcadores de EO, si bien los niveles de CAT y GSH fueron superiores y los restantes marcadores inferiores en los adherentes a la dieta que en los no adherentes; sólo la 8-oxodG presentó diferencias significativas ( $p=0,043$ ) respecto a los que no presentaron adherencia a la dieta (véase tabla 21).

A nivel bioquímico destaca el aumento significativo ( $p=0,048$ ) del colesterol-HDL, con los conocidos beneficios que supone para la salud circulatoria. No se observaron diferencias con los niveles de los marcadores de anemia e inflamación.

En cuanto a la asociación de la dieta mediterránea con estadio tumoral no existieron diferencias, si bien el 61% de los pacientes adherentes se encontraban en estadio 0 y sólo el 4,9% en estadio 2.

En cambio, sí se asoció ( $p < 0,031$ ) con grado histológico de la OMS (en el 56,5% de los pacientes que presentaron adherencia los tumores eran de bajo grado, mientras que sólo el 20% eran de alto grado, frente al 80% en los pacientes que no seguían la dieta mediterránea); también se asoció ( $p < 0,034$ ) con menor presencia de adenomas sincrónicos (el 62,8% de los que presentaron adherencia no tenían adenomas). Todo esto, unido al aumento del colesterol-HDL y menores niveles de 8-oxodG, se puede afirmar que la adherencia a la dieta mediterránea resultó protectora en nuestros pacientes.

#### *Tratamiento con dosis bajas de AAS.*

En los pacientes que tomaban AAS a bajas dosis de forma crónica, los niveles de CAT y GSH fueron superiores a los que no lo tomaban, con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Esto podría estar relacionado con el antecedente de cardiopatía isquémica y el aumento de los mismos marcadores en estos pacientes (véase tabla 20), si bien el número reducido de estos pacientes ( $n=6$ ) no permite sacar conclusiones fiables con potencia estadística.

El aumento de estos marcadores de EO es signo de buen pronóstico, resultados en consonancia con los de *Bains et al. (2016)*, quienes observaron, en un estudio de cohortes retrospectivo que incluyó más de 23.000 pacientes, un aumento de la supervivencia de los pacientes tratados con AAS más de 6 meses posteriores al diagnóstico de CCR.

### **7.7 Influencia de factores asociados al tumor en los niveles de estrés oxidativo y en la evolución del CCR.**

Se han estudiado las diferencias en los resultados de todos los marcadores de EO según la presencia o ausencia en los pacientes de factores relacionados con el tumor de mal pronóstico y se han observado diferencias significativas en: CAT y GSH, con niveles más bajos en los que requirieron tratamiento adyuvante post-cirugía ( $p=0,040$  y  $p=0,008$ , respectivamente); GSH también presentó niveles menores en los tumores de colon izquierdo ( $p=0,039$ ), aparición de recidivas ( $p=0,002$ ) y en tumores sincrónicos ( $p=0,013$ ). GSSG/GSH y 8-oxodG se elevaron en los tumores con grado histológico alto de la OMS ( $p=0,071$  y  $p=0,003$ , respectivamente) y los F2-Isoprostanos en los pacientes con diverticulosis ( $p=0,040$ ) y aparición de metástasis post-cirugía ( $p<0,001$ ).

Los marcadores de EO no presentaron diferencias en los pacientes con antecedentes de CCR, diámetro tumoral superior a 6 cm, necesidad de tratamiento pre-cirugía, aparición de complicaciones post-cirugía ni en presencia de adenomas sincrónicos.

### **7.8 Marcadores de estrés oxidativo en adenomas, carcinomas y tumores GIST. Comparación con el grupo control.**

En nuestro estudio los pacientes con adenomas mostraron niveles más elevados de CAT y GSH y más bajos de F2-Isoprostanos que los pacientes con carcinomas, con diferencias significativas ( $p<0,05$ ). Cuando se comparan ambos tipos de tumores con los controles sanos, las diferencias de medias son muy

significativas para todos los marcadores de EO ( $p < 0,001$ ), mostrando los pacientes descensos de CAT y GSH, y aumento del resto de marcadores de EO respecto a los controles.

Los resultados más bajos de la CAT en los carcinomas se hallan en consonancia con los resultados obtenidos por *Maffei et al. (2011)*, que encuentran niveles disminuidos de CAT sérica en pacientes con CCR respecto a pacientes con pólipos adenomatosos y controles sanos en un estudio realizado en 82 participantes en un programa de cribado de CCR que dieron positiva la prueba de sangre oculta en heces. En nuestro estudio las diferencias fueron aún más significativas al comparar los resultados de CAT con los de los controles sanos.

Al igual que en nuestros pacientes, en el estudio de *Obtulowicz et al. (2010)*, los niveles urinarios de 8-oxodG de pacientes con CCR ( $n=89$ ) y adenomas ( $n=77$ ) están elevados respecto a los voluntarios sanos ( $n=99$ ).

En cuanto al tumor GIST, aunque sin ningún peso estadístico, al tratarse de un sólo paciente, sólo se observan diferencias significativas con el resto de tumores en el caso de los F2-Isoprostanos ( $p < 0,001$ ), con un resultado muy por debajo de la media del resto de tumores.

## **7.9 Estudio evolutivo de otros analitos: marcadores tumorales, de inflamación sistémica y de anemia.**

Marcadores tumorales.

Hay disparidad de opiniones sobre el comportamiento de los marcadores en la evolución y pronóstico del CCR. En un estudio

reciente, el CEA preoperatorio se ha evaluado junto con el CA 19.9 y distintos índices de inflamación referidos a los linfocitos (neutrófilos, monocitos y plaquetas), es decir, N/L, M/L y P/L, encontrando correlación de la positividad de todos ellos con la supervivencia del CCR (*Huang et al., 2018*). Para otros autores, en cambio, los niveles altos de CEA preoperatorio no se asocian con la incidencia de recurrencia de la enfermedad pero constituye un predictor independiente de supervivencia global y libre de enfermedad, ofreciendo un valor pronóstico adicional ( $p = 0,09$ ) a la estadificación del TNM (*Gunawardene et al., 2018*).

Para *Filella et al. (1992)*, el uso principal de los niveles preoperatorio de CA 19.9 en el CCR locorregional está en el pronóstico, ya que proporciona más información que la obtenida por los métodos convencionales de estadificación, no siendo útil para el diagnóstico por su baja sensibilidad.

Por otra parte, *Reiter et al. (2000)* encuentran que la información predictiva proporcionada por los niveles séricos preoperatorios de CA 19.9 es independiente de la obtenida por otros factores investigados (CEA, edad, sexo, infiltración tumoral o clasificación de Dukes).

En el estudio longitudinal de nuestros pacientes, se encontraron diferencias significativas de CEA entre el grupo control y la determinación preoperatoria de los pacientes, pero no con los restantes tiempos evolutivos, los cuales difirieron significativamente entre ellos, excepto la determinación a los 12 meses, que se igualó a las anteriores. Los niveles de CA 19.9 cambiaron poco con el

tiempo, pero difirieron significativamente del grupo control en todos los tiempos (véase figura 46). Todas sus determinaciones presentaron diferencias con el grupo control.

Por lo que respecta a la correlación con los marcadores de EO, tanto CEA como CA 19.9 correlacionaron negativamente con CAT y GSH, y positivamente con GSSG, relación GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos; no obstante, la correlación fue moderada-baja, con coeficientes de correlación inferiores a 0,500 en todos los casos.

#### Marcadores de inflamación sistémica.

La respuesta del huésped a los tumores sólidos malignos da lugar a efectos sistémicos proinflamatorios, siendo los más frecuentes la leucocitosis, la neutrofilia y la linfopenia. Estos hallazgos hematológicos correlacionan significativamente con el estadio avanzado del tumor y, por lo tanto, con un mal pronóstico de la enfermedad (*Martins Tavares-Murta y Candido Murta, 2008*).

En una serie amplia de 59.805 pacientes con diagnóstico de CCR sometidos a cirugía (*Moghadamyeghaneh et al., 2015*), la tasa de leucocitosis asintomática preoperatoria fue del 5,6% en las resecciones de CCR y se asoció significativamente a una mayor morbi-mortalidad. También se asoció con deshidratación y desnutrición preoperatoria.

Posteriormente, en un estudio que abarcó más de 300.000 personas durante 13 años, fueron diagnosticados de CCR 4.764 de ellos y se observó una asociación positiva con los leucocitos (cociente de riesgo: 1,21; IC del 95%: 1,03 a 1,42), pero no con la PCR (*Ghuman et al., 2017*).

En nuestro estudio, al comparar la media de los leucocitos con la media preoperatoria de los controles, la diferencia fue significativa ( $p=0,018$ ). En la evolución postoperatoria la cifra descendió, alcanzando la cifra más baja a los 6 meses, pero con pocas diferencias en los distintos tiempos. La leucocitosis no correlacionó con los MT, pero sí negativamente con CAT y positivamente con GSSG, GSSG/GSH, 8-oxodG y F2-Isoprostanos.

Por lo que respecta a los neutrófilos, éstos son productores eficientes de EROs para la destrucción de microorganismos, pero también pueden promover indirectamente el crecimiento del tumor: primero, los neutrófilos generan peróxido de hidrógeno, que luego se convierte en ácido hipocloroso (HOCl) por la mieloperoxidasa (MPO); el HOCl puede entonces activar varias metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) que conduce a una mayor progresión tumoral al inducir la proliferación y la angiogénesis (*De Larco et al., 2004*).

Sin embargo, un efecto más potente y directo de las EROs sobre las células tumorales es la genotoxicidad, que podría conducir a la carcinogénesis. Es inducida por dos vías principales: el daño oxidativo del ADN y la activación catalizada por la MPO de carcinógenos químicos. Son bastantes los estudios sobre la relación de los neutrófilos y cáncer (*Donskov, 2013*); *Cetin et al. (2012)*, en un estudio realizado en 170 pacientes con CCR metastásico, encuentran que los resultados de los neutrófilos sanguíneos, junto con la LDH, fueron los máximos predictores de supervivencia; la

neutrofilia se asoció de forma independiente con una supervivencia deficiente y doble riesgo de mortalidad.

En nuestros pacientes los neutrófilos estaban elevados antes de la intervención en el 43,8% del total, presentando diferencias muy significativas al comparar sus medias con las de los controles sanos ( $p < 0,001$ ); no obstante, se trataría de una neutrofilia relativa, al no estar elevados los leucocitos totales en sangre, excepto en dos pacientes (2,5%). La evolución postoperatoria fue similar a la de los leucocitos. Los neutrófilos correlacionaron con todos los marcadores de EO, excepto con la relación GSSG/GSH.

Por lo que respecta al índice neutrófilo/linfocito (N/L), desde que *Walsh et al. (2005)* lo introdujeran como un método simple y barato para identificar pacientes con CCR con pobre pronóstico preoperatorio cuando es superior a 5, predictor independiente de acortamiento de la supervivencia, son muchas las publicaciones que corroboran este criterio. *Chua et al. (2011)* en un estudio de cohortes de pacientes con CCR irresecable, con metástasis, y que recibían quimioterapia paliativa, encontraron una mejora en la supervivencia libre de enfermedad de dos meses cuando el índice N/L se normalizó tras un ciclo de quimioterapia, en comparación con los pacientes sin normalización del mismo.

Posteriormente, *Urrejola et al. (2013)* también asocian un índice preoperatorio superior a 5 con mayor morbilidad perioperatoria y peores resultados oncológicos en pacientes con cáncer de colon en estadio II con tratamiento de resección electivo.

*Ozdemir et al. (2014)*, aunque en su estudio de 281 pacientes con CCR establecen el punto de corte para el índice en 2,2 (a través de un análisis de curvas ROC), llegan a las mismas conclusiones de que se trata de un predictor significativo de supervivencia más corta.

En nuestro estudio la media preoperatoria de este índice N/L en los controles sanos fue 0,6 unidades inferior a la de los pacientes ( $2,1 \pm 1,4$  frente a  $2,7 \pm 1,6$ , respectivamente), mostrando diferencias significativas ( $p < 0,01$ ); los niveles medios variaron poco con el tiempo y sólo en dos pacientes fue superior a 5, ambos fallecidos a 1 y 12 meses de ser incluidos en el estudio (con valores de 14,3 y 5,84, respectivamente). Correlacionó con CEA, CA 19.9, GSSG, GSSG/GSH y con los dos marcadores de EO en orina.

Por otro lado, la creciente evidencia científica propone un papel importante para las citoquinas proinflamatorias durante el desarrollo tumoral. La IL-6 ha demostrado ser una citoquina promotora de tumor importante, que refuerza la proliferación y los efectos anti-apoptóticos en las células tumorales. Varios estudios experimentales y clínicos la han relacionado con la patogénesis de CCR esporádico y asociado a la inflamación, a través de la trans-señalización, promoviendo la proliferación e inhibiendo la apoptosis de células tumorales a través de la activación de gp130 en las células tumorales, con la señalización posterior a través de Janus quinasas (JAK) y del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3). La activación de este último es un paso importante para la expresión de varios genes asociados con la carcinogénesis y la progresión del cáncer. Varios estudios también han demostrado que

la IL-6 exhibe características asociadas tanto con citoquinas inflamatorias como con factores proangiogénicos, contribuyendo a la angiogénesis como un potente inductor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), uno de los factores angiogénicos más importantes (*Nagasaki et al., 2014*).

El aumento de la expresión de IL-6 se ha relacionado con el estadio avanzado de la enfermedad y disminución de la supervivencia en pacientes con CCR, por lo que podría ser un marcador útil para predecir un mal pronóstico en estos pacientes y podría utilizarse como una diana terapéutica potencial (*Zeng et al., 2017*).

La IL-6 ha sido el parámetro que mejor ha reflejado el estado inflamatorio de nuestros pacientes, pues aumentó en más de la mitad de los mismos (en concreto en el 52,5%) y correlacionó con todos los marcadores de EO, aunque de forma moderada; al comparar la media basal de los pacientes con la de los controles sanos, la diferencia fue significativa ( $p < 0,001$ ). Ello está en consonancia con los resultados de diversos estudios, como el de *Nikiteas et al. (2005)*, en el que los resultados séricos de IL-6 y PCR son predictores de pronóstico en pacientes con CCR. Para *Waldner et al. (2012)*, la señalización de IL-6 contribuye al desarrollo del CCR, tanto del esporádico como del asociado a colitis.

En nuestro estudio la IL-6 también presentó asociación con CEA (y con el CA 19.9 tendencia,  $p = 0,052$ ).

En cuanto al fibrinógeno, en un estudio de *Sun et al. (2014)* sobre 255 casos de cáncer de colon, se encontró que la

supervivencia libre de enfermedad a los 5 años y la supervivencia global en los estadios II y III fue mayor en los pacientes con hipofibrinogenemia que en los que tenían hiperfibrinogenemia antes de la intervención, por lo que puede considerarse al fibrinógeno como un marcador de respuesta.

Pero en otro estudio con una cohorte más grande, de 652 pacientes con CCR resecable, aunque los niveles plasmáticos preoperatorios de fibrinógeno se correlacionan con los principales factores pronósticos y la supervivencia a largo plazo y la supervivencia relacionada con el tumor sean peores en los pacientes con hiperfibrinogenemia, estos resultados no se confirman en el análisis multivariante o después de la estratificación de los pacientes de acuerdo con el estadio de TNM (*Pedrazzani et al, 2016*).

Posteriormente, *Lee et al. (2017)*, en un estudio sobre 170 enfermos de CCR encuentran que niveles elevados de fibrinógeno preoperatorios se asocian con tamaño tumoral, profundidad de invasión y acortamiento de la supervivencia.

Al igual que en la mayoría de estudios publicados, el fibrinógeno estaba aumentado antes de la intervención en casi una tercera parte de nuestros pacientes (en el 32,5%), encontrando diferencias muy significativas con respecto a los controles sanos. Correlacionó con todos los MT y de EO ( $p < 0,001$  en todos los casos).

En lo concerniente a la PCR, existen en la bibliografía bastantes artículos que le asignan valor pronóstico en el CCR (*Niketeeas, et al., 2005*); también *Mousavi et al. (2008)* encuentran que una elevación sérica preoperatoria de la PCR es un indicador del potencial maligno

del tumor, así como un predictor para el pronóstico de pacientes con CCR. Posteriormente, en un gran estudio de más de 61.000 personas en población china, *Wu et al. (2013)* concluyen que los niveles de PCR se asocian positivamente con riesgo de CCR. En otro estudio representativo de adultos estadounidenses (de casi 16.000 pacientes), se observaron fuertes asociaciones dosis-respuesta entre los niveles de PCR y la mortalidad por CCR (*Goyal et al., 2014*).

En cambio, para *Pathak et al. (2014)*, la PCR puede ser útil para el pronóstico en pacientes con CCR primario, tanto local como avanzado, pero sostiene que actualmente no hay pruebas suficientes para justificar su uso sistemático. En línea con esto, en nuestro estudio la PCR aumentó en un 23,8% de los pacientes antes de la cirugía, con diferencias significativas respecto a los controles ( $p < 0,05$ ), pero no correlacionó con MT ni con EO.

Por otro lado, las células neoplásicas de distintos tejidos son capaces de activar las plaquetas; muchos investigadores han aportado pruebas de que las plaquetas desempeñan un papel significativo en el crecimiento tumoral y las metástasis neoplásicas del CCR, a través de la medición de alguno de sus componentes internos, como la beta-tromboglobulina (*Dymicka-Piekarska et al., 2003*). Estos autores encuentran una elevada activación plaquetar en todos los pacientes respecto a los controles, pero independiente del avance clínico (sin diferencias significativas en pacientes con y sin metástasis).

En cambio, *Lin et al., (2012)* en un estudio con 150 casos de CCR, encuentran que el recuento preoperatorio de plaquetas podría ser un indicador pronóstico, ya que encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre el recuento de plaquetas y las metástasis ganglionares y a distancia, la invasión vascular y perineural, así como con los estadios clínicos TNM; además, la supervivencia a 5 años de los pacientes con recuento alto de plaquetas y recuento normal de plaquetas fue de 13,3% y 56,3%, respectivamente.

En un meta-análisis que incluyó 30 estudios y 9.123 pacientes con CCR (*Long et al., 2016*) llegan a la conclusión de que el recuento elevado de plaquetas antes del tratamiento fue un factor pronóstico independiente de supervivencia general y libre de enfermedad en pacientes con CCR, justificando estudios prospectivos a gran escala. En otro meta-análisis que recoge 16 estudios con un total de 5.619 pacientes (*Gu y Szallasi, 2017*) se concluye que la trombocitosis augura un pronóstico adverso en el CCR y puede servir como un marcador clínicamente útil para facilitar la estratificación del riesgo y guiar el tratamiento postoperatorio.

Posteriormente (*Rao et al., 2018*), en otro meta-análisis en el que se incluyeron 9 estudios de cohorte retrospectivos con 3.413 pacientes con CCR encuentran que la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad fueron más cortas en pacientes con recuentos plaquetares elevados que en pacientes con recuentos normales, por lo que un recuento elevado de plaquetas es un predictor negativo de supervivencia, tanto en el CCR primario como

en las metástasis hepáticas colorrectales resecables. En otro estudio reciente (*Zhu et al., 2018*) que incluyó 783 pacientes con CCR y 463 adenomas se encontró que el recuento total de plaquetas, el volumen plaquetar y el plaquetocrito estaban significativamente elevados en los pacientes respecto a los adenomas y controles sanos ( $p < 0,001$ ).

Aunque la media de las plaquetas en nuestros pacientes no superó los rangos de normalidad, la diferencia con el grupo control fue significativa ( $p < 0,001$ ). Excepto con el CEA, correlacionaron con CA 19.9 y con todos los marcadores de EO.

Marcadores de anemia.

Se puede decir que, al igual que ocurre con la reacción inflamatoria sistémica, la anemia constituye un síndrome paraneoplásico hematológico debido a sustancias generadas por el tumor que simulan o bloquean señales endocrinas normales para el desarrollo de la línea hematológica (*GETHI, 2016*). Viene definida por la disminución de la hemoglobina en sangre, independientemente del número de eritrocitos circulantes, pero otros parámetros también se ven alterados.

En consonancia con nuestro estudio, *Edna et al., (2012)*, en un amplio estudio de 1.189 pacientes con CCR encuentran que la anemia, con una incidencia muy elevada (del 74,7%), es más frecuente en el lado derecho del colon (tumores proximales), y se asocia con el estadio T, pero no con el N ni M. *Khanbhai et al. (2014)* encuentran un 44% de anemia preoperatoria en 147 enfermos de CCR, requiriendo transfusiones que aumentan la estancia

hospitalaria y la mortalidad. También *Väyrynen et al. (2018)* en un estudio de cohortes de 356 pacientes con CCR encuentran un 43% de anemia (mayoritariamente normocítica), que correlaciona con marcadores inflamatorios sistémicos y con menor supervivencia; la localización del tumor proximal se asocia predominantemente con anemia macrocítica.

En un estudio retrospectivo de cohortes reciente de *Emre et al. (2018)*, constituido por 76 pacientes vivos y 25 fallecidos, hallan que el nivel bajo de hemoglobina, junto a otros factores (como edad elevada e infiltración de ganglios) son factores de riesgo de mortalidad independientes. En otra revisión reciente de 14 artículos sobre anemia en CCR se concluye que la anemia preoperatoria se asocia a una respuesta peor al tratamiento quimioterápico neoadyuvante, con riesgo de recidiva local, afectando a pacientes con enfermedad avanzada y afectación ganglionar, con mayor riesgo de mortalidad, aunque no de recurrencia y menor supervivencia libre de enfermedad (*Tomasovic et al., 2018*).

Con respecto al VCM, en un estudio reciente (*Zhang et al., 2018*) de 55 pacientes con cáncer rectal localmente avanzado concluyen que es un factor predictivo potencial para la respuesta tumoral a la quimiorradiación preoperatoria junto con el CEA, de forma que el grupo de “no respuesta” presentaron valores bajos de VCM. En cambio, *Nagai et al. (2018)*, en un estudio que incluyó 1.174 pacientes con CCR en estadios I, II y III, encuentran que el VCM inferior a 80 fL se asocia a mayor supervivencia libre de enfermedad que cuando es igual o superior a 80 fL.

En nuestro caso, presentaron anemia 32 pacientes (40%), microcítica en la mayoría de casos (75%), normocítica en el restante 25%. El hematocrito descendió en más de la mitad del total de los pacientes (56%). La anemia fue ferropénica en su mayoría, descendiendo el hierro por debajo del valor de referencia en el 52,5% de los pacientes, siendo las diferencias muy significativas al compararlo con el grupo control ( $p < 0,001$ ). Al comparar los resultados por estadio tumoral, no encontramos diferencias significativas ( $p = 0,419$ ).

*Wilson et al. (2017)*, en un estudio que incluyó 429 pacientes con CCR que habían sido intervenidos, encontraron un 48% de déficits de hierro (cifras similares a las de nuestro estudio), pero en cambio encontraron asociación con estadio avanzado del tumor ( $p = 0,01$ ).

Con respecto a la ferritina, en nuestro estudio la diferencia de medias entre el grupo control y los pacientes fue significativa, con valores mucho más bajos en estos últimos, en concordancia con la bibliografía; así, *Feng et al. (2015)*, en un meta-análisis que incluyó 927 pacientes con CCR, encontraron que tenían un nivel sérico de ferritina más bajo que los controles sanos ( $p = 0,007$ ).

Por otro lado, el IST en nuestro estudio presentó diferencias muy significativas entre pacientes y controles ( $p < 0,001$ ), encontrándose preoperatoriamente por debajo del valor de referencia ( $IST < 15\%$ ) en 42 pacientes (52,5%), cifras muy similares a las del amplio estudio (de 1.513 pacientes) de *Ludwing et al. (2013)*, que fueron de 51,9%, a pesar del diferente punto de corte

empleado (IST<20%). La incidencia de anemia en estos pacientes fue del 33%, inferior a la nuestra (40%). Para *Beale et al. (2005)*, la mayoría de pacientes con CCR tienen deficiencia de hierro en el momento del diagnóstico; en estos pacientes, el IST es un marcador más sensible de la deficiencia de hierro que la ferritina sérica, por lo que su papel potencial como complemento del cribado de SOH debería explotarse más.

En nuestro estudio, el IST correlacionó con la hemoglobina de forma muy significativa, igual que el resto de parámetros del metabolismo férrico ( $p<0,001$ ), pero no con EO.

En cuanto a la correlación de los marcadores de anemia en nuestros pacientes con los de EO, no se ha observado correlación con ninguno de ellos.

### **7.10 Asociación con estadio tumoral de los distintos marcadores.**

VARIABLES CLÍNICAS, COMORBILIDADES Y OTROS FACTORES DE RIESGO.

Sólo se encontró asociación en los casos de cardiopatía isquémica ( $p=0,039$ ), con más de la mitad de los pacientes en estadio 0, lo cual podría relacionarse con el tratamiento que llevaban estos pacientes con AAS de forma crónica para prevenir futuros episodios de la enfermedad, como ya se ha comentado anteriormente.

VARIABLES REFERIDAS AL TUMOR.

Presentaron asociación con estadio tumoral los tratamientos pre y post-cirugía, el grado histológico de la OMS, la aparición de adenomas sincrónicos y la presencia de metástasis post-tratamiento.

Más de la mitad de los pacientes que requirieron tratamiento pre y post-cirugía se encontraban en estadio 1 (en progresión); el 60% de los pacientes en estadio 0 (localizado) eran de bajo grado histológico, mientras que el 50% de los que se encontraban en estadio 2 (avanzado) eran de alto grado.

Una elevada proporción de pacientes de los que tuvieron adenomas coexistentes con la tumoración colorrectal se hallaban en estadio 0 (71,4%); esto podría ser debido a un diagnóstico más precoz del CCR por un seguimiento más próximo de los adenomas, por la potencial transformación maligna de los mismos.

El 40% de los pacientes en estadio 2 tuvieron metástasis, con diferencias significativas ( $p < 0,001$ ).

Marcadores bioquímicos de anemia e inflamación.

Al comparar las medias entre los tres estadios de los marcadores bioquímicos que habían presentado diferencias significativas, de los marcadores de inflamación y de anemia, sólo se hallaron diferencias significativas con la ferritina, con resultados mucho más elevados en el estadio 2 ( $p = 0,014$ ), lo cual podría ser debido a sus características de reactante de fase aguda y en relación con sus aumentos en los procesos inflamatorios crónicos (*Pérez Surribas, 2005*) (véase tabla 19); del mismo modo, otros autores encuentran que la ferritina sérica actúa como un factor pronóstico independiente para la supervivencia en pacientes con CCR metastásico recidivante o refractario al tratamiento (*Lee et al., 2016*) y también en el no metastático (*Tingting et al., 2017*).

### Marcadores de estrés oxidativo.

Se encontraron diferencias significativas por estadios en todos los marcadores de EO ( $p < 0,05$ ); sólo se encontró diferencias entre el estadio 0 y 1 en el caso de la CAT, mientras que el estadio 2 presentó diferencias con los otros dos estadios en todos los casos.

CAT y GSH mostraron niveles mucho más bajos en estadio 2, y el resto de marcadores niveles más elevados en este estadio respecto a los estadios 0 y 1.

### Marcadores tumorales.

Por lo que respecta a los marcadores tumorales, en nuestro estudio el CEA no mostró diferencias significativas por estadios, pero sí el CA 19.9, con niveles mucho más elevados en estadio 2 ( $p = 0,003$ ).

Estos resultados son similares a los reportados por otros autores, que encuentran diferencias significativas en los niveles de CA 19.9 en estadios avanzados (*Filella et al., 1992*); estos autores también concluyen que el significado pronóstico del CA 19.9 es independiente de la clasificación de Dukes, mientras que el CEA es dependiente de dicha clasificación.

*Basbug et al. (2011)* solo encuentran diferencias significativas en los valores de CEA y CA 19.9 entre el estadio I del TNM (ambos negativos) y los demás estadios (uno o ambos marcadores positivos). También se ha estudiado el ratio CEA pre/post-operatorio y algunos autores encuentran que está asociado con estadio TNM y grado de diferenciación tumoral (*Sun et al., 2017*).

### 7.11 Otras asociaciones.

Lado derecho/izquierdo de colon.

Existen diferencias en el origen embriológico, así como diferencias anatómicas, histológicas, genéticas e inmunológicas entre el cáncer de colon derecho y el cáncer de colon izquierdo, que conlleva diferencias en la incidencia y en el pronóstico de ambas localizaciones. Por lo que respecta a su frecuencia, y al igual que en otras publicaciones (*Mamazza y Gordon, 1982; Cucino et al., 2002*), en la presente tesis fue mayor el número de pacientes con CCR de lado derecho (36,3%) que de lado izquierdo (28,7%), siendo el resto de localización rectal. Los tumores del lado izquierdo son mucho más frecuentes que en el lado derecho, en una proporción 70/30 (*Morales y Peinado, 2006*), probablemente por su diagnóstico más precoz al manifestar más signos y síntomas que en el lado derecho, si bien parece que en los últimos años se está invirtiendo la proporción. En nuestro estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos lados en lo que se refiere a tamaño tumoral ni por estadios.

En cuanto al pronóstico y supervivencia, aunque para *Baek (2017)* la literatura existente muestra datos contradictorios con respecto a los mismos, la mayoría de autores afirman un peor pronóstico para los tumores del lado derecho (*Yahagi et al., 2016*). En el estudio de *Guo et al. (2018)* que incluyó 807 pacientes, los tumores del colon izquierdo tuvieron una supervivencia mayor que los del colon derecho (24,6 frente a 20,0 meses, respectivamente;  $p=0,003$ ). En otro estudio que abarcó 1.224 pacientes intervenidos

de CCR, en los del lado derecho (que supuso el 39,0%) el pronóstico fue peor, con estadios más avanzados, mayor diámetro tumoral y mayor edad de los pacientes (*Mik et al., 2017*). También *Lim et al. (2017)*, en un estudio retrospectivo que incluyó 414 pacientes con CCR, hallaron que los tumores del lado derecho tenían mayor tamaño, más ganglios linfáticos infiltrados, tumores mal diferenciados con mayor frecuencia y más invasión linfocelular que los del lado izquierdo.

En nuestro estudio los resultados de los dos marcadores que difieren significativamente entre ambos lados (GSH y 8-oxodG) son de peor pronóstico en el lado izquierdo que en el derecho; es decir, GSH más baja ( $p=0,039$ ) y 8-oxodG más elevada ( $p=0,044$ ) en el lado izquierdo. También se ha estudiado la asociación entre tamaño tumoral superior a 6 cm y estadio tumoral con la localización derecha o izquierda en colon, no encontrándose asociación con ninguna de estas variables.

#### Anemia/localización tumoral.

También se estudiaron las diferencias en la incidencia de anemia según localización del tumor, observando que ésta fue más elevada en colon derecho, con diferencias significativas ( $p<0,05$ ) respecto a colon izquierdo y recto. Entre estas dos últimas localizaciones no se observaron diferencias ( $p=0,843$ ). Nuestros resultados coinciden con estudios ya publicados sobre la mayor incidencia de anemia en colon derecho o proximal (*Machicado et al., 2015; Lim et al., 2017*).

Marcadores de anemia /marcadores de inflamación.

Al estudiar la correlación entre ambos tipos de marcadores se observó que existía una correlación negativa de la hemoglobina, de débil a moderada, con todos los marcadores de inflamación, excepto con leucocitos y PCR.

### **COMENTARIO FINAL.**

Las diferencias encontradas en las determinaciones de los distintos marcadores de EO entre los distintos autores de la bibliografía consultada se debe a diferencias muestrales, y metodológicas, siendo difícil disminuir la variabilidad intraindividual e intra/interlaboratorios, lo mismo que ocurre con las determinaciones de la práctica diaria habitual en los laboratorios clínicos. A la vista de los resultados obtenidos, estos marcadores no serían de aplicación para un diagnóstico rápido, sino más bien para el seguimiento posterior a la cirugía de estos pacientes, especialmente la 8-oxodG y F2-Isoprostanos, muy indicadas por tratarse de técnicas incruentas y con gran estabilidad de las muestras. Éstos, junto con el índice GSSG/GSH, presentaron muy buenas pruebas diagnósticas y fueron predictoras de mal pronóstico en la evolución del CCR junto al CEA, por lo que pueden constituir una herramienta útil de apoyo en el seguimiento de estos pacientes.

Pero el trabajo no acaba aquí; ya está en mente el seguimiento de estos pacientes a más largo plazo.



## **8. CONCLUSIONES**

---



## 8. CONCLUSIONES.

Tras el análisis de todos los resultados obtenidos podemos extraer las siguientes conclusiones:

8.1 La comparación de medias entre ambos grupos de pacientes y controles presentó diferencias muy significativas en todos los marcadores de EO estudiados. Las medias fueron inferiores en CAT y GSH en los pacientes respecto a los controles sanos, y superiores en el resto de marcadores.

8.2 La evolución de los marcadores de EO tras el tratamiento fue, en general, progresiva; a los 12 meses alcanzaron casi los niveles de los controles la CAT y el sistema glutatión; en cambio, la 8-oxodG y los F2 Isoprostanos permanecieron elevados.

8.3 Los MT presentaron una especificidad y un VPP máximos, pero su sensibilidad fue muy baja. El VPN y la exactitud de ambos se situaron por debajo del 60%. De los marcadores de EO, GSH y F2-Isoprostanos presentaron también una especificidad y VPP máximas con una sensibilidad inferior al 80%. Las sensibilidades de CAT y 8-oxodG fueron superiores al 80%, con especificidades por encima del 90%. El índice GSSG/GSH presentó todas las pruebas diagnósticas superiores al 90%. La exactitud de todos los marcadores de EO osciló entre el 85,0% y el 98,6%.

8.4 El marcador de EO que presentó asociación con las tres variables predictoras de mal pronóstico en la evolución del CCR estudiadas (estadio avanzado, tamaño tumoral y aparición de

metástasis post-cirugía) fue la 8-oxodG; F2-Isoprostanos y CEA con las dos últimas.

8.5 De todas las comorbilidades y factores de riesgo que presentaron los pacientes, sólo se encontraron aumentos en la media de CAT y GSH en los pacientes con cardiopatía isquémica y de GSH en pacientes con HTA.

8.6 En los pacientes que presentaron adherencia a la dieta mediterránea se observaron niveles disminuidos de 8-oxodG, aumento del HDL-colesterol, asociación con el estadio 0 (localizado), bajo grado histológico de la OMS y menor presencia de adenomas sincrónicos frente a los que no presentaban adherencia. Con todo ello podemos apoyar su carácter protector/preventivo de la enfermedad.

8.7 De los factores relacionados con el tumor se observaron diferencias significativas en algunos marcadores de EO en los pacientes que recibieron tratamiento adyuvante post-cirugía, en los tumores de colon izquierdo respecto al derecho, en los que presentaron recidivas y tumores sincrónicos, en los de grado histológico alto de la OMS, presencia de diverticulosis y metástasis post-cirugía.

8.8 Los pacientes con adenomas mostraron niveles significativamente más elevados de CAT y GSH y más bajos de F2-Isoprostanos que los pacientes con carcinomas.

8.9 En la evolución temporal de los MT, solo el nivel basal de CEA presentó diferencias significativas respecto a los controles sanos.

Ambos correlacionaron negativamente con CAT y GSH, y positivamente con el resto; no obstante, la correlación fue moderada-baja.

Todos los marcadores de inflamación en los pacientes presentaron diferencias significativas con los controles y las correlaciones con los marcadores de EO fueron en general moderadas. La PCR no correlacionó con MT ni con ningún marcador de EO, siendo la IL-6, el fibrinógeno, el índice N/L y las plaquetas los que correlacionaron positivamente con todos los marcadores de EO. El índice N/L fue el único que correlacionó con ambos MT.

No se ha encontrado correlación entre marcadores de anemia y de EO.

8.10 Con estadio tumoral presentaron asociación el CA 19.9, la ferritina y todos los marcadores de EO.

8.11 Entre otras asociaciones, en nuestros pacientes fue más frecuente la anemia en los tumores del lado derecho pero no se halló asociación entre localización derecha o izquierda de colon con tamaño ni estadio tumoral.



## **9. ANEXOS**

---



## 9. ANEXOS.

### ANEXO I: HOJA DE INFORMACIÓN A LOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO.

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** “Relación del estrés oxidativo y lesión del material genético con la patogénia del tumor colorrectal”.

**CENTRO:** Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular-INCLIVA. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dra. Delia Acevedo León. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

**INVESTIGADORES COLABORADORES:**

- Dra. Sara Ferrer Suay. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

- Dr. Segundo Ángel Gómez Abril, Dr. Antonio Vázquez Tarragón, Dr. Gonzalo Garrigós Ortega, Dra. Carmen Payá Llorente y Dra. Teresa Torres Sánchez. Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

- Dra. Natalia Camarasa Lillo y Dra. Marisa Pérez Ebri. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia.

- Dr. Carles Bosch Roig. Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario Dr. Peset.

- Dr. Javier Chaves Martínez y Dra. Raquel Cortés Vergaz. Laboratorio de Genética Molecular. Unidad Central de Investigación-INCLIVA, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia.

- Dr. Guillermo Sáez Tormo y Dr. Antonio Iradi Casal. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular-INCLIVA. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia.

## **INTRODUCCION.**

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar, que ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Dr. Peset.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.**

En patología tumoral, el marcador ideal sería aquel que demuestra su utilidad en el diagnóstico en estadios iniciales de la enfermedad, que fuera capaz de estratificar la progresión y predecir su pronóstico y respuesta al tratamiento.

Sin embargo, la mayoría de los marcadores disponibles en la actualidad adolecen de la falta de especificidad y sensibilidad suficiente para el diagnóstico temprano y seguimiento de la enfermedad. Una de las características de las enfermedades tumorales es la influencia del componente inflamatorio sistémico que contribuye en gran manera a las complicaciones y a su expansión. En estrecha relación con este hecho está el fenómeno de oxidación espontánea de moléculas de gran importancia homeostática a través de la formación de especies reactivas de oxígeno, fenómeno conocido como “estrés oxidativo”.

La modificación oxidativa de las moléculas de ADN convierte a estas estructuras en inestables y propensas al acúmulo de mutaciones genéticas y podrían servir como biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.

## **OBJETIVO.**

En el presente estudio nos planteamos:

- Medir el nivel de estrés oxidativo en suero y orina en cada fase del proceso tumoral, antes y después de la intervención y estudiar su influencia en el proceso evolutivo del cáncer colorrectal.

- Analizar la influencia en los niveles de estrés oxidativo de patologías asociadas en los pacientes, así como de los hábitos de los mismos, incluyendo los dietéticos.

- Valorar el papel diagnóstico y predictivo de los productos de estrés oxidativo en pacientes con tumor colorrectal en estado basal y post quirúrgico.

## **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.**

La donación y utilización de muestras biológicas humanas será gratuita, sin que en ningún caso las compensaciones que se prevén en la Ley de Investigación Biomédica puedan comportar un carácter lucrativo o comercial.

Es posible que no obtenga ningún beneficio directo de su participación en el presente, pero puede que otros pacientes se beneficien en el futuro de investigaciones de este tipo al divulgarse en revistas científicas y aumentar el conocimiento en este campo.

El estudio no supone ningún riesgo para los participantes.

El médico responsable del estudio le dará más información si lo desea.

## **COMPENSACIÓN DEL PACIENTE.**

De ninguna forma el hecho de firmar el consentimiento informado significa que Ud. pierde o renuncia a los derechos legales que pudieran corresponderle ni exime al investigador/colaboradores ni a las instituciones implicadas en el mismo de las obligaciones y responsabilidades profesionales correspondientes.

## **FINANCIACIÓN.**

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto.

## **POLÍTICA DE CONFIDENCIALIDAD.**

Se solicita su consentimiento para la utilización de la información clínica y muestras recogidas para el desarrollo de este proyecto de investigación. Tanto los datos personales (edad, sexo, etc.), como los datos de salud o la muestra para investigación, se recogerán empleando un procedimiento de codificación, y se le

asignará un número gracias al cual sus datos personales quedarían protegidos. Sólo su médico podrá relacionar estos datos con Vd. y con su historia clínica. Y será responsable de custodiar el documento de consentimiento. Sólo a él le corresponde garantizar el cumplimiento de su voluntad en relación al uso de la muestra biológica que Vd. cede para investigación. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

En el caso de que se produzca la publicación en revista científica, será garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores y al Comité Ético de Investigación Clínica cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Muchas gracias por su colaboración.

## ANEXO II: HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** “Relación del estrés oxidativo y lesión del material genético con la patogenia del tumor colorrectal”.

Nombre y apellidos del investigador principal: Dra. Delia Acevedo León.

Servicio: Análisis Clínicos. Hospital Universitario Peset.

fños: 961622537/961622529.

**Yo:**.....

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado sobre:
  1. Los objetivos del estudio.
  2. Las medidas para asegurar el respeto a la vida privada y a la confidencialidad de los datos personales.
- He recibido suficiente información y he podido hacer preguntas sobre el estudio.
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
  1. Cuando quiera.
  2. Sin tener que dar explicaciones.
  3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.
- Dono mis muestras de sangre y orina y doy el consentimiento para que sean utilizadas en investigación.
- Doy consentimiento al Hospital Universitario Dr. Peset para utilizar las muestras para el proceso de investigación, en el propio Hospital y/o en otros Centros designados por éste, siempre de acuerdo con las normas éticas vigentes.
- Entiendo que mi muestra va a ser utilizada para el estudio y no se va a conservar ni utilizar para investigaciones futuras.

- Doy consentimiento al Hospital Universitario Dr. Peset para que los resultados de las investigaciones realizadas puedan darse a conocer en la comunidad científica.
- Soy consciente de que al concluir la investigación objeto del estudio, las muestras biológicas restantes serán destruidas a menos que autorice su conservación para la realización de futuros estudios genéticos. En caso de conservación, estas muestras no podrán ser identificadas ni custodiarse por un periodo superior a 5 años.
- Autorizo la conservación de las muestras tras el estudio (señale la casilla):
- Firmo mi conformidad de participación voluntaria en el estudio:

Fecha:

Firma del participante

Firma del Investigador Principal

---

## **ANEXO III: CUESTIONARIO DE ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA.**

### **Test PREDIMED de Adherencia a la Dieta Mediterránea del Instituto de Salud Carlos III**

El test Predimed es un breve instrumento de valoración dietética formado por un conjunto de 14 preguntas cortas cuya evaluación pretende ofrecerle información sobre la adherencia al patrón de Dieta Mediterránea.

La Dieta Mediterránea tradicional es un modelo alimentario compuesto principalmente por el consumo abundante de alimentos de origen vegetal (frutas, verduras, hortalizas, legumbres y frutos secos), así como de cereales y productos del mar, la utilización del aceite de oliva como principal grasa de adición y la poca presencia de carnes rojas y alimentos procesados.

Además, sostiene el consumo de productos frescos, locales y de temporada, los métodos culinarios (y de cultivo) tradicionales, y la realización de comidas en compañía, así como otros estilos de vida saludables como la práctica diaria de actividad física moderada.

Se basa en el estudio aleatorizado PREDIMED (Prevención con Dieta Mediterránea), ensayo multicéntrico realizado en España para el estudio de los efectos de la dieta mediterránea sobre la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular.

Apellidos, Nombre:

HC:

Nº	PREGUNTA	VALORACION	Puntos
1	¿Usa usted el aceite de oliva principalmente para cocinar?	<input type="checkbox"/> No=0 <input type="checkbox"/> Sí=1	
2	¿Cuántas cucharadas de aceite de oliva usa al día (incluyendo el usado para freír, el de las comidas fuera de casa, las ensaladas, etc.)?	<input type="checkbox"/> Menos de dos=0 <input type="checkbox"/> Dos o más=1	
3	¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día, al menos una de ellas en ensaladas o crudas (las guarniciones contabilizan como ½ ración)?	<input type="checkbox"/> Menos de tres=0 <input type="checkbox"/> Tres o más=1	
4	¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) toma al día?	<input type="checkbox"/> Menos de tres=0 <input type="checkbox"/> Tres o más=1	
5	¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día (una ración equivale a 100-150 gr.)?	<input type="checkbox"/> Una o más=0 <input type="checkbox"/> Menos de una=1	
6	¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día (porción individual equivale a 12 gr)?	<input type="checkbox"/> Una o más =0 <input type="checkbox"/> Menos de una=1	
7	¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?	<input type="checkbox"/> Una o más =0 <input type="checkbox"/> Menos de una=1	
8	¿Bebe vino? ¿Cuántos vasos consume a la semana?	<input type="checkbox"/> Menos de tres=0 <input type="checkbox"/> Tres o más=1	
9	¿Cuántas raciones de legumbres consume por semana (una ración o plato equivale a 150 gr)?	<input type="checkbox"/> Menos de tres=0 <input type="checkbox"/> Tres o más=1	
10	¿Cuántas raciones de pescado o mariscos consume a la semana (un plato, pieza o ración equivale a 100-150 gr de pescado ó 4-5 piezas de marisco)?	<input type="checkbox"/> Menos de tres=0 <input type="checkbox"/> Tres o más=1	
11	¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?	<input type="checkbox"/> Tres o más=0 <input type="checkbox"/> Menos de tres =1	
12	¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana (una ración equivale a 30 gr)?	<input type="checkbox"/> Menos de una=0 <input type="checkbox"/> Una o más=1	
13	¿Consume preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (carne de pollo: una pieza o ración equivale a 100- 150 gr)?	<input type="checkbox"/> No=0 <input type="checkbox"/> Sí=1	
14	¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con una salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?	<input type="checkbox"/> Menos de dos=0 <input type="checkbox"/> Dos o más=1	
PUNTUACION TOTAL			

PUNTUACIÓN TOTAL: &lt; 9: baja adherencia, ≥9: buena adherencia

## **10. BIBLIOGRAFÍA**

---



## 10. BIBLIOGRAFÍA.

- Abad Esteve, A. Prevención. En: Lo que hay que saber sobre el cáncer de colon y recto. Barcelona: Marge Médica Boks; 2009; pp:21-32. [[Enlace](#)]
- Adachi Y, Yasuda K, Kakisako K, Sato K, Shiraishi N, Kitano S. Histopathologic criteria for local excision of colorectal cancer: multivariate analysis. *Ann Surg Oncol*. 1999 Jun; 6:385-8. [[Enlace](#)]
- Adán L, Alvarez-Castro A, Castells A. Aproximación al cáncer colorrectal familiar. *Gastroenterol Hepatol*. 2010 Nov;33(9):652-9. [[Enlace](#)]
- Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC). Tumours of the Colon and Rectum. 2018. [[Enlace](#)]
- AJCC 2018 [[Enlace](#)]
- Al-Abrash AS, Al-Quobaili FA, Al-Akhras GN. Catalase evaluation in different human diseases associated with oxidative stress. *Saudi Med J*. 2000 Sep;21(9):826-30. [[Enlace](#)]
- Al-Sukhni E, Attwood K, Gabriel EM, LeVea CM, Kanehira K, Nurkin SJ. Lymphovascular and perineural invasion are associated with poor prognostic features and outcomes in colorectal cancer: A retrospective cohort study. *Int J Surg*. 2017 Jan;37:42-9. [[Enlace](#)]
- Aleksandrova K, Nimptsch K, Pischon T. Obesity and colorectal cancer. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2013 Jan 1;5:61-77. [[Enlace](#)]
- Alexandrov K, Rojas M, Kadlubar FF, Lang NP, Bartsch H. Evidence of anti-benzo[a]pyrene diolepoxide-DNA adduct formation in

- human colon mucosa. Carcinogenesis. 1996; 17: 2081-3. [\[Enlace\]](#)
- Aller de la Fuente, R. Enfermedad diverticular del colon. Rev. Esp. Enferm. Dig. 2005;97(6):458. [\[Enlace\]](#)
- Aluja F, Upegui D. Estadificación del cáncer colorrectal mediante resonancia magnética. Rev Col Gastroenterol 2016;31(3):273-82. [\[Enlace\]](#)
- American Cancer Society (ACS) 2018. Etapas del cáncer colorrectal. [\[Enlace\]](#)
- American Cancer Society (ACS) 2018. Factores de riesgo del cáncer colorrectal. [\[Enlace\]](#)
- American Cancer Society (ACS) 2018. Survival Rates for Colorectal Cancer by Stage. [\[Enlace\]](#)
- American Joint Committee on Cancer (AJCC). Colon and rectum. En: Cancer Staging Manual. Seventh Edition. Editor: Springer. Luxemburgo, 2010; pp.143-64. [\[Enlace\]](#)
- American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE). Standards of Practice Committee. Early DS, Ben-Menachem T, Decker GA, Evans JA, Fanelli RD, Fisher DA, et al. Appropriate use of GI endoscopy. Gastrointest Endosc. 2012 Jun;75(6):1127-31. [\[Enlace\]](#)
- Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. Science 1983;221:1256-64. [\[Enlace\]](#)
- Anderson JC, Lacy BE. Editorial: Constipation and colorectal cancer risk: a continuing conundrum. Am J Gastroenterol. 2014 Oct;109 (10): 1650-2. [\[Enlace\]](#)

- Angeli JP, Garcia CC, Sena F, Freitas FP, Miyamoto S, Medeiros MH, et al. Lipid hydroperoxide-induced and hemoglobin-enhanced oxidative damage to colon cancer cells. *Free Radic Biol Med*. 2011 Jul 15;51(2):503-15. [[Enlace](#)]
- Apte RN, Dotan S, Elkabets M, White MR, Reich E, Carmi Y, Song X, et al. The involvement of IL-1 in tumorigenesis, tumor invasiveness, metastasis and tumor-host interactions. *Cancer Metastasis Rev*. 2006 Sep;25(3):387-408. [[Enlace](#)]
- Arakaki H, Osada Y, Takanashi S, Ito C, Aisa Y, Nakazato T. Oxidative stress is associated with poor prognosis in patients with follicular lymphoma. *Blood*. 2016 128:1787. [[Enlace](#)]
- Aranguren-Méndez JA, Román-Bravo R, Isea W, Villasmil Y, Jordana J. Microsatellites (STR's), ADN molecular markers for excellency for conservation programs: A review. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*. 2005. 13(1):1-6. [[Enlace](#)]
- Arévalo F, Aragón V, Alva J, Perez-Narrea M, Cerrillo G, Montes P et al. *Rev. Pólipos colorrectales: Actualización en el diagnóstico. Gastroenterol. Perú*; 2012; 32(2):123-33. [[Enlace](#)]
- Asano TK, McLeod RS. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and Aspirin for preventing colorectal adenomas and carcinomas. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(2):CD004079. [[Enlace](#)]
- Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J*. 2016 Sep;24(5):547-53. [[Enlace](#)]
- Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), 2018. [[Enlace](#)]

- Attaallah W, Gunal O, Manukyan M, Ozden G, Yegen C. Prognostic impact of the metastatic lymph node ratio on survival in rectal cancer. *Ann Coloproctol*. 2013 Jun;29(3):100-5. [[Enlace](#)]
- Augusto O, Miyamoto S. Oxygen Radicals and Related Species. In: *Principles of Free Radical Biomedicine*. 2011. São Paulo: K Nova Science Publishers, Inc. Volume 1. pp:1-23. [[Enlace](#)]
- Avinash SS, Anitha M, Vinodchandran, Rao GM, Sudha K, Shetty BV. Advanced oxidation protein products and total antioxidant activity in colorectal carcinoma. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2009 Oct-Dec;53(4): 370-4. [[Enlace](#)]
- Baek SK. Laterality: right-sided and left-sided colon cancer. *Ann Coloproctol* 2017;33(6):205-6. [[Enlace](#)]
- Bailey SE, Ukoumunne OC, Shephard EA, Hamilton W. Clinical relevance of thrombocytosis in primary care: a prospective cohort study of cancer incidence using English electronic medical records and cancer registry data. *Br J Gen Pract*. 2017 Jun;67(659):e405-e413. [[Enlace](#)]
- Bains SJ, Mahic M, Myklebust TÅ, Småstuen MC, Yaqub S, Dørum LM, et al. Aspirin as secondary prevention in patients with colorectal cancer: an unselected population-based study. *J Clin Oncol*. 2016 Jul 20;34 (21):2501-8. [[Enlace](#)]
- Balta AZ, Özdemir Y, Sücüllü I, Dericci ST, Bağcı M, Demirel D, et al. Can horizontal diameter of colorectal tumor help predict prognosis? *Ulus Cerrahi Derg*. 2014 Sep 1;30(3):115-9. [[Enlace](#)]

- Baltruskeviciene E, Kazbariene B, Badaras R, Bagdonaitė L, Krikštaponienė A, Zdanavičius L, et al. Glutathione and glutathione S-transferase levels in patients with liver metastases of colorectal cancer and other hepatic disorders. *Turk J Gastroenterol.* 2016 Jul;27(4):336-41. [[Enlace](#)]
- Bamia C, Lagiou P, Buckland G, Grioni S, Agnoli C, Taylor AJ et al. Mediterranean diet and colorectal cancer risk: results from a European cohort. *Eur J Epidemiol.* 2013 Apr;28(4):317-28. [[Enlace](#)]
- Bancroft LK, Lupton JR, Davidson LA, Taddeo SS, Murphy ME, Carroll RJ, et al. Dietary fish oil reduces oxidative DNA damage in rat colonocytes. *Free Radic Biol Med.* 2003 Jul 15;35(2):149-59. [[Enlace](#)]
- Bannura G, Cumsille MA, Barrera A, Contreras J, Soto D, Melo C, et al. CEA preoperatorio como factor pronóstico en cáncer de colon y recto: análisis de 532 pacientes. *Rev Chil Cir.* 2008;60(4):320-5. [[Enlace](#)]
- Bañuls C, Rovira-Llopis S, Lopez-Domenech S, Diaz-Morales N, Blas-Garcia A, Veses S et al. Oxidative and endoplasmic reticulum stress is impaired in leukocytes from metabolically unhealthy vs healthy obese individuals. *Int J Obes (Lond).* 2017 Oct;41(10):1556-63. [[Enlace](#)]
- Bañuls C, Rovira-Llopis S, Martínez de Marañón A, Veses S, Jover A, Gomez M et al. Metabolic syndrome enhances endoplasmic reticulum, oxidative stress and leukocyte-endothelium interactions in PCOS. *Metabolism.* 2017 Jun;71:153-62. [[Enlace](#)]

- Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, Quan H, Riddell R, Lanas A, et al. A randomized trial of rofecoxib for the chemoprevention of colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 2006;131:1674-8. [[Enlace](#)]
- Barrett CW, Ning W, Chen X, Smith JJ, Washington MK, Hill KE, et al. Tumor suppressor function of the plasma glutathione peroxidase gpx3 in colitis-associated carcinoma. *Cancer Res*. 2013 Feb 1;73(3):1245-55. [[Enlace](#)]
- Basbug M, Arikanoglu Z, Bulbuller N, Cetinkaya Z, Aygen E, Akbulut S, et al. Prognostic value of preoperative CEA and CA 19-9 levels in patients with colorectal cancer. *Hepatogastroenterology*. 2011 Mar-Apr;58 (106):400-5. [[Enlace](#)]
- Bailey SE, Ukoumunne OC, Shephard EA, Hamilton W. Clinical relevance of thrombocytosis in primary care: a prospective cohort study of cancer incidence using English electronic medical records and cancer registry data. *Br J Gen Pract*. 2017 Jun;67 (659):e405-e413. [[Enlace](#)]
- Baltruskeviciene E, Kazbariene B, Badaras R, Bagdonaitė L, Krikštaponienė A, Zdanavičius L, et al. Glutathione and glutathione S-transferase levels in patients with liver metastases of colorectal cancer and other hepatic disorders. *Turk J Gastroenterol*. 2016 Jul;27(4):336-41. [[Enlace](#)]
- Beale AL, Penney MD, Allison MC. The prevalence of iron deficiency among patients presenting with colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2005 Jul;7(4):398-402. [[Enlace](#)]

- Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger I, Lipper H: Colon/Rectum Carcinomas (Primary Tumor) Study Group. Comparasion of 17641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology and survival. *Dis Colon Rectum*. 2010; Jan; 53:57-64. [[Enlace](#)]
- Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*. 1997 Aug 8;272(32):19633-6. [[Enlace](#)]
- Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, Redston M, Solomon SD, Kim K, et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med*. 2006;355:873-84. [[Enlace](#)]
- Bertagnolli MM, Niedzwiecki D, Compton C, Hahn H, Hall M, Damas B, et al. Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. *J Clin Oncol*. 2009 Apr 10;27(11):1814-21. [[Enlace](#)]
- Biondo S, Ragué JM. Cáncer colorrectal complicado. *Cir Esp* 2003;73(1):30-2. [[Enlace](#)]
- Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun; 138:2073-87. [[Enlace](#)]
- Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58:5248-57. [[Enlace](#)]

- Borrego S, Vázquez A, Dasí F, Cerdá C, Iradi A, Tormos C, et al. Oxidative Stress and DNA Damage in human gastric carcinoma: 8-Oxo-7'8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) as a possible tumor marker. *Int J Mol Sci.* 2013 Feb 6;14(2):3467-86. [[Enlace](#)]
- Bras M, Queenan B, Susin SA. Programmed cell death via mitochondria: different modes of dying. *Biochemistry (Mosc).* 2005 Feb;70(2):231-9. [[Enlace](#)]
- Brenner DR, Scherer D, Muir K, Schildkraut J, Boffetta P, Spitz MR, et al. A review of the application of inflammatory biomarkers in epidemiologic cancer research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 Sep;23 (9):1729-51. [[Enlace](#)]
- Bretthauer M. Evidence for colorectal cancer screening. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010 Aug;24(4):417-25. [[Enlace](#)]
- Brieger K, Schiavone S, Miller FJ Jr, Krause KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012;142: w13659. [[Enlace](#)]
- Broedbaek K, Weimann A, Stovgaard ES, Poulsen HE. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a biomarker in type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med.* 2011 Oct 15;51(8):1473-9. [[Enlace](#)]
- Bujanda L, Cosme A, Gil I, Arenas-Mirave JI. Malignant colorectal polyps. *World J Gastroenterol.* 2010 Jul 7;16(25):3103-11. [[Enlace](#)]
- Calderón Salinas JV, Muñoz Reyes EG, Quintanar Escorza MA. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev. Educ. Bioquím.* 2013 Jun;32(2): 53-66. [[Enlace](#)]

- Calva M, Acevedo MT. Revisión y actualización general en cáncer colorrectal. *Anales de Radiología México* 2009;1:99-115. [[Enlace](#)]
- Campillo-Soto A, Pellicer-Franco E, Parlorio-Andrés E, Soria-Aledo V, Morales-Cuenca G, Aguayo-Albasini JL. CT colonography vs. Barium enema for the preoperative study of colorectal cancer in patients with incomplete colonoscopy. *Med Clin (Barc)*. 2007 Nov 24;129(19):725-8. [[Enlace](#)]
- Cáncer.net 2018. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Cáncer colorrectal: Factores de riesgo y prevención. [[Enlace](#)]
- Cárdenas-Rodríguez N, Pedraza-Chaverri. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química* 2006; 17[2]:164-73. [[Enlace](#)]
- Carlsson L, Håkansson A, Nordenskjöld B. Common cancer-related symptoms among GP patients. Opportunistic screening in primary health care. *Scand J Prim Health Care*. 2001 Sep;19(3):199-203. [[Enlace](#)]
- Carraro PG, Segala M, Orlotti C, Tiberio G. Outcome of large-bowel perforation in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1998 Nov;41(11):1421-6. [[Enlace](#)]
- Cat P, López B, Kauffmann JM. ¿Cómo detectar lesiones en el ADN? *El Farmacéutico*. Julio 2013. [[Enlace](#)]
- Cerdá Micó C, Salvador Verdú A, Ocete Mochón D, Torregrosa Sánchez R, Fandos Martínez M, Sáez Tormo G. Estrés oxidativo, envejecimiento y cáncer. En: *Biogerontología médica*. Biblioteca SEGG - Editorial médica Ergon. Juan Sastre, Reinald Pamplona, José Ramón Ramón eds. 2009. pp: 432.

- Cerqueira FM, Medeiro MH, Augusto O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. *Quim Nova*. 2007;30:441-9. [\[Enlace\]](#)
- Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science*. 1985 Jan 25;227 (4685):375-81. [\[Enlace\]](#)
- Cetin B, Kaplan MA, Berk V, Ozturk SC, Benekli M, Isikdogan A, et al. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic colorectal carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeting agents. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(3): 1059-63. [\[Enlace\]](#)
- Chang D, Wang F, Zhao YS, Pan HZ. Evaluation of oxidative stress in colorectal cancer patients. *Biomed Environ Sci*. 2008 Aug;21(4): 286-9. [\[Enlace\]](#)
- Charlton KE. Eating well: ageing gracefully! *Asia Pac J Clin Nutr*. 2002;11 Suppl 3:S607-17. [\[Enlace\]](#)
- Chin CC, Wang JY, Yeh CY, Kuo YH, Huang WS, Yeh CH. Metastatic lymph node ratio is a more precise predictor of prognosis than number of lymph node metastases in stage III colon cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2009 Nov;24(11):1297-302. [\[Enlace\]](#)
- Cho YB, Chun HK, Yun HR, Kim HC, Yun SH, Lee WY. Histological grade predicts survival time associated with recurrence after resection for colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2009 Sep-Oct;56(94-95):1335-40. [\[Enlace\]](#)

- Cho E, Lee JE, Rimm EB, Fuchs CS, Giovannucci EL. Alcohol consumption and the risk of colon cancer by family history of colorectal cancer. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:413-9. [[Enlace](#)]
- Chua W, Charles KA, Baracos VE, Clarke SJ. Neutrophil/lymphocyte ratio predicts chemotherapy outcomes in patients with advanced colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2011 Apr 12;104(8):1288-95. [[Enlace](#)]
- Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect.* 1985 Dec; 64:111-26. [[Enlace](#)]
- Clària J, Horrillo R, Martínez-Clemente M, Morán-Salvador E, Titos E, González-Pérez A, et al. Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación. *Gastroenterol Hepatol.* Dec;31(10):682-92. [[Enlace](#)]
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003 Jul; 17(10):1195-214. [[Enlace](#)]
- Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:27-42. [[Enlace](#)]
- Crespo J. Estadificación del carcinoma de recto mediante resonancia magnética. *Imagen Diagn* 2012;3:56-62. [[Enlace](#)]
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987 Oct; 107(4):526-45. [[Enlace](#)]

- Crusz SM, Balkwill FR. Inflammation and cancer: advances and new agents. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015 Oct;12(10):584-96. [[Enlace](#)]
- Cucino C, Buchner AM, Sonnenberg A. Continued rightward shift of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2002 Aug;45(8):1035-40. [[Enlace](#)]
- Cullen JJ, Mitros FA, Oberley LW. Expression of antioxidant enzymes in diseases of the human pancreas: another link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreas*. 2003 Jan;26(1):23-7. [[Enlace](#)]
- Cuquerella J, Ortí E, Canelles P, Quiles F, Pamosa S, Andreu J, et al. Cáncer colorrectal: concepto de neoplasias sincrónicas y metacrónicas. *Rev Soc Valencia Patol Dig* 2000;19:57-60.
- Cutler RG. Urate and ascorbate: their possible roles as antioxidants in determining longevity of mammalian species. *Arch Gerontol Geriatr*. 1984 Dec;3(4):321-48. [[Enlace](#)]
- Czerska M, Zieliński M, Gromadzińska J. Isoprostanes - A novel major group of oxidative stress markers. *Int J Occup Med Environ Health*. 2016;29(2):179-90. [[Enlace](#)]
- Dahle J, Brunborg G, Svendsrud DH, Stokke T, Kvam E. Overexpression of human OGG1 in mammalian cells decreases ultraviolet A induced mutagenesis. *Cancer Lett*. 2008 Aug 18;267(1):18-25. [[Enlace](#)]
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem*. 2006 Apr;52(4):601-23. [[Enlace](#)]

- David SS, O'Shea VL, Kundu S. Base-excision repair of oxidative DNA damage. *Nature*. 2007 Jun 21;447(7147):941-50. [[Enlace](#)]
- De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al; EUROCORE-5 Working Group. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EUROCORE-5-a population-based study. *Lancet Oncol*. 2014 Jan; 15(1):23-34. [[Enlace](#)]
- De la Peña Fernández A, Redondo Bellón P. Radicales libres y mecanismos antioxidantes. Generalidades y aplicaciones en la práctica clínica. *Rev Clin Esp*. 1997;197(6):434-46. [[Enlace](#)]
- De Larco JE, Wuertz BR, Furcht LT. The potential role of neutrophils in promoting the metastatic phenotype of tumors releasing interleukin-8. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 1;10(15): 4895-900. [[Enlace](#)]
- Delgado Roche L, Martínez Sánchez G, Díaz Batista A. Determinación de marcadores de estrés oxidativo en pacientes con enfermedades cardiovasculares. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; 43(3):307-13. [[Enlace](#)]
- Del Rio P, Rossini M, Papadia C, Lorenzo V, Labonia D, Sianesi M. Diverticular disease and colon cancer: a real association between the two diseases? *Ann Ital Chir*. 2014 Jul-Aug;85(4):389-96. [[Enlace](#)]
- Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta*. 2013 May;1830(5): 3217-66. [[Enlace](#)]

- Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumor differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol.* 2010; 49 (1): 57-62. [[Enlace](#)]
- Deschoolmeester V, Baay M, Van Marck E, Weyler J, Vermeulen P, Lardon F, et al. Tumor infiltrating lymphocytes: an intriguing player in the survival of colorectal cancer patients. *BMC Immunol.* 2010 Apr 12;11: 19-31. [[Enlace](#)]
- De Tursi Ríspoli L, Vázquez Tarragón A, Vázquez Prado A, Sáez Tormo G, Mahmoud Ismail A, Gumbau Puchol V. Estrés oxidativo; estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. *Nutr Hosp.* 2013 May-Jun; 28 (3):671-5. [[Enlace](#)]
- DGSP 2018 [[Enlace](#)]
- Didžiapetrienė J, Bublevič J, Smailytė G, Kazbarienė B, Stukas R. Significance of blood serum catalase activity and malondialdehyde level for survival prognosis of ovarian cancer patients. *Medicina (Kaunas).* 2014;50(4):204-8. [[Enlace](#)]
- Dimitriou N, Felekouras E, Karavokyros I, Alexandrou A, Pikoulis E, Griniatsos J. Neutrophils to lymphocytes ratio as a useful prognosticator for stage II colorectal cancer patients. *BMC Cancer.* 2018 Dec 3;18(1):1202. [[Enlace](#)]

- Domijan AM, Peraica M. Determination of 8-hydroxy-2'deoxyguanosine in urine using HPLC with electrochemical detection. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2008 Dec;59(4):277-82. [[Enlace](#)]
- Donovan MG, Selmin OI, Doetschman TC, Romagnolo DF. Mediterranean diet: prevention of colorectal cancer. *Front Nutr.* 2017 Dec 5;4:59. [[Enlace](#)]
- Donskov F. Immunomonitoring and prognostic relevance of neutrophils in clinical trials. *Semin Cancer Biol.* 2013 Jun;23(3):200-7. [[Enlace](#)]
- Dostalek M, Hardy KD, Milne GL, Morrow JD, Chen C, Gonzalez FJ, et al. Development of oxidative stress by cytochrome P450 induction in rodents is selective for barbiturates and related to loss of pyridine nucleotide-dependent protective systems. *J Biol Chem.* 2008 Jun 20;283(25):17147-57. [[Enlace](#)]
- Dröge W. Aging-related changes in the thiol/disulfide redox state: implications for the use of thiol antioxidants. *Exp Gerontol.* 2002 Dec;37 (12): 1333-45. [[Enlace](#)]
- Dröge W, Schipper HM. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Aging Cell.* 2007 Jun;6(3):361-70. [[Enlace](#)]
- Duan J, Kasper DL. Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology.* 2011 Apr;21 (4):401-9. [[Enlace](#)]

- Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? Clin Chem. 2001 Apr;47(4):624-30. [\[Enlace\]](#)
- Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousová M, Holubec L, et al. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. Int J Cancer. 2014;134:2513-22. [\[Enlace\]](#)
- Dusak A, Atasoy N, Demir H, Doğan E, Gürsoy T, Sarıkaya E. Investigation of levels of oxidative stress and antioxidant enzymes in colon cancers. J Clin Anal Med. 2017;8(6): 469-73. [\[Enlace\]](#)
- Dymicka-Piekarska V, Kemoná H, Piotrowski Z, Gryko M, Milewski Z, Matowicka-Karna J. Does colorectal cancer influence platelet activation? Przegl Lek. 2003;60(11):716-8. [\[Enlace\]](#)
- EcuRed.cu 2019. Colon. [\[Enlace\]](#)
- Edna TH, Karlsen V, Jullumstrø E, Lydersen S. Prevalence of anaemia at diagnosis of colorectal cancer: assessment of associated risk factors. Hepatogastroenterology. 2012 May;59(115):713-6. [\[Enlace\]](#)
- Elejalde Guerra JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An Med Interna. 2001 Jun;18(6):326-35. [\[Enlace\]](#)
- Emre A, Akbulut S, Sertkaya M, Bitiren M, Kale IT, Bulbuloglu E. Assessment of risk factors affecting mortality in patients with colorectal cancer. Prz Gastroenterol. 2018;13(2):109-17. [\[Enlace\]](#)

- England K, Cotter TG. Direct oxidative modifications of signalling proteins in mammalian cells and their effects on apoptosis. *Redox Rep.* 2005; 10(5):237-45. [[Enlace](#)]
- Erlinger TP, Platz EA, Rifai N, Helzlsouer KJ. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer. *JAMA.* 2004 Feb 4;291(5): 585-90. [[Enlace](#)]
- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al; PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2018 Jun 21;378(25):e34. [[Enlace](#)]
- Evans MD, Olinski R, Loft S, Cooke MS. European Standards Committee on Urinary (DNA) lesion analysis. Toward consensus in the analysis of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a noninvasive biomarker of oxidative stress. *FASEB J.* 2010 Apr; 24(4):1249-60. [[Enlace](#)]
- Fang WL, Chang SC, Lin JK, Wang HS, Yang SH, Jiang JK, et al. Metastatic potential in T1 and T2 colorectal cancer. *Hepatogastroenterology.* 2005 Nov-Dec;52(66):1688-91. [[Enlace](#)]
- Farias IL, Farias JG, Rossato L, Araújo MC, Chiesa J, Morsh V, Schetinger MR. Correlation between TBARS levels and glycolytic enzymes: the importance to the initial evaluation of clinical outcome of colorectal cancer patients. *Biomed Pharmacother.* 2011 Sep;65(6):395-400. [[Enlace](#)]
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990 Jun 1;61(5):759-67. [[Enlace](#)]

- Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2007 Dec 1;121(11):2381-6. [[Enlace](#)]
- Feliu Batlle J. Nuevas dianas terapéuticas útiles para el tratamiento del cáncer de colon y recto. IX Congreso de la SEOM. 2003. [[Enlace](#)]
- Feng Z, Chen JW, Feng JH, Shen F, Cai WS, Cao J, Xu B. The association between serum ferritin with colorectal cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Dec 15;8(12):22293-9. eCollection 2015. [[Enlace](#)]
- Ferraro SM, López-Ortega AA. Óxido Nítrico: Un radical libre sorprendente. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. 2002;8(1):8-16. [[Enlace](#)]
- Filella X, Molina R, Grau JJ, Piqué JM, Garcia-Valdecasas JC, Astudillo E, et al. Prognostic value of CA 19.9 levels in colorectal cancer. *Ann Surg*. 1992 Jul;216(1):55-9. [[Enlace](#)]
- Flossmann E, Rothwell PM. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomized and observational studies. *Lancet*. 2007; 369:1603-13. [[Enlace](#)]
- Forman HJ, Augusto O, Brigelius-Flohe R, Dennery PA, Kalyanaraman B, Ischiropoulos H, et al. Even free radicals should follow some rules: a guide to free radical research terminology and methodology. *Free Radic Biol Med*. 2015 Jan;78:233-5. [[Enlace](#)]
- Freeman BA, Crapo J. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47:412-26. [[Enlace](#)]

- Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2015 Nov 10;23(14):1144-70. [[Enlace](#)]
- Fuertes J, Montagut C, Bullich S, Coma MI, Mestre-Fusco A, Suárez-Piñera M, et al. Incidental focal uptake in colorectal location on oncologic <sup>18</sup>F<sup>18</sup>FDG PET and PET/CT studies: histopathological findings and clinical significances. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2015 Mar-Apr;34(2):95-101. [[Enlace](#)]
- Galadari S, Rahman A, Pallichankandy S, Thayyullathil F. Free Radic Biol Med. 2017 Mar;104:144-64. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? *Free Radic Biol Med*. 2017 Mar; 104:144-64. [[Enlace](#)]
- Galdiero MR, Bianchi P, Grizzi F, Di Caro G, Basso G, Ponzetta A, et al. Occurrence and significance of tumor-associated neutrophils in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2016 Jul 15;139(2): 446-56. [[Enlace](#)]
- Garrido Botella A, Garrido Gómez E. Pólipos de colon. *Rev. Esp. Enferm. Dig*. 2007;99 ene(1):48. [[Enlace](#)]
- Gào X, Brenner H, Holleczeck B, Cuk K4, Zhang 4, Anusruti A, et al. Urinary 8-isoprostane levels and occurrence of lung, colorectal, prostate, breast and overall cancer: Results from a large, population-based cohort study with 14 years of follow-up. *Free Radic Biol Med*. 2018 May 17;123:20-6. [[Enlace](#)]
- García-Heredia JM, Carnero A. The cargo protein MAP17 (PDZK1IP1) regulates the immune microenvironment. *Oncotarget*. 2017 Oct 6;8 (58): 98580-97. [[Enlace](#)]

GETHI.org. Síndromes paraneoplásicos. [\[Enlace\]](#)

Ghuman S, Van Hemelrijck M, Garmo H, Holmberg L, Malmström H, Lambe M, et al. Serum inflammatory markers and colorectal cancer risk and survival. Br J Cancer. 2017 May 9;116 (10):1358-65. [\[Enlace\]](#)

GLOBOCAN 2018: New Global Cancer Data. [\[Enlace\]](#)

Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. Biol Chem. 2017 Sep 26;398(10):1095-108. [\[Enlace\]](#)

Gómez EA. Estrés oxidativo y falla cardíaca. Acta Med Colomb. 2001 Julio/Agosto; 26(4):185-92. [\[Enlace\]](#)

Gómez-Gras A, Uribe N, Cabrera MA. Cancer colorrectal. Guía de Actuación Clínica en A. P. Publicaciones san.gva.es 2008. [\[Enlace\]](#)

Gómez-España MA, Gallego J, González-Flores E, Maurel J, Páez D, Sastre J, Aparicio J, et al. SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer (2018). Clin Transl Oncol. 2019 Jan; 21(1):46-54. [\[Enlace\]](#)

González San José ML, Muñoz Rodríguez P, Valls Bellés V. El estrés oxidativo en los sistemas biológicos. En: Actividad antioxidante de la cerveza: estudios in vitro e in vivo. Edita: Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA). 2001(8).pp:7-13. [\[Enlace\]](#)

Gopčević KR, Rovčanin BR, Tatić SB, Krivokapić ZV, Gajić MM, Dragutinović VV. Activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in different

- stages of colorectal carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2013 Sep;58(9):2646-52. [[Enlace](#)]
- Góth L, Rass P, Páy A. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Mol Diagn*. 2004;8:141–9. [[Enlace](#)]
- Goyal A, Terry MB, Jin Z, Siegel AB. C-reactive protein and colorectal cancer mortality in U.S. adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 Aug;23(8):1609-18. [[Enlace](#)]
- Granlund J, Svensson T, Granath F, Hjern F, Ekbom A, Blomqvist P et al. Diverticular disease and the risk of colon cancer-a population-based case-control study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Sep;34(6):675-81. [[Enlace](#)]
- Grigorov B. Reactive oxygen species and their relation to carcinogenesis. *Trakia Journal of Sciences*. 2012;10(3):83-92. [[Enlace](#)]
- Gethi.org. Grupo Español de Tumores Huérfanos e Infrecuentes (GETHI). Síndromes paraneoplásicos. Capítulo 3. Síndromes paraneoplásicos hematológicos. 2016; pp: 28-45. [[Enlace](#)]
- Grupo de trabajo oncológico de centros hospitalarios del sur de Madrid (OncoSur). Fundación Mutua Madrileña. Guía clínica de diagnóstico y tratamiento del carcinoma colorrectal. Madrid: YOU & US. S.A. 2009. pp.10. [[Enlace](#)]
- Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2000 Jan 13;342(2): 69-77. [[Enlace](#)]

- Gu D, Szallasi A. Thrombocytosis Portends Adverse Prognosis in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis of 5,619 Patients in 16 Individual Studies. *Anticancer Res.* 2017 Sep;37(9):4717-26. [\[Enlace\]](#)
- Gunawardene A, Larsen P, Shekouh A, Dennett E. Pre-operative carcinoembryonic antigen predicts survival following colorectal cancer surgery with curative intent. *ANZ J Surg.* 2018 Dec;88(12):1311-5. [\[Enlace\]](#)
- Guo C, Li X, Wang R, Yu J, Ye M, Mao L, et al. Association between oxidative DNA damage and risk of colorectal cancer: Sensitive determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by UPLC-MS/MS analysis. *Sci Rep.* 2016 Sep 2;6:32581. [\[Enlace\]](#)
- Guo G, Chen X, He W, Wang H, Wang Y, Hu P, et al. Establishment of inflammation biomarkers-based nomograms to predict prognosis of advanced colorectal cancer patients based on real world data. *PLoS One.* 2018 Dec 4;13(12):e0208547. [\[Enlace\]](#)
- Guz J, Foksinski M, Siomek A, Gackowski D, Rozalski R, Dziaman T et al. The relationship between 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine level and extent of cytosine methylation in leukocytes DNA of healthy subjects and in patients with colon adenomas and carcinomas. *Mutat Res.* 2008 Apr 2;640(1-2):170-3. [\[Enlace\]](#)

- Haggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg.* 2009 Nov; 22(4):191-7. [[Enlace](#)]
- Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J.* 2007 Jan 1;401(1):1-11. [[Enlace](#)]
- Halliwell B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol.* 2013 Mar;75(3):637-44. [[Enlace](#)]
- Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec; 102 Suppl 10:5-12. [[Enlace](#)]
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Fourth edition. Oxford: Oxford University Press, 2007. [[Enlace](#)]
- Hamilton W, Lancashire R, Sharp D, Peters TJ, Cheng KK, Marshall T. The importance of anaemia in diagnosing colorectal cancer: a case-control study using electronic primary care records. *Br J Cancer.* 2008 Jan 29;98(2):323-27. [[Enlace](#)]
- Hamilton W, Sharp D. Diagnosis of colorectal cancer in primary care: the evidence base for guidelines. *Fam Pract.* 2004 Feb; 21 (1):99-106. [[Enlace](#)]
- Hano OM, Wood, L, Galbán E, Abreu MR. Factores de riesgo para el cáncer colorrectal. *Revista Cubana de Medicina* 2011;50(2):118-32. [[Enlace](#)]
- He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(2):532-53. [[Enlace](#)]

- Hebestreit K, Yahiaoui-Doktor M, Engel C, Vetter W, Siniatchkin M, Erickson N. Validation of the German version of the Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS) questionnaire. *BMC Cancer*. 2017 May 18;17(1):341. [[Enlace](#)]
- Helfinger V, Schröder K. Redox control in cancer development and progression. *Mol Aspects Med*. 2018 Oct;63:88-98. [[Enlace](#)]
- Hermida Lazcano I, Sánchez Tejero E, Nerín Sánchez C, Cordero Bernabé R, Mora Escudero I, Pinar Sánchez J. Marcadores tumorales. *Rev Clin Med Fam* 2016;9(1):31-42. [[Enlace](#)]
- Herrera-Silva J, Trevino-Moore A, Medina-Rosales H. Asociación entre marcadores de inflamación sistémica de bajo grado e índice de masa corporal en niños con cáncer en quimioterapia. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex*. 2008; 65(3):167-78. [[Enlace](#)]
- Ho CH, Yu YB, Wu PH. The prevalence of iron deficiency anemia and its clinical implications in patients with colorectal carcinoma. *J Chin Med Assoc*. 2008 Mar;71(3):119-22. [[Enlace](#)]
- Hoogerbrugge N, Willems R, Van Krieken HJ, Kiemeneij LA, Weijmans M, Nagengast FM, et al. Very low incidence of microsatellite instability in rectal cancers from families at risk for HNPCC. *Clin Genet*. 2003 Jan;63(1):64-70. [[Enlace](#)]
- Hope ME, Hold GL, Kain R, El-Omar EM. Sporadic colorectal cancer-role of the commensal microbiota. *FEMS Microbiol Lett*. 2005 Mar 1;244 (1):1-7. [[Enlace](#)]

- Hopkins MH, Fedirko V, Jones DP, Terry PD, Bostick RM. Antioxidant micronutrients and biomarkers of oxidative stress and inflammation in colorectal adenoma patients: results from a randomized, controlled clinical trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Mar;19(3):850-8. [[Enlace](#)]
- Huang CY, Su CT, Chung CJ, Pu YS, Chu JS, Yang HY, et al. Urinary total arsenic and 8-hydroxydeoxyguanosine are associated with renal cell carcinoma in an area without obvious arsenic exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012 Aug 1;262(3):349-54. [[Enlace](#)]
- Huang L, Fang J, Wu J, Zhou X, Wei H. Prognostic value of combining preoperative serum tumor markers and peripheral blood routine indexes in patients with colorectal cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2018 Dec 25;21(12):1421-26. [[Enlace](#)]
- Huh JW, Kim HR, Kim YJ. Lymphovascular or perineural invasion may predict lymph node metastasis in patients with T1 and T2 colorectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2010 Jul;14(7):1074-80. [[Enlace](#)]
- Hütter E, Skovbro M, Lener B, Prats C, Rabøl R, Dela F, et al. Oxidative stress and mitochondrial impairment can be separated from lipofuscin accumulation in aged human skeletal muscle. *Aging Cell.* 2007 Apr; 6(2):245-56. [[Enlace](#)]
- Hwang TS, Choi HK, Han HS. Differential expression of manganese superoxide dismutase, copper/zinc superoxide dismutase, and

- catalase in gastric adenocarcinoma and normal gastric mucosa. Eur J Surg Oncol. 2007 May;33(4):474-9. [\[Enlace\]](#)
- Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. AJM 2018; 54(4):287-93. [\[Enlace\]](#)
- Il'yasova D, Scarbrough P, Spasojevic I. Urinary biomarkers of oxidative status. Clin Chim Acta. 2012 Oct 9;413(19-20):1446-53. [\[Enlace\]](#)
- Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Kira Y, Imada I, et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. Curr Med Chem. 2003 Dec;10(23):2495-505. [\[Enlace\]](#)
- Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad. Presentación Estudio PREDIMED 2013. [\[Enlace\]](#)
- Instituto Nacional del Cáncer (NIH) 2018. Cancer Stat Facts: Cancer of Any Site. [\[Enlace\]](#)
- Instituto Nacional de Estadística (INE) 2017. Defunciones según la causa de muerte año 2015. [\[Enlace\]](#)
- Instituto Nacional del Cáncer (NIH) 2018. Factores de riesgo de cáncer. [\[Enlace\]](#)
- Instituto Nacional del Cáncer (NIH) 2018. Factores de riesgo de cáncer. Edad. [\[Enlace\]](#)
- Instituto Nacional del Cáncer (NIH) 2018. Marcadores de tumores. [\[Enlace\]](#)

Instituto nacional del cáncer (NIH) 2018. Se identifican desigualdades en supervivencia de jóvenes afroamericanos con cáncer colorrectal. [[Enlace](#)]

Instituto nacional del cáncer (NIH) 2018. Supervivencia al cáncer colorrectal relacionada con ubicación del tumor primario. [[Enlace](#)]

Iza B, Mateo-Sierra O, Ruiz-Juretszke F, Garbizu J, Guzmán de Villoria J, Carrillo R. Glioblastoma familiar múltiple de aparición metácrona: implicaciones etiopatogénicas y pronósticas. Neurocirugía 2006 Enero 17(4):303-56. [[Enlace](#)]

Jacobs EJ, Rodriguez C, Brady KA, Connell CJ, Thun MJ, Calle EE. Cholesterol-lowering drugs and colorectal cancer incidence in a large United States cohort. J Natl Cancer Inst. 2006 Jan 4;98 (1): 69-72. [[Enlace](#)]

Janakiram NB, Rao CV. The role of inflammation in colon cancer. Adv Exp Med Biol. 2014;816:25-52. [[Enlace](#)]

Järvinen R, Knekt P, Hakulinen T, Rissanen H, Heliövaara M. Dietary fat, cholesterol and colorectal cancer in a prospective study. Br J Cancer. 2001 Aug 3;85(3):357-61. [[Enlace](#)]

Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. Gastroenterology. 2010 Jun;138(6): 2044-58. [[Enlace](#)]

Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Role of nuclear factor kappaB and mitogen-activated protein kinase signaling in exercise-induced antioxidant enzyme adaptation. Appl Physiol Nutr Metab. 2007 Oct;32 (5):930-5. [[Enlace](#)]

- Jobin C. Colorectal cancer: CRC--all about microbial products and barrier function? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012 Dec; 9(12): 694-6. [[Enlace](#)]
- Jover R, Payá A. Inestabilidad de microsatélites en el cáncer colorrectal: concepto, métodos de detección y utilidad clínica. *Gastroenterol Hepatol*. 2003 Dec;26(10):656-63. [[Enlace](#)]
- Junta de Andalucía. Protocolo cáncer colorrectal 2013. [[Enlace](#)]
- Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD, Germolec D, Graham LB, Parker CE, et al. Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl4 poisoning? *Free Radic Biol Med*. 2005 Mar 15;38(6):698-710. [[Enlace](#)]
- Khadem-Ansari MH, Shahsavari Z, Rasmi Y, Mahmoodlo R. Elevated levels of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 8-isoprostane in esophageal squamous cell carcinoma. *J Carcinog* 2011;10:14. [[Enlace](#)]
- Khan A, Tania M, Zhang D, Chen H. Antioxidant Enzymes and Cancer. *Chin J Cancer Res*. 2010; 22(2):87-92. [[Enlace](#)]
- Khanbhai M, Shah M, Cantanhede G, Ilyas S, Richards T. The problem of anaemia in patients with colorectal cancer. *ISRN Hematol*. 2014 Feb 12;2014:547914. [[Enlace](#)]
- Kim NH, Jung YS, Jeong WS, Yang HJ, Park SK, Choi K, et al. Miss rate of colorectal neoplastic polyps and risk factors for missed polyps in consecutive colonoscopies. *Intest Res*. 2017 Jul;15(3): 411-8. [[Enlace](#)]

- Kim NK, Kim MJ, Park JK, Park SI, Min JS. Preoperative staging of rectal cancer with MRI: accuracy and clinical usefulness. *Ann Surg Oncol*. 2000 Dec;7(10):732-7. [[Enlace](#)]
- Kirkali G, Keles D, Canda AE, Terzi C, Reddy PT, Jaruga P, et al. Evidence for upregulated repair of oxidatively induced DNA damage in human colorectal cancer. *DNA Repair (Amst)*. 2011 Nov 10;10(11):1114-20. [[Enlace](#)]
- Kirkham P. Oxidative stress and macrophage function: a failure to resolve the inflammatory response. *Biochem Soc Trans*. 2007 Apr; 35(Pt 2):284-7. [[Enlace](#)]
- Kohlmann W, Gruber SB. Lynch Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *SourceGeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. 2004 Feb 5 [updated 2018 Apr 12]. [[Enlace](#)]
- Kopetz S, Lesslie DP, Dallas NA, Park SI, Johnson M, Parikh UN et al. Synergistic activity of the SRC family kinase inhibitor dasatinib and oxaliplatin in colon carcinoma cells is mediated by oxidative stress. *Cancer Res*. 2009 May 1;69(9):3842-9. [[Enlace](#)]
- Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, Langner C. Value of tumor size as a prognostic variable in colorectal cancer: a critical reappraisal. *Am J Clin Oncol*. 2011 Feb;34(1):43-9. [[Enlace](#)]
- Kreisler E, Biondo S, Martí-Ragué J. La cirugía en el cáncer de colon complicado. *Cir Esp* 2006;80:9-15. [[Enlace](#)]

- Kubo N, Morita M, Nakashima Y, Kitao H, Egashira A, Saeki H, et al. Oxidative DNA damage in human esophageal cancer: clinicopathological analysis of 8-hydroxydeoxyguanosine and its repair enzyme. *Dis Esophagus*. 2014 Apr;27(3):285-93. [[Enlace](#)]
- Kuo HW, Chou SY, Hu TW, Wu FY, Chen DJ. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and genetic polymorphisms in breast cancer patients. *Mutat Res*. 2007 Jul 10;631(1):62-8. [[Enlace](#)]
- Kuratko C, Pence BC. Changes in colonic antioxidant status in rats during long-term feeding of different high fat diets. *J Nutr*. 1991 Oct;121(10):1562-9. [[Enlace](#)]
- Labalde M, Labrador FJ, Golitsin A, Pinto S, Carlin J, García-Parreño J. Tumor budding y el cáncer colorrectal. *Rev Chil Cir*. 2014; 66(6): 556-61. [[Enlace](#)]
- Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Brouquet A, Cervantes A. Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2010;21 Suppl 5:v70-v77. [[Enlace](#)]
- Ladrón de Guevara D, Quera R, Rozas S, Schacher S, Reyes JM, Pardo C1, Pefaur R. Cáncer sincrónico y metacrónico detectado con PET/CT en población oncológica. *Rev Med Chil*. 2017 Nov; 145(11):1421-8. [[Enlace](#)]
- Latchford AR, Maeda Y, Clark SK. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) and aspirin for preventing colorectal adenomas and carcinomas in general population (Protocol). *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(12): CD010267. [[Enlace](#)]

- Lauer C, Völkl A, Riedl S, Fahimi HD, Beier K. Impairment of peroxisomal biogenesis in human colon carcinoma. *Carcinogenesis*. 1999 Jun;20(6):985-9. [[Enlace](#)]
- Lawrenson R, Logie J, Marks C. Risk of colorectal cancer in general practice patients presenting with rectal bleeding, change in bowel habit or anaemia. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2006 Jul;15(3): 267-71. [[Enlace](#)]
- Lech G, Słotwiński R, Słodkowski M, Krasnodębski IW. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World J Gastroenterol*. 2016 Feb 7;22 (5): 1745-55. [[Enlace](#)]
- Lee S, Huh SJ, Oh SY, Koh MS, Kim SH, Lee JH Clinical significance of coagulation factors in operable colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2017 Jun;13(6):4669-74. [[Enlace](#)]
- Lee S, Song A, Eo W. Serum ferritin as a prognostic biomarker for survival in relapsed or refractory metastatic colorectal cancer. *J Cancer*. 2016 May 12;7(8):957-64. [[Enlace](#)]
- Lee SJ, Kim A, Kim YK, Park WY, Kim HS, Jo HJ, et al. The significance of tumor budding in T1 colorectal carcinoma: the most reliable predictor of lymph node metastasis especially in endoscopically resected T1 colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2018 Aug;78:8-17. [[Enlace](#)]
- Leonard SS, Harris GK, Shi X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic Biol Med*. 2004 Dec 15;37 (12): 1921-42. [[Enlace](#)]

- Li MX, Liu XM, Zhang XF, Zhang JF, Wang WL, Zhu Y, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2014 May 15;134(10):2403-13. [[Enlace](#)]
- Li YS, Song MF, Kasai H, Kawai K. 8-hydroxyguanine in urine and serum as an oxidative stress marker: effects of diabetes and aging. *J UOEH*. 2013 Jun 1;35(2):119-27. [[Enlace](#)]
- Lim DR, Kuk JK, Kim T, Shin EJ. Comparison of oncological outcomes of right-sided colon cancer versus left-sided colon cancer after curative resection: Which side is better outcome? *Medicine (Baltimore)*. 2017 Oct;96(42):e8241. [[Enlace](#)]
- Lin MS, Huang JX, Zhu J, Shen HZ. Elevation of platelet count in patients with colorectal cancer predicts tendency to metastases and poor prognosis. *Hepatogastroenterology*. 2012 Sep;59(118):1687-90. [[Enlace](#)]
- Liochev SI, Fridovich I. The role of O<sub>2</sub><sup>-</sup> in the production of HO: in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med*. 1994 Jan;16(1):29-33. [[Enlace](#)]
- Liu H, Liu X, Zhang C, Zhu H, Xu Q, Bu Y, et al. Redox imbalance in the development of colorectal cancer. *J Cancer*. 2017 Jun 3;8(9):1586-97. [[Enlace](#)]
- Liu SJ, Yang XH, Ren JQ, Zhu XJ. Clinical significance of tumor budding detection in stage II colon cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2013 Aug;16(8):730-4. [[Enlace](#)]

- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010 Jul;4(8):118-26. [[Enlace](#)]
- Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24:5313-27. [[Enlace](#)]
- Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med (Berl).* 1996 Jun;74(6):297-312. [[Enlace](#)]
- Long Y, Wang T, Gao Q, Zhou C. Prognostic significance of pretreatment elevated platelet count in patients with colorectal cancer: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2016 Dec 6;7(49):81849-61. [[Enlace](#)]
- López J, Hornig A, Molt F, Mariángel P, Avendaño R. Antígeno carcinoembrionario preoperatorio y riesgo de metástasis en el cáncer colorrectal. *Cuad. Cir.* 2005;19:22-6. [[Enlace](#)]
- López-Espinosa JA. Sección Histórica. Una rareza bibliográfica universal: el Papiro médico de Edwin Smith. *ACIMED* 2002, vol. 10, n.3, pp. 9-10. [[Enlace](#)]
- Loschen G, Flohé L, Chance B. Respiratory chain linked H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in pigeon heart mitochondria. *FEBS Lett.* 1971 Nov 1; 18 (2): 261-4. [[Enlace](#)]
- Ludwig H, Müldür E, Endler G, Hübl W. Prevalence of iron deficiency across different tumors and its association with poor performance status, disease status and anemia. *Ann Oncol.* 2013 Jul;24(7):1886-92. [[Enlace](#)]

- Lugli A, Vlajnic T, Giger O, Karamitopoulou E, Patsouris ES, Peros G, et al. Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients. *Hum Pathol.* 2011 Dec; 42 (12):1833-40. [[Enlace](#)]
- Lumachi F, Marino F, Orlando R, Chiara GB, Basso SM. Simultaneous multianalyte immunoassay measurement of five serum tumor markers in the detection of colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2012;32:985-8. [[Enlace](#)]
- Lynch HT, Watson P, Smyrk TC, Lanspa SJ, Boman BM, Boland CR, et al. Colon cancer genetics. *Cancer.* 1992 Sep 1;70 (5 Suppl): 1300-12. [[Enlace](#)]
- Machicado E, Giraldo RE, Fernández KF, Geng AA, García D, Fernández I, et al. Localización y clínica asociada al cáncer de colon. Hospital Nacional Arzobispo Loayza: 2009–2013. *Horiz. Med.* 2015 Abr-jun;15 (2):49-55. [[Enlace](#)]
- Maffei F, Angeloni C, Malaguti M, Moraga JM, Pasqui F, Poli C, et al. Plasma antioxidant enzymes and clastogenic factors as possible biomarkers of colorectal cancer risk. *Mutat Res.* 2011 Sep 1;714 (1-2):88-92. [[Enlace](#)]
- Mahmood N. Oxidative stress and antioxidant status in colorectal cancer and healthy subject. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics* 2010 (3)1:1-6. [[Enlace](#)]
- Mahmoud N, Rombeau J, Ross H y Fry R. Colon y Recto. En: Townsend CM Editores. Sabiston. Tratado de Cirugía. Madrid. Editorial Elsevier; 2007.Vol 2. p.1447-8.

- Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT. How does colorectal cancer present? Symptoms, duration, and clues to location. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3039-45. [[Enlace](#)]
- Mamazza J, Gordon PH. The changing distribution of large intestinal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1982 Sep;25(6):558-62. [[Enlace](#)]
- Mañon Rossi W, Garrido G, Núñez Sellés AJ. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *JPPRes*. 2016; 4(2):62-83. [[Enlace](#)]
- Marcote E, Segarra M, Manzanet G, Pellicer V, Torner A, Canales M et al. Perforaciones colónicas. Factores pronósticos. *Cir Esp* 2000; 68:39-43. [[Enlace](#)]
- Mark-Christensen A, Laurberg S, Haboubi N. Dysplasia in inflammatory bowel disease: historical review, critical histopathological analysis, and clinical implications. *Inflamm Bowel Dis*. 2018 Apr 13 [Epub ahead of print]. [[Enlace](#)]
- Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*. 2002 Dec 27;181-182:219-22. [[Enlace](#)]
- Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:6501046. [[Enlace](#)]
- Martínez Abundis E, Sánchez Rodríguez MA. Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquím*. 2005; 30(3): 82-9. [[Enlace](#)]
- Martínez-Cayueta M. Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*.1995;77(3):147-61. [[Enlace](#)]

- Martínez-Ramos D, Escrig-Sos J, Miralles-Tena JM, Rivadulla-Serrano I, Salvador-Sanchís JL. Is there a minimum number of lymph nodes that should be examined after surgical resection of colorectal cancer? *Cir Esp*. 2008 Mar;83(3):108-17. [[Enlace](#)]
- Martínez Sánchez, G. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Rev Cubana Farm*. 2005; 39(3):1-11. [[Enlace](#)]
- Martins Tavares-Murta B, Candido Murta EF. Systemic leukocyte alterations in cancer and their relation to prognosis. *The Open Cancer Journal*. 2008 (2):53-8. [[Enlace](#)]
- Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005 Oct;16(10):577-86. [[Enlace](#)]
- Matkowskyj KA, Chen ZE, Rao MS, Yang GY. Dysplastic lesions in inflammatory bowel disease: molecular pathogenesis to morphology. *Arch Pathol Lab Med*. 2013 Mar;137(3):338-50. [[Enlace](#)]
- Matosevic P, Klepac-Pulanic T, Kinda E, Augustin G, Brcic I, Jakic-Razumovic J. Immunohistochemical expression of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in cytoplasm of tumour and adjacent normal mucosa cells in patients with colorectal cancer. *World J Surg Oncol*. 2015 Aug 7;13:241. [[Enlace](#)]
- Meguid R, Slidell M, Wolfgang C, Chang D, Ahuja N. Is there are difference in survival between right- versus left-sided colon cancers? *Ann Surg Oncol*. 2008;Sep15(9):2388-94. [[Enlace](#)]

- Meisenberg G, Simmons W. Metabolismo de los ácidos grasos y los triglicéridos. En: Principios de Bioquímica médica. 2018. 4ª edición. Barcelona: Elsevier.pp.429.
- Mena S, Ortega A, Estrela JM. Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutat Res*. 2009 Mar 31; 674(1-2):36-44. [\[Enlace\]](#)
- Menter DG, Tucker SC, Kopetz S, Sood AK, Crissman JD, Honn KV. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev*. 2014 Mar;33(1):231-69. [\[Enlace\]](#)
- Mesa-Cornejo VM, Barros-Núñez P, Medina-Lozano C. Metilación del ADN: marcador diagnóstico y pronóstico de cáncer. *Gac Med Mex*. 2006 Jan-Feb;142(1):81-2. [\[Enlace\]](#)
- Mesaros C, Arora JS, Wholer A, Vachani A, Blair IA. 8-Oxo-2'-deoxyguanosine as a biomarker of tobacco-smoking-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2012 Aug 1;53(3):610-7. [\[Enlace\]](#)
- Messerini L, Vitelli F, De Vitis LR, Mori S, Calzolari A, Palmirotta R, et al. Microsatellite instability in sporadic mucinous colorectal carcinomas: relationship to clinico-pathological variables. *J Pathol*. 1997 Aug;182 (4): 380-4. [\[Enlace\]](#)
- Meynard D, Le Morvan V, Bonnet J, Robert J. Functional analysis of the gene expression profiles of colorectal cancer cell lines in relation to oxaliplatin and cisplatin cytotoxicity. *Oncol Rep*. 2007 May;17(5):1213-21. [\[Enlace\]](#)

- Mik M, Berut M, Dziki L, Trzcinski R, Dziki A. Right- and left-sided colon cancer - clinical and pathological differences of the disease entity in one organ. Arch Med Sci. 2017 Feb 1;13(1):157-62. [[Enlace](#)]
- Milne GL, Dai Q, Roberts LJ. The isoprostanes-25 years later. Biochim Biophys Acta. 2015 Apr;1851(4):433-45. [[Enlace](#)]
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Informe del grupo de expertos sobre concreción de cartera común de servicios para cribado de cáncer. 2013.pp:20. [[Enlace](#)]
- Mirzaei AZ, Abdorrazaghi F, Lotfi M, Kazemi Nejad B, Shayanfar N. Prognostic Value of Lymph Node Ratio in Comparison to Lymph Node Metastases in Stage III Colon Cancer. Iran J Pathol. 2015 Spring;10 (2):127-35. [[Enlace](#)]
- Mitrovic B, Schaeffer DF, Riddell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. Mod Pathol. 2012 Oct;25 (10):1315-25. [[Enlace](#)]
- Mizoue T, Tokunaga S, Kasai H, Kawai K, Sato M, Kubo T. Body mass index and oxidative DNA damage: a longitudinal study. Cancer Sci. 2007 Aug;98(8):1254-8. [[Enlace](#)]
- Moghadamyeghaneh Z, Hanna MH, Carmichael JC, Mills SD, Pigazzi A, Stamos MJ. Preoperative leukocytosis in colorectal cancer patients. J Am Coll Surg. 2015 Jul;221(1):207-14. [[Enlace](#)]
- Molina Arias M, Ochoa Sangrador C. Errores en epidemiología. Errores sistemáticos. Factores de confusión y modificación del efecto. Evid Pediatr. 2016;12:16. [[Enlace](#)]

- Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ 2nd. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 2004 Dec; 18(15):1791-800. [[Enlace](#)]
- Monzó-Beltrán L, Vázquez-Tarragón A, Cerdá C, García-Pérez P, Iradi A, Sánchez C et al. *Redox Biol.* 2017 Aug;12:389-402. [[Enlace](#)]
- Morales C, Peinado MA. Implicaciones clínicas de la investigación básica. “Inestabilidad de microsatélites: papel diagnóstico e implicaciones pronósticas”. *GH CONTINUADA.* 2006 Enero-Febrero; 5(1):18-22. Difusión online: Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). [[Enlace](#)]
- Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu G, Shirouzu K, Kakegawa K, Irie K, et al. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancers. *Cancer.* 1989 Feb 1;63(3):539-43. [[Enlace](#)]
- Morrow JD. Quantification of isoprostanes as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Feb;25(2):279-86. [[Enlace](#)]
- Mousavi SR, Talebianfar M, Zeinalzadeh M, Saberi A, Kaviani A, Aminseresht M, Heidari A. Evaluation of preoperative elevation of serum c-reactive protein as an indicator for prognosis in colorectal cancer. *IJCP.* 2008;3:127-30. [[Enlace](#)]
- Munkholm P. Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003 Sep;18 Suppl 2:1-5. [[Enlace](#)]

- Muñoz Barabino CC, Sánchez García W. Valoración de los signos radiológicos más frecuentes relacionados con el cáncer colorrectal, obtenidos mediante la técnica de doble contraste. *Imagen Diagn.* 2010;1(1):7-13. [\[Enlace\]](#)
- Murdolo G, Piroddi M, Luchetti F, Tortoioli C, Canonico B, Zerbinati C, et al. Oxidative stress and lipid peroxidation by-products at the crossroad between adipose organ dysregulation and obesity-linked insulin resistance. *Biochimie.* 2013 Mar;95(3):585-94. [\[Enlace\]](#)
- Nagai H, Yuasa N, Takeuchi E, Miyake H, Yoshioka Y, Miyata K. The mean corpuscular volume as a prognostic factor for colorectal cancer. *Surg Today.* 2018 Feb;48(2):186-94. [\[Enlace\]](#)
- Nagasaki T, Hara M, Kazuyoshi S, Hiromitsu T. Relationship between inflammation and cancer progression: review of the recent advances in interleukin-6 signaling and its blockage in cancer therapy. *Receptors Clin Investig* 2014;1:e202. [\[Enlace\]](#)
- Nakabeppu Y. Cellular levels of 8-oxoguanine in either DNA or the nucleotide pool play pivotal roles in carcinogenesis and survival of cancer cells. *Int J Mol Sci.* 2014 Jul 15;15(7):12543-57. [\[Enlace\]](#)
- Nakad R, Schumacher B. DNA Damage response and immune defense: links and mechanisms. *Front Genet.* 2016 Aug 9;7(147):1-10. [\[Enlace\]](#)
- Navarro S, Pérez-Segura P, Ramón y Cajal S, Salazar R, García-Foncillas J, Musulén-Palet E, et al. Recomendación para la determinación de biomarcadores en el carcinoma colorrectal. Consenso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía

- Patológica y de la Sociedad Española de Oncología Médica. Rev Esp Patol. 2012; 45:130-44. [[Enlace](#)]
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. NCCN Guidelines version 2. 2018. [[Enlace](#)]
- Neugut AI, Garbowski GC, Wayne JD, Forde KA, Treat MR, Tsai JL et al. Diagnostic yield of colorectal neoplasia with colonoscopy for abdominal pain, change in bowel habits, and rectal bleeding. Am J Gastroenterol. 1993 Aug;88(8):1179-83. [[Enlace](#)]
- Nicholson BD, Shinkins B, Pathiraja I, Roberts NW, James TJ, Mallett S, et al. Blood CEA levels for detecting recurrent colorectal cancer. Cochrane Database Syst Rev. 2015. Dec 10;(12):CD011134. [[Enlace](#)]
- Nicolini A, Ferrari P, Duffy MJ, Antonelli A, Rossi G, Metelli MR, et al. Intensive risk-adjusted follow-up with the CEA, TPA, CA19.9, and CA72.4 tumor marker panel and abdominal ultrasonography to diagnose operable colorectal cancer recurrences: effect on survival. Arch Surg. 2010 Dec;145(12):1177-83. [[Enlace](#)]
- Nikberg M, Chabok A, Letocha H, Kindler C, Glimelius B, Smedh K. Lymphovascular and perineural invasion in stage II rectal cancer: a report from the Swedish colorectal cancer registry. Acta Oncol. 2016 Dec;55(12):1418-24. [[Enlace](#)]
- Nikiteas NI, Tzanakis N, Gazouli M, Rallis G, Daniilidis K, Theodoropoulos G, et al. Serum IL-6, TNF alpha and CRP levels in Greek colorectal cancer patients: prognostic implications. World J Gastroenterol. 2005 Mar 21;11(11): 1639-43. [[Enlace](#)]

- Nikpour S, Asgari A. Colonoscopic evaluation of minimal rectal bleeding in average-risk patients for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2008 Nov 14;14(42):6536-40. [[Enlace](#)]
- Oberreuther-Moschner DL, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. Basal colon crypt cells are more sensitive than surface cells toward hydrogen peroxide, a factor of oxidative stress. *Toxicol Lett*. 2005 Dec 15;159(3):212-8. [[Enlace](#)]
- Observatorio del Cáncer AECC. 2018. [[Enlace](#)]
- Obtulowicz T, Swoboda M, Speina E, Gackowski D, Rozalski R, Siomek A, et al. Oxidative stress and 8-oxoguanine repair are enhanced in colon adenoma and carcinoma patients. *Mutagenesis*. 2010 Sep;25(5):463-71. [[Enlace](#)]
- Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut*. 2009 Jan;58(1):90-6. [[Enlace](#)]
- Oh TY, Moon SM, Shin US, Lee HR, Park SH. Impact on Prognosis of Lymph Node Micrometastasis and Isolated Tumor Cells in Stage II Colorectal Cancer. *J Korean Soc Coloproctol*. 2011 Apr; 27(2):71-7. [[Enlace](#)]
- Oliva MR, Ripoll F, Muñoz P, Iradi A, Trullenque R, Valls V, Drehmer E, Sáez Tormo G. Genetic alterations and oxidative metabolism in sporadic colorectal tumors from a Spanish community. *Mol Carcinog*. 1997 Apr;18(4):232-43. [[Enlace](#)]
- Oltedal S, Kørner H, Aasprong OG, Hussain I, Tjensvoll K, Smaaland R, et al. The Prognostic Relevance of Sentinel Lymph Node

Metastases Assessed by PHGR1 mRNA Quantification in Stage I to III Colon Cancer. *Transl Oncol.* 2018 Apr;11(2):436-43. [[Enlace](#)]

Oltra AM, Carbonell F, Tormos C, Iradi A, Sáez GT. Antioxidant enzyme activities and the production of MDA and 8-oxo-dG in chronic lymphocytic leukemia. *Free Radic Biol Med.* 2001 Jun 1;30(11):1286-92. [[Enlace](#)]

OMS 2011. Nuevas orientaciones sobre actividad física podrían reducir el riesgo de los cánceres de mama y colon. [[Enlace](#)]

OMS 2018. Cáncer. [[Enlace](#)]

OMS 2018. Cancer. Key facts. [[Enlace](#)]

Oncoguía del Cáncer colorrectal de la Comunidad Valenciana, DGSP 2007. [[Enlace](#)]

Oncoguía de colon y recto. Guías de práctica clínica en cáncer de Cataluña. Actualización 2008. [[Enlace](#)]

OncoSur 2009. [[Enlace](#)]

Oré R, Valdivieso R, Suárez S, Huerta D, Núñez M, Durand J. Marcadores de estrés oxidativo en hipertensión leve. *An Fac Med Lima* 2007;68 (4):351-5. [[Enlace](#)]

Ozdemir Y, Akin ML, Sucullu I, Balta AZ, Yucel E. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic aid in colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(6):2647-50. [[Enlace](#)]

Pajares JA, Perea J. Multiple primary colorectal cancer: Individual or familial predisposition? *World J Gastrointest Oncol.* 2015 Dec 15;7 (12):434-44. [[Enlace](#)]

- Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress tests: overview on reliability and use. Part I. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2007 Sep-Oct;11(5):309-42. [[Enlace](#)]
- Parajuli R, Bjerkaas E, Tverdal A, Selmer R, Le Marchand L, Weiderpass E, et al. The increased risk of colon cancer due to cigarette smoking may be greater in women than men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013 May;22(5):862-71. [[Enlace](#)]
- Pathak S, Nunes QM, Daniels IR, Smart NJ. Is C-reactive protein useful in prognostication for colorectal cancer? A systematic review. *Colorectal Dis*. 2014 Oct;16(10):769-76. [[Enlace](#)]
- Payá Romá A, Alenda González C, Jover Martínez R, Aranda López FI. Carcinoma colorrectal con alteración de la vía reparadora. Claves para su identificación y relevancia clínica. *Rev Esp Patol* 2006;39:201-8. [[Enlace](#)]
- Pedrazzani C, Mantovani G, Salvagno GL, Baldiotti E, Ruzzenente A, Iacono C, et al. Elevated fibrinogen plasma level is not an independent predictor of poor prognosis in a large cohort of Western patients undergoing surgery for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2016 Dec 7;22(45):9994-10001. [[Enlace](#)]
- Peng X, Shi J, Sun W, Ruan X, Guo Y, Zhao L, et al. Genetic polymorphisms of IL-6 promoter in cancer susceptibility and prognosis: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2018 Jan 5;9(15):12351-64. [[Enlace](#)]
- Pérez Gastel PL, Pérez de Alejo JL. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2000; 29(3):192-8. [[Enlace](#)]

- Pérez Surribas D. Proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro. *Quím Clín.* 2005; 24 (1):5-40. [[Enlace](#)]
- Perše, M. Physical activity, dietary fat and colorectal cancer. En: R. Ettarh editor. *Colorectal Cancer: From Prevention to Patient Care.* Rijeka (Croatia): InTech; 2012.p.103–22. [[Enlace](#)]
- Perše M. Oxidative stress in the pathogenesis of colorectal cancer: cause or consequence? *Biomed Res Int.* 2013;2013:725710. [[Enlace](#)]
- Perše M, Injac R, Strukelj B, Cerar A. Effects of high-fat mixed-lipid diet and exercise on the antioxidant system in skeletal and cardiac muscles of rats with colon carcinoma. *Pharmacol Rep.* 2009 Sep-Oct;61(5):909-16. [[Enlace](#)]
- Peto J. Cancer epidemiology in the last century and the next decade. *Nature.* 2001;411:390-5. [[Enlace](#)]
- Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015 Jun 5;97:55-74. [[Enlace](#)]
- Portalfitness.com [[Enlace](#)]
- Poulsen HE, Nadal LL, Broedbaek K, Nielsen PE, Weimann A. Detection and interpretation of 8-oxodG and 8-oxoGua in urine, plasma and cerebrospinal fluid. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Feb;1840(2):801-8. [[Enlace](#)]
- Poynter JN, Gruber SB, Higgins PD, Almog R, Bonner JD, Rennert HS, et al. Statins and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2005 May 26;352(21):2184-92. [[Enlace](#)]

- Prakash S, Tomaro-Duchesneau C, Saha S, Cantor A. The gut microbiota and human health with an emphasis on the use of microencapsulated bacterial cells. *J Biomed Biotechnol*. 2011 Jul; 2011(2):1-12. [[Enlace](#)]
- Protocolo cáncer colorrectal Junta de Andalucía 2013. [[Enlace](#)]
- Puchades Montesa MJ, González Rico MA, Solís Salguero MA, Torregrosa Maicas I, Tormos Muñoz MC, Sáez Tormo G et al. Estudio del estrés oxidativo en enfermedad renal avanzada. *Nefrología*. 2009;29(5):464-73. [[Enlace](#)]
- Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010 Apr 2;141(1):39-51. [[Enlace](#)]
- Radić N, Injac R, Djordjević A, Štrukelj B. Analysis of parameters significant for oxidative stress and cell injury. En: *The analysis of pharmacologically active compounds in biomolecules in real samples*. Kerala (India). Editores: Rade Injac. Editorial Transworld Research Network; 2009. pp.165–94. [[Enlace](#)]
- Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*. 2007;2(2):219-36. [[Enlace](#)]
- Rainis T, Maor I, Lanir A, Shnizer S, Lavy A. Enhanced oxidative stress and leucocyte activation in neoplastic tissues of the colon. *Dig Dis Sci*. 2007 Feb;52(2):526-30. [[Enlace](#)]
- Ramos Socarrás AE, Vallés Gamboa ME, Rodríguez Núñez JR, Neyra Rodríguez CM, Vargas La O FA. Tumor del estroma gastrointestinal. *Rev. Gastroenterol*. 2014 Jul; 34(3):237-41. [[Enlace](#)]

- Rao XD, Zhang H, Xu ZS, Cheng H, Shen W, Wang XP. Poor prognostic role of the pretreatment platelet counts in colorectal cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jun;97(23): e10831. [\[Enlace\]](#)
- Rasmussen S, Larsen PV, Søndergaard J, Elnegaard S, Svendsen RP, Jarbøl DE. Specific and non-specific symptoms of colorectal cancer and contact to general practice. *Fam Pract*. 2015 Aug; 32 (4):387-94. [\[Enlace\]](#)
- Rasool M, Malik A, Ghuman AA, Ashraf MAB, Arooj M, Waquar S, et al. Implications of isoprostanes and matrix metalloproteinase-7 having potential role in the development of colorectal cancer in males. *Front Oncol*. 2018 Jun 7;8:205. [\[Enlace\]](#)
- Reeg S, Grune T. Protein oxidation in aging: does it play a role in aging progression? *Antioxid Redox Signal*. 2015 Jul 20;23(3): 239-55. [\[Enlace\]](#)
- Reiter W, Stieber P, Reuter C, Nagel D, Lau-Werner U, Lamerz R. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2000 Nov-Dec; 20(6D): 5195-8. [\[Enlace\]](#)
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010 Dec 1;49(11):1603-16. [\[Enlace\]](#)
- Rodríguez Dorantes M, Téllez Ascencio N, Cerbón M A, López M, Cervantes A. Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Rev Invest Clín* 2004; Vol. 56(1):56-71. [\[Enlace\]](#)

- Rose-John S, Schooltink H. Cytokines are a therapeutic target for the prevention of inflammation-induced cancers. *Recent Results Cancer Res.* 2007;174:57-66. [[Enlace](#)]
- Roszkowski K, Jozwicki W, Blaszczyk P, Mucha-Malecka A, Siomek A. Oxidative damage DNA: 8-oxoGua and 8-oxodG as molecular markers of cancer. *Med Sci Monit.* 2011 Jun;17(6): CR329-33. [[Enlace](#)]
- Ruiz-Tovar J, Morales-Castiñeiras V, Lobo-Martínez E. Complicaciones posoperatorias de la cirugía colónica. *Cir Cir.* 2010;78:283-91. [[Enlace](#)]
- Sabiston DC. Colon y recto. Lesiones intermedias o precancerosas y lesiones malignas. En: *Tratado de Patología quirúrgica de Davis-Christopher*. Tomo 1. 11ª edición. Madrid: Editorial Interamericana Editora Importécnica, SA; 1980. pp:1071-80.
- Sáez Tormo G. Capítulo 7. Biopatología de los radicales libres. En: *Monografía XVIII. Mecanismos moleculares y neuroendocrinos del balance energético: Patologías*. Ana María Pascual Leone ed. Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid 2005. pp: 201-24. [[Enlace](#)]
- Sáez Tormo G, Valls V, Muñiz P, Perez-Broseta C, Iradi A, Oliva MR et al. The role of glutathione in protection against DNA damage induced by rifamycin SV and copper (II) ions. *Free Radic Res Commun.* 1993;19(2):81-92. [[Enlace](#)]
- Salaverry O. La etimología del cáncer y su curioso curso histórico. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2013;30(1):137-41. [[Enlace](#)]

- Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur Mex. Julio-Septiembre 2013; 20 (3):161-8. [\[Enlace\]](#)
- Saygili EI, Akcay T, Konukoglu D, Papilla C. Glutathione and glutathione-related enzymes in colorectal cancer patients. J Toxicol Environ Health A. 2003 Mar 14;66(5):411-5. [\[Enlace\]](#)
- Scheele C, Nielsen S, Pedersen BK. ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. Trends Endocrinol Metab. 2009 Apr;20(3):95-9. [\[Enlace\]](#)
- Schwingshackl L, Schwedhelm C, Galbete C, Hoffmann G. Adherence to mediterranean diet and risk of cancer: an updated systematic review and meta-analysis. Nutrients. 2017;9(10). pii: E1063. [\[Enlace\]](#)
- Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. Nat Rev Cancer. 2007;7:599–612. [\[Enlace\]](#)
- Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. In: Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy 2011. Washington: Oxford University Press, Inc. Chemical Society. ACS Publications. Chapter 1, pp:1-37. [\[Enlace\]](#)
- SEOM 2017. Consejo genético. [\[Enlace\]](#)
- SEOM 2017. Avances en cancer colorrectal. [\[Enlace\]](#)
- SEOM 2019. El colon y el recto [\[Enlace\]](#)
- SEOM 2019. Las cifras del cáncer en España 2019. [\[Enlace\]](#)
- Serbanescu GL, Gruia MI, Bara M, Anghel RM. The evaluation of the oxidative stress for patients receiving neoadjuvant

- chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *J Med Life*. 2017 Jan-Mar;10(1):99-103. [[Enlace](#)]
- Servei d'Estudis Epidemiològics i d'Estadístiques Sanitàries. Direcció General de Salut Pública (DGSP) de València. 2018.
- Sharma S. Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines. *Indian J Med Paediatr Oncol*.2009 Jan-Mar;30(1):1-8. [[Enlace](#)]
- Sharma VK, Nguyen CC. Colonoscopy detected colon polyps better than air-contrast barium enema or computed tomographic colonography. *ACP J Club*. 2005 Jul-Aug;143(1):22. [[Enlace](#)]
- Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J*. 2001 Nov 15;360(Pt 1):1-16. [[Enlace](#)]
- Shringarpure R, Davies KJ. Protein turnover by the proteasome in aging and disease. *Free Radic Biol Med*. 2002 Jun 1;32(11):1084-9. [[Enlace](#)]
- Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017 May 6;67(3):177-93. [[Enlace](#)]
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am Med*. 1991 Sep 30;91(3C):31S-38S. [[Enlace](#)]
- Sies H. Reactive Oxygen Species. En: *Oxidative stress*. London. Academic Press. 1985. pp:507.
- Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem*. 1993 Jul 15;215 (2):213-9. [[Enlace](#)]

- Simon K. Colorectal cancer development and advances in screening. Clin Interv Aging. 2016 Jul 19;11:967-76. [[Enlace](#)]
- Simons CC, Schouten LJ, Weijenberg MP, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Bowel movement and constipation frequencies and the risk of colorectal cancer among men in the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. Am J Epidemiol. 2010 Dec 15; 172(12):1404-14. [[Enlace](#)]
- Skrzydłewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, Kanczuga-Koda L, Sulkowska M. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2005 Jan 21;11(3):403-6. [[Enlace](#)]
- Sobhani I, Tiret E, Lebtahi R, Aparicio T, Itti E, Montravers et al. Early detection of recurrence by <sup>18</sup>FDG-PET in the follow-up of patients with colorectal cancer. Br J Cancer. 2008 Mar 11;98(5): 875-80. [[Enlace](#)]
- Solovera ME, Cheyre JE, Vecchiola A, Celis P, Sandoval P, Borzone G. Pérdida de glutation desde pulmones de conejo en solución de preservación para trasplante. Efectos clínicos y funcionales a corto plazo. Rev Chil Enf Respir 2009; 25:164-9. [[Enlace](#)]
- Sosna J, Sella T, Sy O, Lavin PT, Eliahou R, Fraifeld S, et al. Critical analysis of the performance of double-contrast barium enema for detecting colorectal polyps > or = 6 mm in the era of CT colonography. AJR Am J Roentgenol. 2008 Feb;190(2):374-85. [[Enlace](#)]
- Stadtman ER. Protein oxidation and aging. Free Radic Res. 2006 Dec;40 (12):1250-8. [[Enlace](#)]

- Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab Rev.* 1998 May;30(2):225-43. [[Enlace](#)]
- Stiksma J, Grootendorst DC, Van der Linden PW. CA 19-9 as a marker in addition to CEA to monitor colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2014 Dec;13(4):239-44. [[Enlace](#)]
- Stojsavljević S, Jukić V, Kralj D, Duvnjak M. The relationship between insulin resistance and colon cancer. *Endocrine Oncology and Metabolism.* 2016 March: 24-33. [[Enlace](#)]
- Stone WL, Krishnan K, Campbell SE, Palau VE. The role of antioxidants and pro-oxidants in colon cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2014 Mar 15;6(3):55-66. [[Enlace](#)]
- Storniolo CE, Casillas R, Bulló M, Castañer O, Ros E, Sáez Tormo G, et al. A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *Eur J Nutr.* 2017 Feb; 56(1):89-97. [[Enlace](#)]
- Sun Z, Wang F, Zhou Q, Yang S, Sun X, Wang G, et al. Pre-operative to post-operative serum carcinoembryonic antigen ratio is a prognostic indicator in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017 May 17;8(33):54672-82. [[Enlace](#)]
- Sun ZQ, Han XN, Wang HJ, Tang Y, Zhao ZL, Qu YL et al. Prognostic significance of preoperative fibrinogen in patients with colon cancer. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 14;20(26):8583-91. [[Enlace](#)]

- Tanaka M, Hashiguchi Y, Ueno H, Hase K , Mochizuki H. Tumor budding at the invasive margin can predict patients at high risk of recurrence after curative surgery for stage II, T3 colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2003 Aug;46(8):1054-9. [[Enlace](#)]
- Terman A, Brunk UT. Oxidative stress, accumulation of biological «garbage», and aging. *Antioxid. Redox Signal*. 2006 Feb;8(1-2):197–204. [[Enlace](#)]
- Tingting H, Di S, Xiaoping C, Xiaohong W, Dong H. High. Preoperative serum ferritin predicted poor prognosis in non-metastatic colorectal cancer. *Saudi Med J*. 2017 Mar;38(3):268-75. [[Enlace](#)]
- Todoric J, Antonucci L, Karin M. Targeting Inflammation in Cancer Prevention and Therapy. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2016 Dec;9(12):895-905. [[Enlace](#)]
- Tomasovic H, Vucicevic V, Filipovic M. Correlation between preoperative and postoperative anemia with disease outcome in patients with gastrointestinal cancers. *EC Gastroenterology and Digestive System* 5.7 2018:497-502. [[Enlace](#)]
- Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD, Huang P. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008 Aug;10(8):1343-74. [[Enlace](#)]
- Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med*. 2003 Jun 26;348(26):2599-608. [[Enlace](#)]
- Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocké MC, Peeters PH et al. Modified Mediterranean diet and survival:

- EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ*. 2005 Apr 30;330(7498):991. [[Enlace](#)]
- Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E et al. Diet and overall survival in elderly people. *BMJ*. 1995 Dec 2;311(7018):1457-60. [[Enlace](#)]
- Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *CA Cancer J Clin*. 1968 Mar-Apr;18(2):82-7. [[Enlace](#)]
- Uno K, Okuno K, Kato T, Tada-Oikawa S, Kan N, Saotome H, et al. Pre-operative intracellular glutathione levels of peripheral monocytes as a biomarker to predict survival of colorectal cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2010 Oct;59(10):1457-65. [[Enlace](#)]
- Uribarrena-Amezaga R, Ortego J, Fuentes J, Raventós N, Parra P, Uribarrena-Echevarría R. Prognostic value of lymph node micrometastasis in patients with colorectal cancer in Dukes stages A and B (T1-T4, N0, M0). *Rev Esp Enferm Dig*. 2010 Mar;102(3):176-86. [[Enlace](#)]
- Uribe-Querol E, Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two sides of the same coin. *J Immunol Res*. 2015;2015:983698. [[Enlace](#)]
- Urrejola GI, Bambs CE, Espinoza MA, Gellona J, Zúñiga AM, Molina ME, et al. Un índice neutrófilo/linfocito elevado se asocia a peor pronóstico en cáncer de colon etapa II resecado. *Rev Med Chil*. 2013 May;141(5):602-8. [[Enlace](#)]
- US Preventive Services Task Force. Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, García FAR, et al.

Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA. 2016 Jun 21;315(23):2564-75. [[Enlace](#)]

U.S. Preventive Task Force. Screening for colorectal cancer: recommendation and rationale. Ann Intern Med 2002;137:129-31. [[Enlace](#)]

Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2009 Apr;27 (2):120-39. [[Enlace](#)]

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):44-84. [[Enlace](#)]

Van der Logt EM, Roelofs HM, Wobbes T, Nagengast FM, Peters WH. High oxygen radical production in patients with sporadic colorectal cancer. Free Radic Biol Med. 2005 Jul 15; 39 (2):182-7. [[Enlace](#)]

Väyrynen JP, Tuomisto A, Väyrynen SA, Klintrup K, Karhu T, Mäkelä J. Preoperative anemia in colorectal cancer: relationships with tumor characteristics, systemic inflammation, and survival. Sci Rep. 2018 Jan 18;8(1):1126. [[Enlace](#)]

Veljković A, Stanojević G, Branković B, Pavlović D, Stojanović I, Cvetković T, et al. Parameters of oxidative stress in colon cancer tissue. Acta Med Median. 2016; Vol 55(3):32-7. [[Enlace](#)]

- Veni GK, Usha B, D. M Kumar, and Rao TR. Alterations in serum sod and cat levels in patients with breast cancer. J Exp Sci. 2011; 2(2):58-60. [\[Enlace\]](#)
- Victor VM, Rocha M, Bañuls C, Alvarez A, de Pablo C, Sanchez-Serrano M, et al. Induction of oxidative stress and human leukocyte/endothelial cell interactions in polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab. 2011 Oct;96(10):3115-22. [\[Enlace\]](#)
- Viñes JJ, Ardanaz E, Arrazola A, Gaminde I. Epidemiología poblacional de cáncer colorrectal: revisión de la causalidad. An Sist Sanit Navar. 2003 Jan-Apr;26(1):79-97. [\[Enlace\]](#)
- Vogel JD, Eskicioglu C, Weiser MR, Feingold DL, Steele SR. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the treatment of colon cancer. Dis Colon Rectum. 2017 Oct;60(10):999-1017. [\[Enlace\]](#)
- Wahlqvist ML. Antioxidant relevance to human health. Asia Pac J Clin Nutr. 2013;22(2):171-6. [\[Enlace\]](#)
- Waldner MJ, Foersch S, Neurath MF. Interleukin-6--a key regulator of colorectal cancer development. Int J Biol Sci. 2012;8 (9):1248-53. [\[Enlace\]](#)
- Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. J Surg Oncol. 2005 Sep 1;91(3):181-4. [\[Enlace\]](#)
- Wang J, Yi J. Cancer cell killing via ROS: to increase or decrease, that is the question. Cancer Biol Ther. 2008 Dec;7 (12):1875-84. [\[Enlace\]](#)

- Wang SW, Sun YM. The IL-6/JAK/STAT3 pathway: potential therapeutic strategies in treating colorectal cancer (Review). *Int J Oncol.* 2014 Apr; 44(4):1032-40. [[Enlace](#)]
- Wielandt AM, Zárate A J, Hurtado C, Orellana P, Álvarez K, Pinto E et al. Síndrome de Lynch: selección de pacientes para el estudio genético mediante análisis de inestabilidad microsatelital e inmunohistoquímica. *Rev. Méd. Chile.* 2012 Sep;140(9):1132-9. [[Enlace](#)]
- Williams K, Sobol RW. Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis: special issue: DNA repair and genetic instability. *Mutat Res.* 2013 Mar-Apr;743-744:1-3. [[Enlace](#)]
- Wilson MJ, Dekker JWT, Harlaar JJ, Jeekel J, Schipperus M, Zwaginga JJ. The role of preoperative iron deficiency in colorectal cancer patients: prevalence and treatment. *Int J Colorectal Dis.* 2017 Nov;32(11):1617-24. [[Enlace](#)]
- Winkels RM, Heine-Bröring RC, van Zutphen M, van Harten-Gerritsen S, Kok DE, van Duijnhoven FJ, et al. The COLON study: Colorectal cancer: Longitudinal, Observational study on Nutritional and lifestyle factors that may influence colorectal tumour recurrence, survival and quality of life. *BMC Cancer.* 2014 May 27;14:374. [[Enlace](#)]
- Wolmark N, Fisher ER, Wieand HS, Fisher B. The relationship of depth of penetration and tumor size to the number of positive nodes in Dukes C colorectal cancer. *Cancer.* 1984 Jun 15;53 (12):2707-12. [[Enlace](#)]

- Wu J, Cai Q, Li H, Cai H, Gao J, Yang G, et al., Circulating C-reactive protein and colorectal cancer risk: a report from the Shanghai Men's Health Study. *Carcinogenesis*. 2013 Dec;34(12):2799-803. [[Enlace](#)]
- Wünsch Filho V, Zago MA. Modern cancer epidemiological research: genetic polymorphisms and environment. *Rev Saude Publica*. 2005 Jun;39(3):490-7. [[Enlace](#)]
- Xiong Y, Wang K, Zhou H, Peng L, You, Fu Z1. Profiles of immune infiltration in colorectal cancer and their clinical significant: A gene expression-based study. *Cancer Med*. 2018 Sep;7(9):4496-508. [[Enlace](#)]
- Yahagi M, Okabayashi K, Hasegawa H, Tsuruta M, Kitagawa Y. The worse prognosis of right-sided compared with left-sided colon cancers: a systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Surg*. 2016 Mar;20 (3):648-55. [[Enlace](#)]
- Yakes FM, Van Houten B. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997 Jan 21;94(2):514-9. [[Enlace](#)]
- Yao Y, Suo T, Andersson R, Cao Y, Wang C, Lu J, Chui E. Dietary fibre for the prevention of recurrent colorectal adenomas and carcinomas. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jan 8;1:CD003430. [[Enlace](#)]
- Zare Mirzaei A, Abdorrazaghi F, Lotfi M, Kazemi Nejad B, Shayanfar N. Prognostic Value of Lymph Node Ratio in Comparison to

- Lymph Node Metastases in Stage III Colon Cancer. *Iran J Pathol.* 2015 Spring;10(2):127-35. [[Enlace](#)]
- Zeng J, Tang Z-H, Liu S, Guo S-S. Clinicopathological significance of overexpression of interleukin-6 in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2017;23(10):1780-6. [[Enlace](#)]
- Zhang SY, Lin M, Zhang HB. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen and carcinoma antigen 19-9 for colorectal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Aug 1;8(8): 9404-9. [[Enlace](#)]
- Zhang WY, Chen XX, Chen WH, Zhang H, Zou CL. Mean corpuscular volume as a predictive factor of response to preoperative chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Gastroenterol Res Pract.* 2018 Mar 18;2018:6976375. eCollection 2018. [[Enlace](#)]
- Zhu X, Cao Y, Lu P, Kang Y, Lin Z, Hao T, Song Y. Evaluation of platelet indices as diagnostic biomarkers for colorectal cancer. *Sci Rep.* 2018 Aug 7;8(1):11814. [[Enlace](#)]



