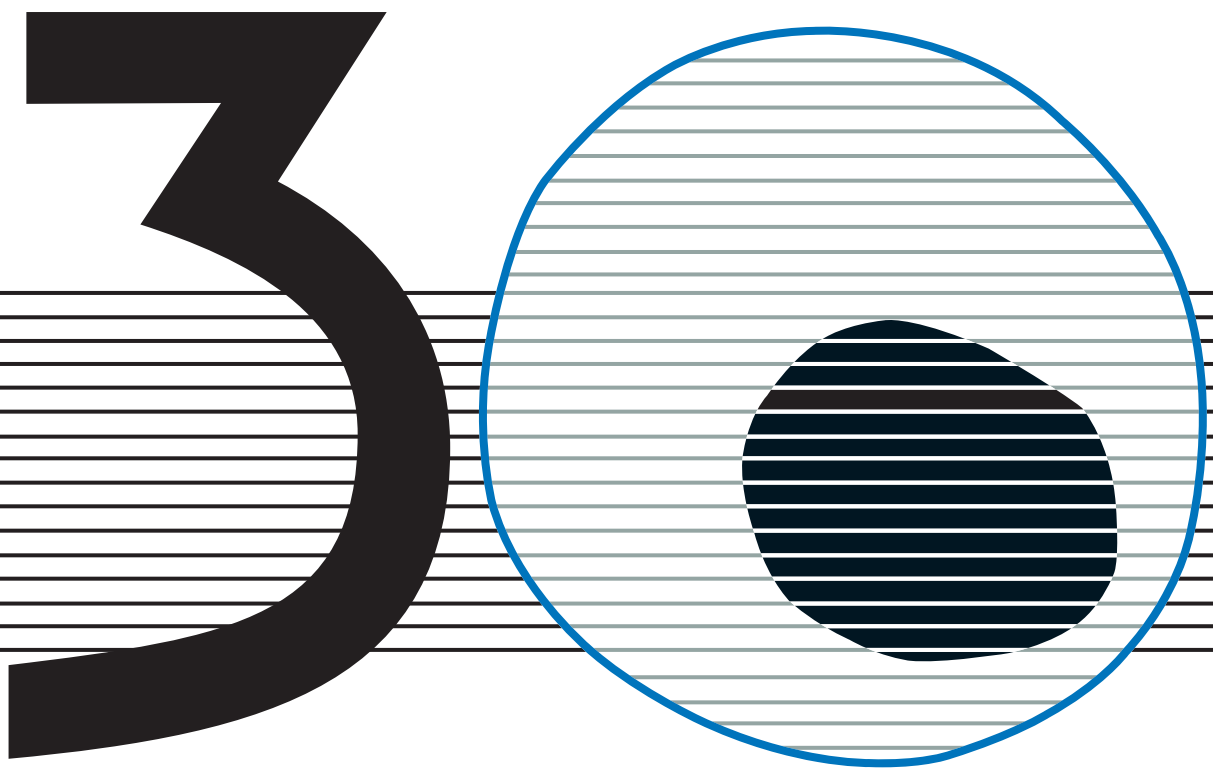


revisiones en

# CÁNCER

CÁNCER COLORRECTAL II

VOL. 31. NÚM. 3, 2017



A Ñ O S

revisiones en

---

# CÁNCER

## SUMARIO

**VOL. 31**

**NÚM. 3**

Biopsia líquida en el cáncer colorrectal A. Herrero Heras, J. García-Foncillas	93
Grupo de Tratamiento de los Tumores Digestivos (TTD) E. Aranda	105
Tratamiento médico del cáncer de colon en estadio II A. Noguerido, I. Matos, J. Capdevila	112
Primera línea de tratamiento del cáncer colorrectal metastásico M. J. Safont Aguilera, M. Gil Raga	122
Cáncer colorrectal metastásico refractario P. García Alfonso, G. García González, I. Gallego Gallego	131

revisiones en

---

# CÁNCER

## SUMMARY

**VOL. 31**

**No. 3**

Liquid biopsy in colorectal cancer A. Herrero Heras, J. García-Foncillas	93
The Spanish Cooperative Group for Digestive Tumor Therapy (TTD) E. Aranda	105
Medical treatment of stage II colon cancer A. Noguerido, I. Matos, J. Capdevila	112
First line of metastatic colorectal cancer treatment M. J. Safont Aguilera, M. Gil Raga	122
Refractory colorectal cancer P. García Alfonso, G. García González, I. Gallego Gallego	131

# Liquid biopsy in colorectal cancer

A. HERRERO HERAS, J. GARCÍA-FONCILLAS

*OncoHealth Institute. Fundación Jiménez Díaz. Madrid*

## ABSTRACT

*Colorectal cancer is a major health problem worldwide. When detected in time, colorectal cancer usually can be cured by surgical excision. Unfortunately, when diagnosed at late stages, the prognosis remains hapless. Tumor heterogeneity is difficult to quantify in traditional biopsies, as well as detect genomic resistance to treatment. To overcome these issues, new approaches that include circulating tumor cells and circulating tumor DNA detection in plasma are under investigation to elucidate their use as a surrogate for tumor biopsy. Several studies situate “liquid biopsy” as a potential serum biomarker for screening and diagnosis of colorectal cancer. Its prognostic and predictive competence has been explored. Published results support liquid biopsy as a reliable marker of survival and its usefulness for monitoring tumor resistance to treatment. In addition to circulating tumor cells and circulating tumor DNA, circulating exosomes might become promising candidates as novel biomarkers. Future assays should focus on interventional studies to demonstrate the clinical utility of liquid biopsy.*

**KEY WORDS:** *Colorectal cancer. Liquid biopsy. Circulating tumor cells. Circulating tumor DNA. Biomarker. Prognostic. Exosomes.*

## INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is among the most common cancers worldwide and is one of the leading causes of death caused by occurrence and outgrowth of metastases at distant organs (1). In patients with early stage, prognosis depends on clinic-pathologic factors such as poor differentiation, depth of tumor invasion, regional lymph nodes metastasis, vascular invasion,

## RESUMEN

El cáncer colorrectal supone un problema a nivel mundial. Cuando se detecta a tiempo, puede frecuentemente curarse con la cirugía. Por desgracia cuando se detecta en estadios avanzados, el pronóstico es ominoso. Es difícil cuantificar la heterogeneidad tumoral mediante las biopsias tradicionales, así como también lo es detectar resistencias genómicas al tratamiento. Para afrontar estas cuestiones, nuevas estrategias como son la detección de células tumorales circulantes o el ADN tumoral circulante en plasma se están investigando. Diversos estudios sitúan la “biopsia líquida” como un potencial biomarcador en suero para el screening y diagnóstico del cáncer colorrectal. Su valor pronóstico y predictivo ha sido evaluado. Los estudios publicados sostienen que la biopsia líquida es un marcador fiable de supervivencia y demuestran su utilidad para monitorizar resistencias tumorales al tratamiento. A parte de las células tumorales circulantes y el ADN tumoral circulante, los exosomas circulantes podrían ser prometedores candidatos como nuevos biomarcadores. Futuros análisis deberían centrarse en estudios intervencionales que demuestren la utilidad de la biopsia líquida.

**PALABRAS CLAVE:** *Cáncer colorrectal. Biopsia líquida. Células tumorales circulantes. ADN tumoral circulante. Biomarcador. Pronóstico. Exosomas.*

perineural invasion, perforation, intestinal obstruction or serum tumor biomarkers (2). Little is known about predictive factors. In stage II MSI-H patients may have a good prognosis and do not benefit from 5-fu adjuvant therapy (3). Several multigene assays have been developed in order to provide prognostic information in stage II or III of colon cancer; however, the lack of evidence does not allow their recommendation as a predictive tool (4,5).

The development of CRC is the result of the accumulation of several genetic alterations. It is well known that mutations in KRAS, NRAS, BRAF and PI3K genes contribute in the CRC carcinogenesis process (6). In the context of metastatic colorectal cancer, patients with mutations in codon 12 or 13 of exon 2 of the KRAS gene, among other mutations outside of exon 2 gene, and in NRAS gene, do not benefit from monoclonal antibodies against epidermal growth factor receptor (EGFR), such as cetuximab and panitumumab (7,8). The sidedness of the primary tumor is also considered as a prognostic factor and predictive of response to EGFR inhibitors (9).

“Liquid biopsy” refers to the noninvasive analysis of circulating tumor cells (CTCs) and cell-free circulating tumor DNA (ctDNA) in peripheral blood. Since in 1869 Ashworth made the first reference to CTCs in a death man (10), many studies have been developed in the last decades in order to achieve a better knowledge of the genome tumor in “real time”, addressed to obtain more accurate prognostic information and to design tailored treatments in each situation of the disease.

#### CIRCULATING TUMOR CELLS

It is supposed that metastases are initiated by the invasion of tumor cells into the bloodstream. Tumor cells may escape from the original tumor led by chemokines through the vasculature (11) and by tumor induced angiogenesis (12). Tumor cells go through transcriptional changes, lose their intercellular adhesion and other epithelial markers such as EpCAM and cytokeratins (CK) and acquire mesenchymal features that facilitates tumor cells the ability to enter into new tissues through extravasation. This phenomenon has been called Epithelial mesenchymal transition (EMT) (13).

The molecular analysis of CTCs revealed information about genotype and phenotype of these tumor cells and showed a significant heterogeneity among them (14). There are multiple potential benefits that CTCs study may offer. It could represent the characteristics of the primary tumor, therefore biopsy of the primary tumor may be suppressed. In early-stage, could be used as a diagnostic analytic tool and may offer prognostic and predictive information. On the other hand, in advanced CRC analysis of CTC could inform of the characteristic of the tumor in real time, therefore both monitoring response and resistance to treatment might be used to treatment decision making.

To date the prognostic value of CTCs has been best demonstrated in breast, prostate, lung and colon cancer (15-18). However, few prospective clinical studies have shown a prognostic and predictive value of CTCs in CRC.

#### METHODS FOR CTC DETECTION

The study of CTCs is hampered by the short time in bloodstream, only 1-2.4 hours of half-life and because few CTCs are found in peripheral blood, occurring approximately at less than 1 CTC per million leukocytes (19). To analyze CTCs and distinguish them from hematologic and epithelial normal cells, first of all the CTCs are subjected to an enrichment step that increases the concentration of CTCs on the basis of physical properties (size, density, deformability or bioelectric properties) or biologic characteristics (i.e. protein markers). Then, CTCs can be detected by functional, immunologic or functional assays (20). Due to the very low concentration of CTCs, it has been tried to expand them in cell culture systems for functional analysis. However the amount of CTCs required to achieve these kind of *in vivo* assays limits this approach to few patients (21).

#### ENRICHMENT TECHNIQUES

Enrichment of CTCs can be performed based on physical properties. Epithelial tumor cells size is considered to be  $> 8 \mu\text{m}$  and less deformable than haematopoietic cells. ISET (isolation by size of epithelial tumor cells) consist of filters with pores of this size which retains the tumor cells that are larger than leukocytes. This technique may preserve cell viability, but larger leukocytes may be included in the process and smaller tumor cells may be lost (22). Other techniques have employed the low density of the cells,  $< 1,007 \text{ g/ml}$ , to isolate them from the rest by density gradient (OncoQuick, Ficoll-Hypaque) (23). Based on that different types of cells could have different dielectrophoresis behaviours, under a particular medium conductivity, CTC can be enriched (24). However, these techniques lack of high specificity and sensitivity, therefore new approaches are being investigated as photoacoustic flow cytometry (PAFC) and photothermal scanning cytometry (25).

The most popular enrichment methods are based on immunomagnetic techniques, depending on the expression of protein markers, and some of them also incorporate identification techniques (Table I). Epithelial cells express cytokeratins (CKs) and a transmembrane protein called EpCAM (epithelial cell adhesion molecule). In contrast, blood cells do not express these epithelial markers. Considering these biological properties, immunological procedures allow to isolate CTCs with antibodies against tumor associated antigens (positive selection) or by the depletion of leukocytes antigen CD45+ (Negative selection). Immuno-based separation techniques are the preferred ones as CTCs can be directly visualized and quantified without requiring cell lysis. However, two principal's drawbacks may lead to bias when using these assays. Epithelial markers are expressed both in normal cells and CTCs, which

might contribute to false positive findings unless a more accurate technique is used (26). Additionally, EpCAM expression may be downregulated as a consequence of epithelial-mesenchymal transition; therefore many CTCs might not be detected. Thus, mesenchymal markers upregulated during EMT on CTCs as N-cadherin and Vimentin are used to detect mesenchymal CTCs (27). Actin bundling protein plastin 3 is expressed both in epithelial and mesenchymal cells, but not in blood cells and could be an optimal marker of CTCs as is not downregulated during EMT process. It also has been demonstrated to be a prognostic factor in CRCb (28).

Combination assays using physical and biological tumor properties has been described. As an example, CTC-iChip is a technology that use a combination of size-based hydrodynamic cell sorting and immunomagnetic selection, with a marker free approach, so this method has the advantage of avoiding the loss of epithelial antigens during EMT (38). In that way, CanPatrol CTC enrichment technique is able to classify CTCs using EMT markers. This technology combines a filter-based method to isolate CTCs by size, and then detect by RNA in situ hybridization (RNA-ISH) the CTCs using EMT markers, including both epithelial (EpCAM, CK) and mesenchymal markers (Vimentin, Twist). As mesenchymal CTCs were more commonly found in patients in the advanced stages than in earlier cancer stages. This method of classification may identify the more aggressive CTC subpopulation (39).

#### IDENTIFICATION TECHNIQUES

The most commonly used identification techniques among researchers are Immunocytochemistry assays, probably due to the cell preservation which enables for further molecular analysis (40). Among the commercial methods which incorporate enrichment and detection technology are those already commented, CellSearch (Veridex) and CTC-chip are the most studied. CellSearch is the most frequently used system and at present the only one cleared by the FDA (41,42) RT-PCR analysis is the most sensitive method, however its use is second preferred since the integrity of the cells cannot be preserved. A combination of different genes should be used to improve the specificity of RT-PCR for reliable CTC detection (40) (Table II).

A drawback of both immunocytochemistry and RT-PCR is the fact that these technologies are usually unable to distinguish between viable and apoptotic cells. Functional assays allow to discover the biology of CTCs, in particular, metastasis initiator cells. Among them, the epithelial immunospot (EPISPOT) assay detects tumor-specific proteins actively secreted from CTCs, which allows the detection of only viable tumor cells. Previously depletion of CD45+ cells and 48 hours culture is required before the analysis (45). A study led by Denève et al., applied two enrichment

methods: EPISPOT assay and Cellsearch in localized and metastatic CRC patients. Significantly more CTCs in the mesenteric blood compared with the peripheral blood was seen with both assays. EPISPOT detected more CTCs than CellSearch both in bloodstream and mesenteric blood. Nevertheless, larger and well-designed studies are needed to consolidate these findings (46). One other functional *in vitro* assay explores the ability of CTCs to digest a fluorescently labelled cell adhesion matrix after isolation of CTCs (47).

More assay validation studies are needed to standardize reproducibility of these technologies before introduce them into clinical use.

#### CIRCULATING TUMOR CELLS IN METASTATIC COLORECTAL CANCER. PROGNOSTIC FACTOR

Several studies have indicated that the presence of CTCs in peripheral blood is an indicator of poor prognostic (48). However, the heterogeneity between the studies, including different detection methods and different study designs must be taken into account. Huang et al. published the first meta-analysis of studies that associate CRC prognosis and CellSearch System as exclusive diagnostic method of CTCs. Eleven studies with 1847 eligible patients with CRC were analyzed. Levels of CTCs were significantly related to overall survival (HR = 2.00, 95% CI [1.49, 2.69],  $p < 0.01$ ,  $I^2 = 67.1%$ ) and progression-free survival (HR = 1.80, 95% CI [1.52, 2.13],  $p < 0.01$ ,  $I^2 = 43.9%$ ) regardless of the point at which the sample was taken (49).

The prognostic value of CTCs in colorectal cancer has been evaluated in a multicenter phase III trial of 755 patients with metastatic colorectal cancer (CAIRO2), who received first-line treatment with capecitabine, oxaliplatin, bevacizumab or the same treatment regimen with Cetuximab. Levels of CTCs were evaluated with CellSearch system at baseline, and at different time points during treatment. Cutoff of CTCs defined as low or high CTCs was established when less than three CTC per 7.5 ml of blood and three or more CTC per 7.5 ml respectively. 467 patients were assessed. CTCs level before and during treatment showed to be an independent predictive factor of PFS and OS in CRC patients, and combined with CT imaging proved to be a better evaluation method than both techniques separately (50). TTD Macro study was designed to evaluate which maintenance treatment schedule in metastatic colorectal cancer patients was the most appropriate after six cycles of treatment with oxaliplatin, capecitabine (XELOX) and bevacizumab. Results suggested that maintenance therapy with single-agent bevacizumab may be an appropriate treatment option compared with XELOX plus bevacizumab maintenance. An ancillary study demonstrated the prognostic value of CTCs count in terms of PFS (12 vs. 7.8 months for  $< 3$  vs.  $\geq 3$  CTCs,  $p = 0.0002$ ) and OS (25.6 vs. 16.6 months for  $< 3$  vs.  $\geq 3$  CTCs,  $p = 0.0017$ ) at baseline and after three cycles of treatment (51).

TABLE I  
ENRICHMENT TECHNIQUES

<i>Assay system</i>	<i>Characteristics</i>	<i>Adevantages</i>	<i>Disadvantages</i>
<i>Based on physical properties</i>			
OncoQuick (23) Ficoll-Hypaque (23)	Isolation of CTCs based on density gradient (< 1,007 g/ml)	Preserve cells viability Inexpensive One step process	Lack of specificity and sensitivity Mononuclear cells have similar density
ISET (22)	Filters with pores of 8 $\mu$ m retain tumor cells, but not leukocytes	Preserve cells viability Inexpensive One step process	CTC are heterogeneous, smaller tumor cells may be lost Larger leukocytes may be included
DEP-FFF (24)	Electric method that can separate cells in accordance with their phenotype and membrane capacitance	No need for labeling or modification	Dielectric interactions between cells Studies in CRC patients not available yet
<i>Based on biological properties</i>			
MACS system (29)	Isolation of cells using different tumor specific antibodies conjugated with colloidal magnetic microbeads	Preserve cell integrity for further investigation	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives) Not automated
RARE (30)	Combine density of gradient and negative selection of CD45+ cells	Preserve cell integrity for further investigation	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives) Not automated
CellSearch (31-33)	Combination of immunomagnetic enrichment with flow cytometry and immunocytochemical analysis: negative selection with anti-CD45 antibodies and positive selection with antiepithelial cells antibodies (EpCAM+, CK+)	FDA approved (multiple large validation studies) Preserve cell integrity Semiautomated	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives) Expensive
AdnaTest (34)	Enrichment with antibodies coupled with immunomagnetic microbeads (MUC1, EpCAM), then detected by RT-PCR	Preserve cell integrity Enrichment and detection may be used separated	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives) Not automated
CTC-chip (35)	Interaction of CTCs with antibody (EpCAM)-coated microposts under laminar flow conditions	Pre-labelling or processing of samples is not required CTC quantification Distiguish viable vs non-viable cells Ideal for study rare CTC subpopulations such as metastatic precursor cells.	Limited data Depend on EpCAM expression
MagSweeper (36)	Immunomagnetic-based separations with EpCAM-Ab-couple ferroluids. Then is visualized by microscope.	Isolation of CTC with high degree of purity Preserve cell integrity for further investigation	Special laboratory instrumentation Large blood volume is required
CellColector (37)	Capture CTCs directly from the blood of patients. Immunocytochemistry analysis (positive, negative selection and based on size and morphological characteristics	Analysis in vivo of CTCs No expensive technical equipment needed Not needed a large amount of other cells	Invasive and time-consuming In process of validation in patients with high-risk prostate cancer Tested in CRC, but limited data

TABLE II  
IDENTIFICATION TECHNIQUES

<i>Method</i>	<i>Characteristics</i>	<i>Adevantages</i>	<i>Disadvantages</i>
<i>Immunocytological technologies</i>			
Immunocytochemistry (40)	Monoclonal antibodies against tumor cells antigens	Preserve cell integrity Inexpensive Can be combined with an enrichment technique	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives)
CellSearch system (31-33)	Combination of immunomagnetic enrichment with flow cytometry and immunocytochemical analysis: negative selection with anti-CD45 antibodies and positive selection with antiepithelial cells antibodies (EpCAM+, CK+)	FDA approved (multiple large validation studies) Preserve cell integrity Semiautomated	Loss of antigens on CTCs (false negatives) Expression of same antigens in no CTCs (false positives) Expensive
CTC-chip (35)	Interaction of CTCs with antibody (EpCAM)-coated microposts under laminar flow conditions.	Pre-labelling or processing of samples is not required CTC quantification Distinguish viable vs non viable cells Ideal for study rare CTC subpopulations such as metastatic precursor cells.	Limited data Depend on EpCAM expression
FAST (43)	Identify fluorescently labeled cells on glass slide	No pre-enrichment required Detect larger amount of cells than automated digital microscopy	Limited data
Flow cytometry (44)	It uses refracted or emitted light to count and identify cells in a heterogenous fluid mixture	Rapid readout Can physically sort a heterogeneous mixture of cells into different populations	Blockages within the flow cell and within the sample tubing can
<i>Functional assays</i>			
EPISPOT (45)	Detects specific proteins secreted during the in vitro culture of CTCs	Detect viable epithelial secreting cells High sensitivity and specificity	Culture of CTCs is required Cells must secrete proteins actively
Invasion assay (47)	Ingestion of fluorescent CAM+ fragments	Detect CTC with the invasive phenotype	Limited data
Xenotransplantation models	Transplantation of patient CTCs into immunodeficient mice	Phenotype of the metastases that grow may be characteristic of metastasis-initiator cells	Large amount of CTCs are required
Molecular RNA-based technologies (40)	RT-PCR analysis of selective genes considered to be present on epithelial tumor cells	High sensitive Inexpensive High throughput analysis	Do not preserve cell integrity Risk of degradation of RNA False positive due to the high sensitivity



#### CIRCULATING TUMOR CELLS IN EARLY DETECTION OF COLORECTAL CANCER

Several approaches for early detection of CRC include fecal occult blood test, colonoscopy, computed tomography (CT) scans, levels of carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 19-9 and magnetic resonance imaging (MRI). However, early detection of CRC with today's diagnostic methods still remains a handicap, and that is a key factor for patient prognostic, therefore an effort is needed to improve the diagnostic techniques.

Several heterogeneous studies have demonstrated the correlation between prognosis and detection of CTCs in early CRC. However, it is not yet known exactly what is the best time of blood sampling for the best prognosis information. In a meta-analysis of 36 eligible studies of CRC patients, it was seen that the prognostic information was greater when the determination was taken postoperatively (52).

Detection of CTC as a method of screening of early colorectal cancer is a real challenge as CTC counts are rare and barely detectable in these patients. On the contrary, high sensitivity of CTC analysis may lead to false positive results in healthy people or in benign colon disease. To overcome this constraint, to collect CTCs directly by filtering a large volume of patient's blood in real time may help to trap a major amount of CTCs. In this context *CellCollector* is a device that is currently being validated for high-risk prostate cancer, but there is still limited data in CRC (37). Leukapheresis (LA) is a standard clinical method that is frequently used to isolate mononuclear cells from blood based on the density of these cells, and is commonly used in stem cell harvest. As the density of epithelial cells falls in the optimal range of LA, CTCs can be collected together with mononuclear cells. However this approach seems impractical as it is time-consuming and invasive (53).

#### CLINICAL RELEVANCE OF CIRCULATING TUMOR CELLS AS A GUIDE IN THERAPY

Traditionally decision making after metastatic disease restaging were based on the biological characteristics of the primary tumor and later according to the characteristics of the metastases, which means performing invasive methods, sometimes even difficult to access.

The process of metastatic tumor dissemination may lead to selective subclones of cancer cells released to the bloodstream. A genomic assay of CTCs by Array-CGH and Next-Generation Sequencing have shown that both CTCs and tumor cells of primary tumor as well as in the metastases share the same driver mutations, and most of the CTCs mutations that initially were only found in CTCs, after an additional deep sequencing were also detected in subclones of primary tumor and metastatic cells (54). Throughout the analysis of CTCs

genome is possible to detect resistant mutations to target treatment that may be the cause of the treatment failure, as in the case of individuals with KRAS wild type CRC treated with drug-mediated EGFR inhibition (7,8). A retrospective analysis of CTCs in 76 CRC patients treated with cetuximab plus either FOLFIRI or FOLFOX-4 chemotherapy identified KRAS mutation in 43.4% tumors and 39.5% in CTCs, with a statistically significant correlation ( $p < 0.0001$ ). Both in those patients harboring wild type KRAS in CTCs and in tumors resulted in a better PFS and OS (55). Despite of the limitations of these studies, these results support the use of CTCs as a non invasive evaluation method for clinical decisions. Further investigations are needed to establish CTCs assay as an alternative of biopsy of the tumor or metastasis.

#### CIRCULATING TUMOR DNA IN COLORECTAL CARCINOMA

Normal and tumor cells release cell free DNA as a result of an apoptotic process usually in nonmalignant cells, and during a necrosis process, more frequently in pathologic process in tumor cells, which release larger DNA fragments due to an incomplete digestion of genomic DNA (56). In this regard, the length of DNA fragments might be used as a marker for tumor detection. DNA integrity index correspond to the ratio of longer to shorter DNA fragments. Analysis of DNA integrity with quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for *Arthrobacterluteus* (ALU) repeats in CRC patients compared to patients with benign colonic polyps and healthy people, was significantly higher, what could represent a reliable biomarker for screening of CRC (56).

Since several genes that are recurrently somatically mutated in CRC are identified, it is feasible to identify tumor specific mutation in circulating tumor DNA (ctDNA). As with CTCs, the detection of ctDNA has the advantage of being a non-invasive method that allows the genomic study of the tumor DNA in real time. Several studies, that are below described, have established the relevance of plasma ctDNA levels to monitor patients with CRC and to detect those with high risk.

#### DIAGNOSTIC METHODS OF CIRCULATING TUMOR DNA

Studies performed by massive parallel sequencing (MPS) have shown that ctDNA clearance seems to have a biphasic behavior with half-lives of 1 h for the rapid phase and a second phase of 13 h. However, is not well known the mechanism of DNA clearance from plasma, and how other factors such as inflammation or particular therapies may influence in this process (57).

Detection of plasma levels of tumor DNA is challenging, since plasma levels represent a very low fraction of total circulating DNA. Highly sensitive methods are required to identify single-nucleotide mutations in ctDNA, as are digital PCR, BEAMing Safe-Seqs, TamSeq or whole genome sequencing to detect copy-number changes. Methods can be divided into targeted approaches, that are intended to detect mutations in predefined genes with implications for therapy decisions, for example KRAS status in CRC, or untargeted approaches (exome sequencing, whole genome sequencing...) that evaluate the genome and detect new genomic aberrations, allow monitoring or identifies molecular resistance.

#### TARGETED APPROACHES

Due to new highly sensitive and specific technologies as digital PCR (dPCR) and BEAMing, a device that combines emulsion polymerase chain reaction with magnetic beads and flow cytometry, it is possible to identify mutant alleles at very low frequencies (58,59). Kinde and coworkers described Safe-SeqS, a method that increase the sensitivity of massively parallel sequencing systems (60). Bettgowda and coworkers analyzed a large set of different tumor patients using dPCR and Safe-Sequencing System (Safe-SeqS). Among patients affected by CRC, a high diagnostic sensitivity and specificity of KRAS mutations of ctDNA was found (87.2% and 99%, respectively). It was also noted that ctDNA was detected in patients without detectable circulating tumor cells, which implies that these two biomarkers are distinct entities (61). Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq) is a sensitive method that has been evaluated in non-small cell lung cancer (NSCLC), although is generalizable to any cancer for which recurrent mutations have been identified. This approach combines optimized library preparation methods for low- input DNA with a multiphase bioinformatic approach to design a “selector” that identifies recurrent mutations in a particular cancer type using publicly available next generation sequencing data (62). Forsheew et al. analysed 5995 genomic bases for low frequency mutations by Tagged-amplicon deep sequencing (TAm-Seq). They proved that this method is able to identify cancer specific mutations in circulating DNA present at allele frequencies as low as 2%, with a high specificity (97%) (63).

#### UNTARGETED APPROACHES

Untargeted approach allows to discover tumor-specific alterations without knowledge of any specific changes present in the primary tumor. *Massively parallel sequencing* (MPS) enables to detect copy number aberrations and point mutations of ctDNA, and display

tumor heterogeneity (64). Allen Chan et al. showed how the combination of plasma hypomethylation and copy number analyses by plasma DNA bisulfite sequencing enhance detection sensitivity or specificity for cancer detection. In particular plasma hypomethylation gave a diagnostic sensitivity and specificity of 74% and 94%, respectively (65). Genome-wide copy number profiles can be established from plasma using array-CGH, however, *Next Generation Sequencing* (NGS) rise the resolution of copy number analyses from ctDNA (66). Other approach that implement whole genome sequencing (WGS) is *Personalized Analysis of Rearranged Ends* (PARE). This method first identify translocations in solid tumors and next in plasma DNA samples. Its strength lies in that multiple chromosomal alterations reside in tumor cells, but there are few of them in normal cells (67). A more cost-effective approach than whole genome sequencing is exome sequencing. Murtanza and coworkers analyzed the exome wide of circulating tumor DNA in six patents with different tumors before treatment and after progression to therapy. They identified mutant alleles, many of which have been previously associated with drug resistance (68).

A major shortcoming of genome wide methods is the lack of analytical sensitivity despite the improvement of the approaches. Although low-coverage sequencing for copy number analysis can provide clinically relevant information in a cost-effective manner, these approaches cannot detect mutations on the nucleotide level.

#### ctDNA AS A DIAGNOSTIC BIOMARKER

Several studies have revealed that elevated levels of cfDNA in cancer patients is enough to confirm the presence of tumor and vary depending on whether there is a disease-free period or tumor-relapse (69,70), however, some other studies demonstrated that only the presence of cfDNA is not enough for the diagnosis (71). Flamini et al. performed a case control study with 75 CRC patients and 75 healthy donors. Levels of CEA and ctDNA were not significantly correlated in healthy and CRC cancers, but taken together, when both were positive, specificity reached 100%. So the authors concluded that the combination could be a potential tool for diagnosis of early CRC (72). In the analysis of plasma DNA from 32 metastatic CRC a subset of patients displayed a biphasic distribution of plasma DNA fragments that was related to an elevated number of CTCs and concentration of mutated DNA fragments. However a subset of CRC patients showed a monophasic peak with higher plasma DNA levels compared with healthy people, which most of de DNA released correlated with wild-type DNA fragments. This findings support that the total increase in DNA is due mostly to wild-type DNA than in mutated DNA sequences (73). A blinded prospective study

that compared KRAS and BRAF mutation status tested in tumor tissue and cfDNA by PCR-based method from 106 CRC patients, showed a 100% specificity and sensitivity for the BRAF V600E mutation and for some KRAS mutation the method had a 98% specificity and 92% sensitivity with a concordance value of 96%, which makes the detection of cfDNA a potential surrogate for tumor biopsy (74).

There is plenty of literature that associate SEPT9 methylation with CRC. A recent systematic review of 25 studies that evaluate the diagnostic performance of SEPT9 methylation in CRC corroborates its useful in diagnosis and screening in all the states of CRC, especially in advanced stages of CRC. Pooled sensitivity, specificity and diagnostic odds ratio were 0.71, 0.92 and 0.88, respectively. EpiPro Colon 2.0 proved to be the optimal method and assay to detect CRC and is the only test that has received FDA approval for use in average risk patients who decline other screening methods (75).

#### ctDNA AS A PROGNOSTIC BIOMARKER

To evaluate the prognostic value of ctDNA in plasma, Lecomte et al. scanned in plasma two of the most genetic alterations in CRC: KRAS hotspot mutations and cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) hypermethylation. They concluded that the presence of ctDNA in plasma might be a relevant prognostic marker for patients with CRC and can detect those patients with high risk of recurrence as they found that 2-year survival rate was 100% in patients with no evidence of ctDNA who possess KRAS mutations or CDKN2A gene promoter hypermethylation (76). Spindler et al. proved the prognostic value of quantitative ctDNA, KRAS and BRAF mutations in plasma from CRC patients during treatment with cetuximab and irinotecan (77).

The same author confirmed the independent prognostic value of cfDNA through the analysis of four phase II studies that included CRC patients with chemotherapy refractory disease. Also a high concordance between KRAS mutations in plasma and tissue was established (78).

In a retrospective analysis that evaluated 133 CRC who received surgery from 2005 to 2008, tissue and plasma samples were obtained from the Biobank to evaluate the prognostic value of circulating plasma DNA (cpDNA) measured by Taqman qPCR. They displayed that those patients with low levels of cpDNA presented significantly higher overall survival than those with high cpDNA, therefore the detection of cfDNA may be a surrogate prognostic factor in CRC (79). An interesting study led by a group of Greek collaborators screened whether the promoter methylation status of *APC* and *RASSF1A* in cfDNA is related to poor prognosis as hypermethylation has been already associated with pro-

gression in CRC. They assessed the promoter methylation status in operable CRC and metastatic CRC patients and demonstrated in both groups a significant correlation between methylation status of both genes in cfDNA and poor prognosis (80).

#### ctDNA AS A PREDICTIVE BIOMARKER AND A MONITOR OF DRUG RESISTANCE

Tumor progression in CRC after starting a systemic treatment with EGFR specific antibodies is unfortunately the norm due to acquired resistance to these therapies through the develop of new RAS pathway mutations. The intratumoral heterogeneity is thought to also contribute to the creation of resistance mechanisms. KRAS mutant alleles have been reported in the blood in CRC patients treated with Cetuximab 10 months before the detection of progression with imaging methods. These acquired resistances displayed a varied distribution of mutations in KRAS, NRAS, BRAF and EGFR alleles in plasma (61,81). A study led by Mohan and colleagues performed whole genome sequencing of plasma from CRC patients treated with anti-EGFR therapy. They reported the emergence of secondary KRAS, MET and HER2 gene copy amplification in the plasma and loss of chromosomal 17p, 18q and 5q22 region, the latter Harboring the APC gene (82).

In a prospective study of 53 CRC patients receiving first-line chemotherapy, ctDNA, CEA in plasma were evaluated before and during treatment. Firstly, sequence of the tumor with a panel of 15 genes frequently mutated in CRC was carried out. Next, they assessed the presence and levels of a specific mutation for each patient by Safe-SeqS. A high concordance between tissue mutation of a specific gene and in cfDNA from plasma was observed (92.3%). Median reductions of 5.7-fold of cfDNA levels before cycle 2 were correlated with CT responses at 8-10 weeks of treatment ( $p < 0.001$ ). Reductions  $\geq 10$ -folds before cycle 2 did not demonstrate statistically significant differences but were associated with a trend for major progression free survival (median 14.7 vs. 8.1 months; HR 1.87,  $p = 0.26$ ). Hence, the authors concluded that early changes in ctDNA during first line of chemotherapy predict response (83). A very revealing study was conducted by Siravegna and colleges. They reported a decrease in KRAS alleles after interruption of anti EGFR inhibitors, which had previously appeared as resistance to therapy, and increase with the presence of the anti EGFR therapy. These findings support the evidence that ctDNA assay is a reflection of the clonal evolution of tumor cells. They also identified a cluster of patients with RAS pathway mutations in ctDNA that were not detected in tumor tissue samples. These findings emphasizes the hypothesis that ctDNA can more accurately determine the actual state of the tumor (84).

## EXOSOMES IN COLORECTAL CANCER

Exosomes represent 30 to 100 nm secreted vesicles that emerge from endocytic origin of diverse cell types under normal or pathological conditions and are released to several fluids such as blood, urine, amniotic fluid, malignant ascites, saliva or breast milk. They contain mRNAs, lipids, proteins and microRNAs (miRNAs) that can be transferred to other cells for genetic exchange between them. Exosomes exhibit numerous functions as a communication link between cells, immunomodulatory activity among other functions yet not well known.

Altered miRNAs expression, which is very common in cancer, can be used to identify the origin of tumor cells much better than RNA, with special interest in tumors of unknown origin, which may be helpful in aiding clinical diagnosis and subsequent treatment (85,86).

It has been explored the utility of miRNAs as robust biomarkers of cancer due to their stability. The diagnostic ability and prognostic value of miRNAs in different types of tumors have been displayed (87). In CRC patients, eight miRNAs (let-7a, miR-1224-5p, miR-1229, miR-1246, miR-150, miR-21, miR-223 and miR-23a) were detected in serum exosomes and were down-regulated after surgery. Next, seven of these eight miRNAs were validated in an independent sample set with qRT-PCR (88). In a recent study that evaluated 754 miRNAs, 741 cancer related proteins in exosomes secreted by Cetuximab-responsive CRC cells and 116 Cetuximab-resistant cells, before and after treatment, reported that treatment with Cetuximab modifies miRNAs and proteins cargo of exosomes. Surprisingly, transfection of Cetuximab-resistant cells with exosomes from Cetuximab-sensitive cells, significantly increased cell proliferation when Cetuximab was administered. However, no difference of viability were found when Cetuximab-sensitive cells were treated with Cetuximab and transfected with exosomes purified from Cetuximab-resistant cell (89). Circular RNAs (circRNAs) are evolutionarily conserved but are regulated independent of their linear transcripts. Expression profiles of circRNAs were evaluated in CRC cell lines and exosomes originated in these cells. Large amount of circRNAs were found in exosomes and was down-regulated in mutant KRAS cell lines. However, it is not possible to conclude that circRNAs are directly regulated by KRAS. For example, this down-regulation of circRNAs could be caused by their increment in exosomes (90).

## CONCLUSION AND FUTURE PERSPECTIVES

At the time of evaluate tumor tissue of CRC, many issues must be taken into account. Due to the extent of tumor heterogeneity, a single tumor biopsy might not accurately reflect the genetic landscape of the disease as only provide a piece of the tumor lesion in a con-

crete moment. Nevertheless, take multiple samples of the tumor is costly and even might be dangerous for the patient. Furthermore, sometimes tumor biopsy is not available or hazardous to take.

Plenty of studies have emerged in order to address the prognostic and predictive value of "liquid biopsy". Several studies have also evaluated the ability to detect residual disease after surgery or as a diagnostic method. Perhaps, the most attractive utility of the liquid biopsy is to be able to monitor in real time and in an accessible and non-invasive manner the tumor status and possible resistance to treatment. Thus, avoiding having to perform biopsies, with the risks that it involves.

An advantage that may be the analysis of CTCs against ctDNA is that it can better demonstrate tumor heterogeneity by studying not only DNA, but RNA and proteins; however the ctDNA is limited to the genomic study.

Taken together all the current data, the possibilities of these techniques presume to be promising. However, it must be taken into account that certain requirements must be met to ensure that a genomic test is reliable and robust (91):

1. *Analytic validity* (accuracy of the test in detecting the presence or absent of a specific mutation).
2. *Clinical validity* (Refers to the ability of the test to diagnose or predict the presence or absence of a particular disease or clinical condition).
3. *Clinical utility* (whether the test results will lead the clinician to changes in the treatment strategy and how important the benefits for the patient will be).

Most of the evidence in CTCs and ctDNA studies are based on retrospective studies with few patients, case series and reviews and few prospective studies are found. Many CTCs studies correlate CTCs and cancer prognosis. However CTC cutoffs for CRC are not well established since studies have used different cutoffs. CellSearch is the only approved method by FDA and recommend using a cutoff of at least 3 CTCs in CRC. Besides that, studies reporting clinical utility by using liquid biopsy are still unclear. Thus, prospective interventional studies are required to indicate which treatment changes are advisable to make according to the characterization of CTCs and ctDNA.

There are still many questions left unanswered. For example, it would be interesting to address which is the sufficient amount of CTCs to reliably detect tumor heterogeneity. Or if the alleged acquired drug resistance really is, or whether is an emergent subclon not initially detected in the primary tumor.

Additionally, the study of the exosomes seems also encouraging. MiRNAs assay in cancer patients have been demonstrated to be prognostic and predictive in other tumors and their analysis makes it possible to determine the origin of tumors of unknown origin, including typing the tumor subtypes. However, there is still a lack of translational studies that evaluate their clinical utility.

## CORRESPONDENCE:

Jesús García-Foncillas  
 Oncohealth Institute  
 Hospital Fundación Jiménez Díaz  
 Avda. Reyes Católicos, 2  
 28040 Madrid, Spain  
 e-mail: jgfoncillas@fjd.es

## REFERENCES

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D: Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69-90.
- Fujita S, Shimoda T, Yoshimura K, et al. Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. *J Surg Oncol* 2003;84:127-31.
- Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3219-26.
- O'Connell ML, Lavery I, Yothers G, et al. Relationship between tumor gene expression and recurrence in four independent studies of patients with stage II/III colon cancer treated with surgery alone or surgery plus adjuvant fluorouracil plus leucovorin. *J Clin Oncol* 2010;28:3937-44.
- Kopetz S, Tabernero J, Rosenberg R, et al. Genomic classifier ColoPrint predicts recurrence in stage II colorectal cancer patients more accurately than clinical factors. *Oncologist* 2015;20:127-33.
- Therkildsen C, Bergmann TK, Henrichsen-Schnack T, Ladlund S, Nilbert M. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol* 2014;53(7):852-64.
- Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013;369(11):1023-34.
- Bokemeyer C, Cutsem EV, Rougier P, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: Pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. *Eur J Cancer* 2012;48:1466-75.
- Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, et al. Impact of primary (1°) tumor location on Overall Survival (OS) and Progression Free Survival (PFS) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of All RAS wt patients on CALGB/ SWOG 8005 (Alliance) [abstract]. *ESMO Congress* 2016.
- Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Med J Aust* 1869;14:146-9.
- Bonecchi R, Galliera E, Borroni EM, Corsi MM, Locati M, Mantovani A. Chemokines and chemokine receptors: an overview. *Front Biosci (Ladndmark Ed)* 2009;14:540-51.
- Valastyan S, Weinberg RA. Tumor Metastasis: Molecular Insights and Evolving Paradigms. *Cell* 2011;147(2):278-92.
- Hugo H, Ackland ML, Blick T et al. Epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions in carcinoma progression. *J Cell Physiol* 2007;213:374-83.
- Alix-Panabieres C, Pantel K. Challenges in circulating tumour cell research. *Nat Rev Cancer* 2014;14:623-31.
- Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:781-91.
- Cohen SJ, Punt CJ, Lannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:3213-21.
- De Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:6302-9.
- Krebs MG, Sloane R, Priest L, Lancashire L, Hou JM, Greystoke A, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1556-63.
- Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007;253:180-204.
- Alix-Panabieres C, Pantel K. Challenges in circulating tumour cell research. *Nat Rev Cancer* 2014;14:623-31.
- Cayrefourcq L, Mazart T, Joosse S, Solassol J, et al. Establishment and characterization of a cell line from human circulating colon cancer cells. *Cancer Res* 2015;75(5).
- Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: A new method for the immune-morphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol* 2000;156:57-63.
- Gertler R, Rosenberg R, Fuehrer K, et al. Detection of circulating tumor cells in blood using an optimized density gradient centrifugation. *Recent Results Cancer Res* 2003;162:149-55.
- Gascoyne PR, Noshari J, Anderson TJ, Becker FF. Isolation of rare cells from cell mixtures by dielectrophoresis. *Electrophoresis* 2009;30(8):1388-98.
- Nedosekin DA, Juratli MA, Sarimollaoglu M, Moore CL, Rusch NJ, Smeltzer MS, et al. Photoacoustic and photothermal detection of circulating tumor cells, bacteria and nanoparticles in cerebrospinal fluid in vivo and ex vivo. *J Biophotonics* 2013;6(6-7):523-33.
- Pantel K, Denève E, Nocca D, Coffy A, Vendrell JP, Maude-londe T, et al. Circulating epithelial cells in patients with benign colon diseases. *Clin Chem* 2012;58:936-40.
- Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol* 2006;172:973-81.
- Yokobori T, Linuma H, Shimamura T, Imoto S, Sugimachi K, Ishii H, et al. Platin2 is a novel marker for circulating tumor cells undergoing the epithelial-mesenchymal transition cells and is associated with colorectal cancer prognosis. *Cancer Res* 2013;73:2059-69.
- Martin VM, Siewert C, Scharl A, Harms T, et al. Immunomagnetic enrichment of disseminated epithelial tumor cells from peripheral blood by MACS. *Experimental Hematology* 1998;26(3):252-64.
- Naume B, Borgen E, Tøssvik S, Pavlak N, Oates D, Nesland JM. Detection of isolated tumor cells in peripheral blood and in BM: evaluation of a new enrichment method. *Cytotherapy* 2004;6(3):244-52.
- Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004;10(20):6897-904.
- Cohen SJ, Punt CJ, Lannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:3213-21.
- Tol J, Koopman M, Miller MC, Tibbe A, Cats A, Creemers GJ, et al. Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol* 2010;21(5):1006-12.
- Hauch S, Zimmermann S, Lankiewicz S, et al. The clinical significance of circulating tumour cells in breast cancer and colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2007;27:1337-41.
- Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, Bell DW, Irimia D, Utkus L, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature* 2007;450(7173):1235-9.
- Talasz AH, Powell AA, Huber DE, et al. Isolating highly enriched populations of circulating epithelial cells and other rare cells from blood using a magnetic sweeper device. *Proc Natl Acad Sci USA*;2009;106:3970-5.
- Theil G, Fischer K, Weber E, et al. The use of a new cell collector to isolate circulating tumor cells from the blood of patients with different stages of prostate cancer and clinical outcomes - a proof-of-concept study. *PLoS ONE* 2016;11(8):e0158354.

38. Karabacak NM, Suhler PS, Fachin F, Lim EJ, Pai V, Ozkumur E, et al. Microfluidic, marker-free isolation of circulating tumor cells from blood samples. *Nat Protoc* 2014;9:694-710.
39. Wu S, Liu S, Liu Z, Huang J, Pu X, Li J, et al. Classification of Circulating Tumor Cells by Epithelial-Mesenchymal Transition Markers. *Plos One* 2015;10(4):e0123976.
40. Zach O, Lutz D. Tumor cell detection in peripheral blood and bone marrow. *Curr Opin Oncol* 2006;18:48-56.
41. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:3213-21.
42. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2009;20:1223-9.
43. Hsieh HB, Marrinucci D, Bethel K, et al. High speed detection of circulating tumor cells. *Biosens Bioelectron* 2006;21:1893-99.
44. Takao M, Takeda K. Enumeration, characterization, and collection of intact circulating tumor cells by cross contamination-free flow cytometry. *Cytometry A* 2011;79(2):107-17.
45. Alix-Panabières C, Vendrell JP, Pellé O, Rebillard X, Riethdorf S, Müller V, et al. Detection and characterization of putative metastatic precursor cells in cancer patients. *Clin Chem* 2007;53(3):537-9.
46. Denève E, Riethdorf S, Ramos J, Nocca D, Coffy A, et al. Capture of viable circulating tumor cells in the liver of colorectal cancer patients. *Clinical Chemistry* 2013;5(9):1384-92.
47. Friedlander TW, Ngo VT, Dong H, Premasekharan G, Weinberg V, Doty S, et al. Detection and characterization of invasive circulating tumor cells derived from men with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Int J Cancer* 2014;134(10):2284-93.
48. Rahbari NN, Aigner M, Thorlund K, Mollberg N, Motschall E, Jensen K, et al. Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138(5):1714-26.
49. Huang X, Gao P, Song Y, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells detected with the CellSearch System in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2015;15:202.
50. Tol J, Koopman M, Miller MC, Tibbe A, Cats A, et al. Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol* 2010;21(5):1006-12.
51. Sastre J, Maestro ML, Gómez-España A, Rivera F, Valladares M, et al. Circulating tumor cell count is a prognostic factor in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors study. *Oncologist* 2012;17(7):947-55.
52. Rahbari NN, Aigner M, Thorlund K, et al. Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138:1724-6.
53. Fischer JC, Niederacher D, Topp SA, Honisch E, Schumacher S, Schmitz N, et al. Diagnostic leukapheresis enables reliable detection of circulating tumor cells of nonmetastatic cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(41):16580-5.
54. Heitzer E, Auer M, Gasch C, et al. Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res* 2013;73(10):2965-75.
55. Yen LC, Yeh YS, Chen CW, Wang HM, Tsai HL, et al. Detection of KRAS oncogene in peripheral blood as a predictor of the response to cetuximab plus chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15(13):4508-13.
56. El-Gayar D, El-Abd N, Hassan N, Ali R. Increased Free Circulating DNA Integrity Index as a Serum Biomarker in Patients with Colorectal Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17(3):934-44.
57. Yu SC, Lee SW, Jiang P, Leung TY, Chan KC, Chiu RW, Lo YM. High-resolution profiling of fetal DNA clearance from maternal plasma by massively parallel sequencing. *Clin Chem* 2013;59:1228-37.
58. Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:9236-41.
59. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008;14:985-90.
60. Kinde I, Wu J, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B. Detection and quantification of rare mutations with massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:9530-5.
61. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med* 2014;6:224ra24.
62. Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC, Modlin LA, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* 2014;20(5):548-54.
63. Forshef T, Murtaza M, Parkinson C, Gale D, Tsui DW, Kaper F, et al. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA. *Sci Transl Med* 2012;4:136ra68.
64. Chan KC, Jiang P, Zheng YW, Liao GJ, Sun H, Wong J, et al. Cancer genome scanning in plasma: detection of tumor-associated copy number aberrations, singlenucleotide variants, and tumoral heterogeneity by massively parallel sequencing. *Clin Chem* 2013;59:211-24.
65. Chan KC, Jiang P, Chan CW, Sun K, Wong J, Hui EP, et al. Non-invasive detection of cancer-associated genome-wide hypomethylation and copy number aberrations by plasma DNA bisulfite sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:18761-8.
66. Heitzer E, Auer M, Hoffmann EM, Pichler M, Gasch C, Ulz P, et al. Establishment of tumor-specific copy number alterations from plasma DNA of patients with cancer. *Int J Cancer* 2013;133:346-56.
67. Leary RJ, Sausen M, Kinde I, Papadopoulos N, Carpten JD, Craig D, et al. Detection of chromosomal alterations in the circulation of cancer patients with whole-genome sequencing. *Sci Transl Med* 2012;4:162ra54.
68. Murtaza M, Dawson SJ, Tsui DW, Gale D, Forshef T, Piskorz AM, et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature* 2013;497:108-12.
69. Sozzi G, Conte D, Leon M, Ciricione R, Roz L, Ratcliffe C, et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:3902-8.
70. Frattini M, Balestra D, Verderio P, Gallino G, Leo E, Sozzi G, et al. Reproducibility of a semiquantitative measurement of circulating DNA in plasma from neoplastic patients. *J Clin Oncol* 2005;23:3163-64; author reply 3164-5.
71. Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, et al. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res* 2001;61:4675-8.
72. Flamini E, Mercatali L, Nanni O, Calistri D, Nunziatini R, Zoli W, et al. Free DNA and carcinoembryonic antigen serum levels: an important combination for diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:6985-8.
73. Heitzer E, Auer M, Hoffman EM, Pichler M, Gasch C, Ulz P, et al. Establishment of tumor-specific copy number alterations from plasma DNA of patients with cancer. *Int J Cancer* 2013;133:346-56.
74. Thierry AR, Moulriere F, El Messaoudi S, Mollevi C, Lopez-Crapez E, Rolet F, et al. Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA. *Nat Med* 2014;20:430-5.
75. Nian J, Sun X, Ming S, Yan C, et al. Diagnostic accuracy of methylated SEPT9 for blood-based colorectal cancer detection: A systematic review and meta-analysis. *Clinical and Translational Gastroenterology* 2017;8:e216.
76. Lecomte T, Berger A, Zinzindohoue F, Micard S, Landi B, Blons H, et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. *Int J Cancer* 2002;100:542-8.

77. Spindler KL, Pallisgaard N, Vogelius I, Jakobsen A. Quantitative cell-free DNA, KRAS, and BRAF mutations in plasma from patients with metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab and irinotecan. *Clin Cancer Res* 2012;18:1177-85.
78. Spindler KL, Pallisgaard N, Fredslund R, Brandslund I, Jakobsen A. Circulating Free DNA as Biomarker and Source for Mutation Detection in Metastatic Colorectal Cancer. *PLoS ONE* 2015;10(4):e0108247.
79. Lin JK, Lin PC, Lin CH, et al. Clinical relevance of alterations in quantity and quality of plasma DNA in colorectal cancer patients: based on the mutation spectra detected in primary tumors. *Ann Surg Oncol* 2014;21:S680-6.
80. Matthaios D, Balgouranidou I, Karayiannakis A, Bolanaki H, et al. Methylation status of the APC and RASSF1A promoter in cell-free circulating DNA and its prognostic role in patients with colorectal cancer. *Oncol Lett* 2016;12:748-56.
81. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012;486:532-6.
82. Mohan S, Heitzer E, Ulz P, Lafer I, Lax S, Auer M, et al. Changes in colorectal carcinoma genomes under anti-EGFR therapy identified by whole-genome plasma DNA sequencing. *PLoS Genetic* 2014;10:e1004271.
83. Tie J, Kinde I, Wang Y, Wong HL, Roebert J, et al. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2015;26:1715-22.
84. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med* 2015;21:795-801.
85. Hu G, Drescher KM, Chen XM. Exosomal miRNAs: Biological properties and therapeutic potential. *Front Genet* 2012;3:56.
86. Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, et al. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nature Biotechnology* 2008;26:462-9.
87. Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO Mol Med* 2012;4(3):143-59.
88. Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS ONE* 2014;9(4): e92921.
89. Ragusa M, Statello L, Maugeri M, Barbagallo C, Passanisi R, Alhamedani MS, et al. Highly skewed distribution of miRNAs and proteins between colorectal cancer cells and their exosomes following Cetuximab treatment: biomolecular, genetic and translational implications. *Oncoscience* 2014;1(2):132-57.
90. Dou Y, Cha DJ, Franklin JL, Higginbotham JN, Jeppesen DK, et al. Circular RNAs are down-regulated in KRAS mutant colon cancer cells and can be transferred to exosomes. *Sci Rep* 2016;6:37982.
91. Test validación: McPherson E. *Genetic Diagnosis and Testing in Clinical Practice*. Clinical Medicine & Research 2006.

# Grupo de Tratamiento de los Tumores Digestivos (TTD)

E. ARANDA

*Hospital Provincial Reina Sofía. Córdoba*

## RESUMEN

El Grupo de Tratamiento de los Tumores Digestivos (TTD) es una asociación científica independiente. Nació en 1986 con la misión de constituirse en Grupo Cooperativo con los objetivos de investigar y desarrollar protocolos en la esfera de los tumores digestivos bajo la premisa de mejorar la calidad asistencial.

El Grupo TTD participa y desarrolla proyectos internacionales con otros Grupos Cooperativos de referencia y, a nivel nacional, promueve el trabajo conjunto con las especialidades relacionadas con el estudio, prevención, diagnóstico y tratamiento de los cánceres digestivos, fomentando la aproximación multidisciplinar.

Además de la labor investigadora, el Grupo TTD lleva a cabo una labor educativa y formativa científica con el apoyo a iniciativas que impulsan la difusión de los conocimientos y con la organización de reuniones internacionales, en las que se presentan y debaten los últimos avances en diagnóstico y tratamiento de los tumores digestivos, así como las líneas de futuro y de investigación. Dentro de esta línea de trabajo, se incluye la elaboración de documentos de consenso en los que se establecen recomendaciones de tratamiento que sirven de referente a la comunidad médica implicada en el manejo de estas patologías.

Entre las actividades desarrolladas durante estos 30 años por el Grupo TTD cabe destacar: 10.805 pacientes incluidos en ensayos clínicos, 87 estudios realizados o en curso, 90 publicaciones en revistas, 193 comunicaciones a congresos, 24 simposios internacionales y 14 documentos de consenso.

**PALABRAS CLAVE:** Tumores digestivos. Investigación independiente. Grupo cooperativo. Grupo TTD.

## INTRODUCCIÓN

La investigación clínica en nuestro país se encuentra en un momento de auge y el número de ensayos clínicos ha seguido una evolución creciente en los últimos

## ABSTRACT

*The Spanish Cooperative Group for Digestive Tumor Therapy (TTD Group) is an independent scientific association. It was set up in 1986 with the aim of becoming a cooperative group to research and develop protocols in the field of gastrointestinal tumours, with the premise of improving quality of care.*

*The TTD Group undertakes and participates in international projects with other important cooperative groups, while at national level it fosters close collaboration with specialities related to gastrointestinal cancers in order to encourage a multidisciplinary approach to the study, prevention, diagnosis and treatment of gastrointestinal tumours.*

*The TTD Group is also active in the field of medical education and training. It supports initiatives to promote and spread knowledge about this type of malignant diseases and organises international meetings to present and discuss the latest advances in the diagnosis and treatment of gastrointestinal tumours and future lines of research.*

*Its work includes drafting consensus documents to establish treatment recommendations that will serve as a reference for members of the medical community who are involved in managing these conditions.*

*Among its activities over the last 30 years, the TTD Group can boast 10,805 patients included in clinical studies, 87 studies conducted or in progress, 90 publications in scientist journals, 193 conference communications, 24 symposiums and 14 consensus documents.*

**KEY WORDS:** *Gastrointestinal tumours. Independent research. Cooperative group. TTD Group.*

años. Un porcentaje destacado de estos ensayos son impulsados por investigadores y grupos cooperativos, y corresponden a proyectos de investigación clínica independiente, no promovida por los laboratorios farmacéuticos.



Este tipo de estudios son necesarios e importantes para el desarrollo de una investigación independiente de calidad y el papel de los grupos cooperativos, organizados por áreas de conocimiento e interés común, es esencial.

En el mundo occidental, esta forma de trabajo ha sido no sólo muy satisfactoria para los investigadores, sino altamente rentable para el desarrollo de protocolos que posteriormente han sido consolidados como estándares. Ejemplo de ello son los grandes grupos norteamericanos y, en Europa, la European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC). En nuestro país, existe en la actualidad una importante red de grupos cooperativos con identidad propia y actividad nacional e internacional, lo que refleja el valor que tiene para la Oncología Médica el trabajo en equipo.

Uno de los aspectos más importantes que ha aportado la Oncología Médica en los últimos años al mundo científico ha sido la metodología del ensayo clínico que, sin lugar a dudas, constituye una herramienta fundamental en el avance diagnóstico y terapéutico del cáncer.

#### EL GRUPO TTD

El Grupo TTD (Tratamiento de los Tumores Digestivos) es una asociación científica independiente legalmente constituida. Nació en 1986, cuando un grupo de oncólogos médicos de diversos hospitales consideró que había llegado el momento de poner en marcha un grupo de trabajo orientado a los tumores digestivos, con la misión de constituirse en grupo cooperativo para investigar y desarrollar protocolos de actuación a nivel nacional en la esfera de los tumores digestivos bajo la premisa de mejorar la calidad asistencial. Inicialmente contaba con 15 hospitales que ya pusieron en marcha algunos protocolos y que, no sin grandes esfuerzos, consiguieron ser escuchados en foros internacionales. El impacto se hizo notar a todos los niveles y redundó en la consolidación del grupo.

Los objetivos que el Grupo TTD se marcó en sus inicios y que siguen vigentes hoy en día son:

- Desarrollo de protocolos de investigación clínica en la esfera de los tumores digestivos.
- Implementar la calidad de la asistencia gracias a una mejor formación oncológica de sus miembros.
- Trabajar en el seno de un grupo cooperativo.
- Llevar a cabo publicaciones sobre los estudios realizados con el objetivo de tener un impacto internacional.

La organización del Grupo TTD se estructura bajo unos estatutos y para su funcionamiento se han establecido un reglamento de trabajo y unos procedimientos normalizados de trabajo.

#### ESTRUCTURA DEL GRUPO TTD

Los órganos que rigen la vida del Grupo TTD son una Junta Directiva o Comité Ejecutivo formado por un Presidente, un Vicepresidente, un Secretario, un Tesore-

ro y once Vocales (Tabla I) y una Asamblea General de socios o Comité Científico.

La Asamblea General de socios está constituida por oncólogos médicos y especialistas que desarrollan su actividad en otras disciplinas diferentes a la oncología médica (oncólogos radioterápicos, cirujanos, patólogos, biólogos moleculares, digestólogos). Actualmente cuenta con la participación de 143 hospitales distribuidos a lo largo de todo el territorio nacional (Fig. 1) y tiene representación en países como Portugal, Chile, Brasil y Serbia. El Grupo TTD está integrado por 309 socios.

Las diferentes actividades desarrolladas se coordinan desde la sede del grupo, que dispone de una amplia oficina dotada de una infraestructura propia y moderna, así como de personal cualificado. Esta estructura organizativa permite al Grupo TTD emprender y desarrollar sus proyectos y actividades de una manera autónoma, independiente y eficiente.

Entre otros asuntos, atiende diariamente numerosas consultas de los socios sobre las diferentes actividades que desarrolla el Grupo TTD, coordina los diferentes ensayos clínicos promovidos por el Grupo y organiza anualmente el simposio internacional.

#### ACTIVIDAD INVESTIGADORA

Entre las actividades desarrolladas, caben destacar los 10.805 pacientes incluidos en los 87 ensayos clínicos de ámbito nacional e internacional abarcando todas las fases (I, II, III, IV) y patologías (colon-recto, gástrico, esófago, páncreas y tumores neuroendocrinos) (Tablas II y III).

Asimismo, el Grupo TTD participa y desarrolla proyectos internacionales con otros grupos cooperativos de referencia.

TABLA I

#### JUNTA DIRECTIVA GRUPO TTD

Presidente:	Dr. Enrique Aranda Aguilar
Presidente honorífico:	Dr. Eduardo Díaz-Rubio
Vicepresidente:	Dr. Alfredo Carrato Mena
Secretario:	Dra. Cristina Grávalos Castro
Tesorero:	Dra. Pilar García Alfonso
Vocales:	Dr. Manuel Benavides Orgaz Dr. Manuel Valladares Ayerbes Dr. Javier Sastre Valera Dr. Ramón Salazar Soler Dra. M <sup>a</sup> José Safont Aguilera Dr. José M <sup>a</sup> Viéitez de Prado Dr. Fernando Rivera Herrero Dr. José M <sup>a</sup> Tabernero Caturla Dra. Begoña Graña Suárez Dr. Carles Pericay Pijaume Dra. Ana Fernández Montes



Fig. 1. Centros participantes del TTD por Comunidades Autónomas.

La participación del Grupo TTD ha sido muy activa en los diferentes protocolos de tratamiento adyuvante del cáncer de colon y recto desarrollados hasta el momento por el Grupo PETACC (Pan-European Trials in Adjuvant Colon Cancer), en concreto los estudios PETACC 1, 2, 3 y 8.

A nivel nacional, el Grupo TTD promueve el trabajo conjunto con las especialidades relacionadas con el cáncer digestivo, con objeto de fomentar la aproximación multidisciplinar al estudio, prevención, diagnóstico y tratamiento de los tumores digestivos. Mantiene una estrecha colaboración con los cirujanos digestivos, oncólogos radioterápicos, anatomopatólogos, biólogos moleculares,

digestólogos, etc., en los estudios que actualmente está desarrollando el TTD, en las actividades de educación y formación, y en los documentos de consenso.

El fruto del trabajo de todos estos años se ha visto plasmado en las numerosas publicaciones en importantes revistas de ámbito científico, así como comunicaciones y ponencias en congresos tanto de ámbito nacional como internacional (Tabla IV).

#### ACTIVIDAD EDUCATIVA Y FORMATIVA

Además de la labor investigadora, el Grupo TTD desarrolla una labor educativa y formativa médica con el apoyo a iniciativas que impulsan los conocimientos de esta especialidad y con la organización de reuniones internacionales, en las que se presentan y debaten los últimos avances en diagnóstico y tratamiento de los tumores digestivos, así como las líneas de futuro y de investigación. En este sentido, merece especial mención el Simposio Internacional que anualmente celebra el TTD, pues entendemos que es uno de los de mayor relevancia en la actualidad dentro de nuestra especialidad.

Adicionalmente, desarrolla una línea de trabajo dirigida a la elaboración de documentos de consenso que establecen recomendaciones de tratamiento, que sirven de referente a la comunidad médica implicada en el manejo de estas patologías, y desde el año 2015, en colaboración con la línea de trabajo liderada por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Hasta la fecha, se han publicado 14 documentos de consenso sobre el manejo del cáncer de colon adyuvante, metástasis hepáticas, cáncer gástrico, cáncer de colon hereditario, cáncer colorrectal metastático, cáncer de páncreas hereditario, carcinomatosis peritoneal de origen colorrectal y apendicular, cáncer de páncreas avanzado, vías biliares, hepatocarcinoma y recto localizado.

Igualmente, mediante la concesión de su aval, el Grupo TTD garantiza el interés y la calidad de los cursos y actividades científicas relacionadas con la especialidad. En los últimos 5 años se han avalado 99 actividades.

TABLA II

TIPOS DE ESTUDIOS, NÚMERO DE PROTOCOLOS Y NÚMERO DE CASOS (PERIODO 1986- 2017)

Fase	Nº estudios	Nº casos
Fase I	7	130
Fase II	56	4.350
Fase III	18	4.198
Fase IV	4	580
Retrospectivo	2	1.547
<i>Total</i>	<i>87</i>	<i>10.805</i>

TABLA III

ESTUDIOS POR TUMORES (PERIODO 1986-2017)

Tumor	Nº estudios	Nº casos
Colon-recto-avanzado	58	6.004
Colon-recto-adyuvante	7	3.305
Gástrico	10	932
Esófago	3	124
Páncreas	8	410
Neuroendocrinos	1	30
<i>Total</i>	<i>87</i>	<i>10.805</i>

#### SERVICIOS A LOS SOCIOS

El Grupo TTD edita un boletín trimestral que sirve de plataforma de difusión de las actividades del Grupo. La publicación facilita a los socios toda la información relativa a los estudios activos, asambleas, nuevos pro-

TABLA IV

CURRÍCULO VITAE DEL TTD (PERIODO 1986-2017)

Nº publicaciones en revistas	90
Nº comunicaciones a congresos	193
Nº simposios organizados	24

yectos, incorporación de socios; así como comentarios a los artículos más relevantes publicados en el campo de los tumores digestivos.

También dispone de una página web que se encuentra ubicada en el dominio [www.ttdgroup.org](http://www.ttdgroup.org), y que tiene como objetivos ofrecer información actualizada del Grupo al público y favorecer la información, comunicación y cooperación entre los socios.

En sus años de andadura, el Grupo TTD ha sobrepasado con creces los objetivos que en el momento inicial se marcó. Sin embargo, lo anterior no es suficiente, sino acicate para que en los próximos años se pueda llegar aún más lejos, aumentando las áreas de investigación, la difusión de los conocimientos y las actividades de formación con el consiguiente beneficio para nuestros pacientes y nuestra sociedad.

CORRESPONDENCIA:

Enrique Aranda  
Hospital Provincial Reina Sofía  
Av. Menéndez Pidal, s/n  
14004 Córdoba  
e-mail: [earanda@seom.org](mailto:earanda@seom.org)

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- Abad A, Díaz-Rubio E, Jimeno JM, Rosell R, Villar A, González Larrriba JL. Oral Idarubicin in measurable gastric cancer. *Am J Clin Oncol* 1989;12(1):14-6.
- Alberola V, García-Conde J, Jimeno J, Fernandez-Martos C, Herranz C, Macheng I, et al. Phase II study with high doses of epirubicin in patients with advanced rectal cancer. *Tumori* 1990;76(5):503-4.
- Díaz-Rubio E, Aranda E, Martín M, González-Mancha R, González-Larrriba J, Barneto I. Weekly high-dose infusion of 5-fluorouracil in advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1990;26(6):727-9.
- Díaz-Rubio E, Jimeno J, Anton A, Aranda E, Sánchez J, Massuti B, et al. A prospective randomized trial of continuous infusion 5-FU vs 50-FU plus cisplatin in patients with advanced colorectal cancer. *Am J Clin Oncol* 1992;15(1):56-60.
- Díaz-Rubio E, Jimeno J, Camps C, Aranda E, Massuti B, Blanco E, et al. Treatment of advanced colorectal cancer with recombinant Interferon alfa and fluorouracil: Activity in liver metastasis. *Cancer Invest* 1992;10(4):259-64.
- Díaz-Rubio E, Jimeno J, Aranda E, Massuti B, Camps C, Cervantes A, et al. Etoposide, epirubicin and cisplatin combination chemotherapy in advanced gastric cancer: negative impact on the patient clinical outcome. *Ann Oncol* 1992;3(10):861-3.
- Cervantes A, Villar A, Abad A, Antón A, Belón J, Dorta J, et al. 5-Fluorouracil, folinic acid, epidoxorubicin and cisplatin (FLEP) combination chemotherapy in advanced measurable gastric cancer. A Phase II trial of the Spanish Cooperative Group for Gastrointestinal Tumor Therapy (TTD). *Ann Oncol* 1993;4(9):753-7.
- Aranda E, Díaz-Rubio E, Camps C, Fernández-Martos C, Carrato A, Antón A, et al. A phase II study of weekly 48 hours infusion with high-dose Fluorouracil (FU) in colorectal cancer. In: Banzet P, Holland JF, Khayat D, Weil M, editors. *Cancer Treatment and Update*. Paris: Springer-Verlag; 1993. pp. 422-7.
- Díaz-Rubio E, Aranda E, Camps C, Fernández-Martos C, Carrato A, Antón A, et al. A phase II study of weekly 48-hour infusions with High-Dose Fluorouracil in advanced colorectal cancer: An alternative to biochemical modulation. *J Infusional Chemoth* 1994;4(1):58-61.
- Villar A, Aranda E, Massuti B, Belón J, Antón A, Jimeno JM, et al. Phase II study with Iododoxorubicin in measurable advanced colorectal adenocarcinoma. Effective rescue using weekly high-dose 5-Fluorouracil. *Tumori* 1994;80(2):124-7.
- Abad A, Massuti B, Camps C, Font A, Balaña C, Vicent JM, et al. Epirubicin plus a Calmodulin inhibitor (Trifluoperazine) activity in advanced pancreatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 1994;30A(7):1043.
- Aranda E, Díaz-Rubio E, Camps C, Fernández-Martos C, Carrato A, Antón A, et al. Altas dosis de 5-Fluorouracilo en infusión continua semanal para el tratamiento del carcinoma colorrectal avanzado. En: González-Barón M, editor. *Avances en Oncología*. Madrid: Editorial Noesis; 1995.
- Aranda E, Cervantes A, Dorta J, Blanco E, Fernández-Martos C, Cruz JJ, et al. A phase II trial of weekly high-dose constant infusion 5-fluorouracil plus oral leucovorin in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer* 1995;76(4):559-63.
- Aranda E, Cervantes A, Carrato A, Fernandez-Martos C, Antón A, Massuti T, et al. Outpatient weekly high-dose continuous infusion 5-Fluorouracil plus oral Leucovorin in advanced colorectal cancer. A phase II trial. *Ann Oncol* 1996;7(6):581-5.
- Aranda E, Cervantes A, Carrato A, Antón A, Massuti T, Fernández-Martos C, et al. The Spanish experience with high-dose infusional 5-FU in colorectal cancer. *J Infus Chemother* 1996;6(3):118-22.
- Abad A, Navarro M, Sastre J, Marcuello E, Aranda E, Gallén M, et al. A preliminary report of a phase II trial UFT plus oral folinic acid as therapy in colorectal cancer in older patient (Spanish Group for treatment of digestive tumors. TTD). *Oncology* 1997;11(9 Suppl 10):53-7.
- Abad A, Massuti B, Blanco E, Carrato A, Maurel J, Cervantes A, et al. Seventy-Two hour epirubicin infusion plus quinidine in unresectable and metastatic adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Oncol* 1998;21(2):151-4.
- Aranda E, Díaz-Rubio E, Cervantes A, Antón A, Carrato A, Massuti T, et al. On behalf of the Spanish Cooperative Group for Gastrointestinal Tumor Therapy (TTD). Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with weekly high-dose 48 hour continuous-infusion fluorouracil for advanced colorectal cancer: A Spanish Cooperative Group for Gastrointestinal Tumor Therapy (TTD) study. *Ann Oncol* 1998;9(7):727-31.
- Massuti B, Abad A, Carrato A. Adjuvant and palliative treatment of pancreatic cancer. *Gastroenterol Hepatol* 1999;22(9):480-5.
- Sastre J, Navarro M, Aranda E, Fonseca E, Checa T, Alonso MC, et al.; on behalf of the TTD Spanish Cooperative Group. Retrospective evaluation of Toxicity in three different schedules of adjuvant chemotherapy for patients with resected colorectal cancer. *Oncol Rep* 1999;6(6):1421-4.
- Díaz-Rubio E, Sastre J, Abad A, Navarro M, Aranda E, Carrato A, et al. UFT plus or minus calcium folinate for metastatic colorectal cancer in older patients. *Oncology* 1999;13(7 Suppl 3):35-40.
- Abad A, Aranda E, Navarro M, Carrato A, Sastre J, Gallén M, et al. For the TTD Spanish Cooperative Group. Two consecutive studies using oral UFT-based chemotherapy regimens in elderly patients with advanced colorectal cancer: A trial by the Spanish Group for the Treatment of Gastrointestinal Tumors (TTD). *Rev Oncol* 2000;2:154-8.
- Aranda E, Antón A, Sastre J, Navarro M, Rivera F, Carrato A, et al. Tegafur and Uracil plus Leucovorin in Advanced Colorectal Cancer: A Phase II trial. *Clin Colorectal Cancer* 2001;1(1):43-6.
- Kohne CH, Cunningham D, Di CF, Glimelius B, Blijham G, Aranda E, et al. Clinical determinants of survival in patients with 5-fluorouracil-based treatment for metastatic colorectal cancer: results of a multivariate analysis of 3825 patients. *Ann Oncol* 2002;13(2):308-17.

25. Cervantes A, Díaz-Rubio E, Aranda E. Infusional 5-FU in the treatment of metastatic colorectal cancer: The 48-hour weekly approach. In: Bleiberg H, Kemeny N, Rougier P, Wilke H, editors. *Colorectal Cancer. A clinical guide to therapy*. Editorial Martin Dunitz; 2002.
26. Carrato A, Gallego J, Díaz-Rubio E. Oxaliplatin: Results in colorectal carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002;44(1):29-44.
27. Anton A, Aranda E, Carrato A, Marcuello E, Massutti B, Cervantes A, et al.; TTD cooperative group. Irinotecan (CPT-11) in metastatic colorectal cancer patients resistant to 5-fluorouracil (5-FU): a phase II study. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2003;25(8):639-43.
28. Aranda E, Carrato A, Cervantes A, Sastre J, Gomez MA, Abad A, et al. Phase I/II trial of irinotecan plus high-dose 5-fluorouracil (TTD regimen) as first-line chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Ann Oncol* 2004;15(4):559-67.
29. Abad A, Massuti B, Gallego J, Yuste AL, Manzano JL, Carrato A, et al. Phase I study of the combination of oxaliplatin, irinotecan and continuous infusion 5-fluorouracil in digestive tumors. *Anticancer Drugs* 2004;15(5):469-71.
30. Folprecht G, Cunningham D, Ross P, Glimelius B, Di Costanzo F, Wils J, et al. Efficacy of 5-fluorouracil-based chemotherapy in elderly patients with metastatic colorectal cancer: a pooled analysis of clinical trials. *Ann Oncol* 2004;15(9):1330-8.
31. Rougier P, Mitry E, Aranda E, Daniele D, Labianca R, Carrato A. Elderly colorectal cancer patients are under treated. *Eur J Cancer* 2004;2(7):8-13.
32. Aranda E. Grupo de tratamiento de los tumores digestivos, dieciocho años al servicio de la oncología. *Metástasis Óseas* 2004;3(2):27-9.
33. Sastre J, Marcuello E, Masutti B, Navarro M, Gil S, Antón A, et al. Irinotecan in combination with 5-fluorouracil in a 48-hour continuous infusion as first-line chemotherapy for elderly patients with metastatic colorectal cancer. A Spanish TTD group study. *J Clin Oncol* 2005;23(15):3545-51.
34. Abad A, Carrato A, Navarro M, Sastre J, Cervantes A, Antón A, et al. Two consecutive phase II trials of biweekly oxaliplatin plus weekly 48-hr continuous infusion of non-modulated high-dose 5-fluorouracil as first-line treatment for advanced colorectal cancer. *Clin. Colorectal Cancer* 2005;4(6):384-9.
35. Maurel J, García JL, Bretón JJ, León A, Gallego J, Sánchez P, et al. A phase II trial of gemcitabine and weekly high-dose 5-fluorouracil in a 48-hour continuous-infusion schedule in patients with advanced pancreatic carcinoma. A study of the Spanish Cooperative Group for Gastrointestinal Tumour Therapy (TTD). *Clin Transl Oncol* 2005;7(11):493-8.
36. Aranda E. Spanish cooperative group for gastrointestinal tumor therapy. *Clin Transl Oncol* 2006;8(1):5-6.
37. Aranda E, Abad A, Carrato A, Cervantes A, Tabernero J, Díaz-Rubio E. On behalf of the TTD Group. Guides for adjuvant treatment of colon cancer. *Clin Transl Oncol* 2006;8(2):98-102.
38. Sastre J, Aranda E, Abad A, Gallego J, Manzano JL, Gómez A, et al. UFT in combination with oxaliplatin: a clinical phase I study in patients with advanced or metastatic solid tumors. *Anticancer Drugs* 2006;17(4):417-21.
39. Navarro M, Dotor E, Sánchez-Rovira P, Vega-Villegas ME, Cervantes A, García JL, et al. A phase II study of preoperative radiotherapy and concomitant weekly irinotecan in combination with protracted venous infusion 5-fluorouracil, for resectable locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;66(1):201-5.
40. Díaz-Rubio E, Tabernero J, Gómez-España A, Massuti B, Sastre J, Chaves M, et al. Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin versus continuous-infusion fluorouracil plus oxaliplatin as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: Final report of the Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors Trial. *J Clin Oncol* 2007;25(27):4224-30.
41. Abad A, Figueras J, Valls C, Carrato A, Pardo F, Díaz-Rubio E, Aranda E. Guidelines for the detection and treatment of liver metastases of colorectal cancer. *Clin Transl Oncol* 2007;9(11):723-30.
42. Abad A, Massuti B, Antón A, Vega ME, Yuste AL, Marcuello E, et al. Colorectal cancer metastasis resectability after treatment with the combination of oxaliplatin, irinotecan and 5-fluorouracil. Final results of a phase II study. *Acta Oncol* 2008;47:286-92.
43. Popov I, Carrato A, Sobrero A, Vincent M, Kerr D, Labianca R, et al. Raltitrexed (Tomudex) versus standard leucovorin-modulated bolus 5-fluorouracil: Results from the randomized phase III Pan-European Trial in Adjuvant Colon Cancer 01 (PETACC-1). *Eur J Cancer* 2008;44(15):2204-11. DOI: 10.1016/j.ejca.2008.07.002
44. Martínez-Balibrea E, Abad A, Aranda E, Sastre J, Manzano JL, Díaz-Rubio E, et al. Pharmacogenetic approach for capecitabine or 5-fluorouracil selection to be combined with oxaliplatin as first-line chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2008;44(9):1229-37.
45. Sastre J, Aranda E, Massuti B, Tabernero J, Chaves M, Abad A, et al. Elderly patients with advanced colorectal cancer derive similar benefit without excessive toxicity after first-line chemotherapy with oxaliplatin-based combinations: comparative outcomes from the 03-TTD-01 phase III study. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;70(2):134-44.
46. Aranda E, Valladares M, Martínez Villacampa M, Benavides Orgaz M, Gómez A, Massuti B, et al. Randomized study of weekly irinotecan plus high-dose 5-fluorouracil (FUIRI) versus biweekly irinotecan plus 5-fluorouracil/leucovorin (FOLFIRI), as first-line chemotherapy for patients with metastatic colorectal cancer: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors Study. *Ann Oncol* 2009;20(2):251-7.
47. Rivera F, Galán M, Tabernero J, Cervantes A, Vega-Villegas ME, Gallego J, et al. On behalf of the Spanish Cooperative Group for Digestive Tumour Therapy (TTD). Phase II trial of preoperative irinotecan-cisplatin followed by concurrent irinotecan-cisplatin and radiotherapy (IC/RT) for resectable locally advanced gastric and esophago-gastric junction adenocarcinoma. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 2009;75(5):1430-6.
48. Rivera F, Carrato A, Grávalos C, Pericay C, Sastre J, Aranda E. Recommendations on current approach to gastric cancer. *Clin Transl Oncol* 2009;11(8):518-25.
49. Van Cutsem E, Labianca R, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, et al. Randomized phase III trial comparing biweekly infusional fluorouracil/leucovorin alone or with irinotecan in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: PETACC-3. *J Clin Oncol* 2009;27(19):3117-25 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6663
50. Pérez Segura P, Guillén Alonso C, Ramón y Cajal T, Serrano Blanch R, Aranda E. Consensus document of the TTD on the diagnosis and management of hereditary colorectal cancer. *Clinical & Translational Oncology* 2010;2(5):356-66.
51. Martínez-Balibrea E, Abad A, Martínez-Cardús A, Ginés A, Valladares M, Navarro M, et al. UGT1A and TYMS genetic variants are predictive for toxicity and response in colorectal cancer patients treated with first-line irinotecan and fluorouracil combination therapy. *Br J Cancer* 2010;10;103(4):581-9.
52. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010;28(3):466-74. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.3452
53. Sastre J, Aranda E, Grávalos C, Massuti B, Varella-Garcia M, Rivera F, et al. First line single-agent cetuximab in elderly patients with metastatic colorectal cancer. A phase II clinical and molecular study of the Spanish group for digestive tumour therapy (TTD). *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2001;77:78-84.
54. Rivera F, Galán M, Tabernero J, Cervantes A, Vega-Villegas ME, Gallego J, et al. Phase II Trial of Preoperative Irinotecan-Cisplatin Followed by Concurrent Irinotecan-Cisplatin and Radiotherapy (IC/RT) for Unresectable, Locally Advanced Gastric and Oesophago-gastric Junction Adenocarcinoma. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2011;67(1):75-82.

55. Aranda E, Abad A, Carrato A, Cervantes A, García-Foncillas J, García P, et al. Treatment recommendations for metastatic colorectal cancer. *Clinical and Translational Oncology* 2011;13:162-78.
56. Díaz-Rubio E, Gómez-España A, Massutí B, Sastre J, Abad A, Valladares M, et al. First-line XELOX plus bevacizumab followed by XELOX plus bevacizumab or single-agent bevacizumab as maintenance therapy in patients with metastatic colorectal cancer: the phase III MACRO TTD study. *The Oncologist* 2012;17(1):15-25.
57. Salazar R, Navarro M, Losa F, Alonso V, Gallén M, Rivera F, et al. Phase II study of preoperative radiotherapy and concomitant weekly intravenous oxaliplatin combined with oral capecitabine for stages II-III rectal cancer. *Clinical and Translational Oncology*. *Clin Transl Oncol* 2012;14(8):592-8.
58. Benavides M, Pericay C, Valladares-Ayerbes M, Gil-Calle S, Massutí B, Aparicio J, et al. Oxaliplatin in combination with infusional 5-fluorouracil as first-line chemotherapy for elderly patients with metastatic colorectal cancer: a phase ii study of the Spanish cooperative group for the treatment of digestive tumors. *Clin Colorectal Cancer* 2012;11(3):200-6.
59. Sastre J, Gravalos C, Rivera F, Massuti B, Valladares-Ayerbes M, Marcuello E, et al. First-line cetuximab plus capecitabine in elderly patients with advanced colorectal cancer: clinical outcome and subgroup analysis according to K-RAS status from a Spanish TTD Group study. *The Oncologist* 2012;17:339-45.
60. Sastre J, Maestro M, Gómez-España A, Rivera F, Valladares M, Massuti B, et al. Circulating tumor cell count is a prognostic factor in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors study. *Oncologist* 2012;17(7):947-55.
61. Pérez Segura P, Guillén Ponce C, Ramón y Cajal T, Serrano Blanch R, Aranda E. Hereditary pancreatic cancer: molecular bases and their application in diagnosis and clinical management. A guideline of the TTD Group. *Clin Trans Oncol* 2012;14(8):553-63.
62. Díaz-Rubio E, Gómez-España A, Massutí B, Sastre J, Reboredo M, Manzano JL. Role of Kras status in patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: A TTD Group Cooperative Study. *PLoS One* 2012;7(10):e47345.
63. Díaz-Rubio E, Pietrantonio F, de Braud F. Colon rectal cancer XELOX (or FOLFOX) plus bevacizumab in first-line treatment of metastatic continuing single-agent bevacizumab as maintenance therapy after induction. *Oncologist* 2012;17(11):1426-8.
64. Aranda E, Manzano JL, Rivera F, Galán M, Valladares-Ayerbes C, Pericay MJ, et al. Phase II open-label study of erlotinib in combination with gemcitabine in unresectable and/or metastatic adenocarcinoma of the pancreas: relationship between skin rash and survival (Pantar study). *Ann Oncol* 2012;23(7):1919-25. DOI: 10.1093/annonc/mdr560
65. Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14(1):29-37. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70477-1
66. Carrato A, Gómez P, Escudero M, Chaves F, Rivera E, Marcuello E, et al. Panitumumab and irinotecan every 3 weeks is an active and convenient regimen for second-line treatment of patients with wild-type K-RAS metastatic colorectal cancer. *Clin Transl Oncol* 2013;15(9):705-11.
67. Köhne CH, Bedenne L, Carrato A, Bouche O, Popov I, Losa Gaspa F, et al. A randomised phase III intergroup trial comparing high-dose infusional 5-fluorouracil with or without folinic acid with standard bolus 5-fluorouracil/folinic acid in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: The Pan-European Trial in Adjuvant Colon Cancer 2 study. *Eur J Cancer* 2013;49(8):1868-75.
68. Sastre J, Vidaurreta M, Gómez A, Rivera F, Massutí B, Reboredo López M, et al. Prognostic value of the combination of circulating tumor cells plus KRAS in patients with metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy plus bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2013;12(4):280-6.
69. Martín-Richard M, Massutí B, Pineda E, Alonso V, Marmol M, Castellano D, et al. Maisonobe and on behalf of the TTD (Tumores del Tracto Digestivo) Study Group Antiproliferative effects of lanreotide autogel in patients with progressive, well-differentiated neuroendocrine tumours: a Spanish, multicentre, open-label, single arm phase II study. *BMC Cancer* 2013;13:427.
70. Losa F, Barrios P, Salazar R, Torres-Melero J, Benavides M, Massuti T, et al. Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy for treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal origin. *Clin Transl Oncol* 2014;16(2):128-40.
71. Taieb J, Tabernero J, Mini E, Subtil F, Folprecht G, Van Laethem JL, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab in patients with resected stage III colon cancer (PETACC-8): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(8):862-73.
72. Blons H, Emile JF, Le Malicot K, Julié C, Zaanen A, Tabernero J, et al. Prognostic value of KRAS mutations in stage III colon cancer: post hoc analysis of the PETACC8 phase III trial dataset. *Ann Oncol* 2014;25(12):2378-85.
73. Benavides M, Abad A, Ales I, Carrato A, Díaz Rubio E, Gallego J, et al. TTD consensus document on the diagnosis and management of exocrine pancreatic cancer. *Clin Transl Oncol* 2014;16(10):865-78.
74. García-Alfonso P, Chaves M, Muñoz A, Salud A, García González M, Grávalos C. Capecitabine and irinotecan with bevacizumab 2-weekly for metastatic colorectal cancer: The phase II AVAXIRI study. *BMC Cancer* 2015;15:327.
75. Rivera F, Massutí B, Salcedo M, Sastre J, Martínez Galán J, Valladares-Ayerbes M, et al. Phase II trial of minidox (reduced dose Docetaxel-Oxaliplatin-Capecitabine) in "suboptimal" patients with advanced gastric cancer (AGC). TTD 08-02. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015;75(2):319-24.
76. Sotelo MJ, Sastre J, Maestro ML, Veganzones S, Viéitez JM, Alonso V, et al. Role of circulating tumor cells as prognostic marker in resected stage III colorectal cancer. *Ann Oncol* 2015;26(3):535-41.
77. Salazar R, Capdevila J, Laquente B, Manzano JL, Pericay C, Martínez Villacampa M, et al. A randomized phase II study of capecitabine-based chemoradiation with or without bevacizumab in resectable locally advanced rectal cancer: clinical and biological features. *BMC Cancer* 2015;15:60. DOI: 10.1186/s12885-015-1053-z
78. Sastre J, Massuti B, Pulido G, Guillén-Ponce C, Benavides M, Manzano JL, et al. First-line single-agent panitumumab in frail elderly patients with wild-type KRAS metastatic colorectal cancer and poor prognostic factors: a phase II study of the Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumours. *European Journal of Cancer* 2015;51:1371-80.
79. Barrios P, Losa F, González-Moreno S, Rojo A, Gómez-Portilla A, Bretcha-Boix, P. Recommendations in the management of epithelial appendiceal neoplasms and peritoneal dissemination from mucinous tumours (Pseudomyxoma peritonei) *Clin Transl Oncol* 2016;18(5):437-48. DOI: 10.1007/s12094-015-1413-9.
80. André T, de Gramont A, Vernerey D, Chibaudel B, Bonnetain F, Tijeras-Raballand A, et al. Adjuvant fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in stage ii to iii colon cancer: updated 10-year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC study *JCO* November 2, 2015 *JCO*.2015.63.4238.
81. Aranda E, Aparicio J, Alonso V, García-Albéniz X, García-Alfonso P, Salazar R, et al. SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer 2015. *Clin Transl Oncol* 2015;17:972-81.
82. Benavides M, Antón A, Gallego J, Gómez MA, Jiménez-Gordo A, la Casta A, et al. Biliary tract cancers: SEOM clinical guidelines. *Clin Transl Oncol* 2015;17:982-7.

83. Sastre J, Díaz-Beveridge R, García-Foncillas H, Guardañó R, C. López, R. Pazo, N. Rodríguez-Salas, M. Salgado, A. Salud, J. Feliu. Clinical guideline SEOM: hepatocellular carcinoma. *Clin Transl Oncol* 2015;17:988-95.
84. Martin-Richard M, Custodio A, García-Girón C, Grávalos C, Gómez C, Jiménez-Fonseca P, et al. SEOM guidelines for the treatment of gastric cancer 2015. *Clin Transl Oncol* 2015;17:996-1004.
85. Boige V, Vincent M, Alexandre P, Tejpar S, Landolfi S, Le Malicot K, et al. DPYD genotyping to predict adverse events following treatment with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in patients with stage iii colon cancer: a secondary analysis of the PETACC-8 randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2016 Jan. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.5392
86. Taieb J, Zaanan A, Le Malicot K, Julié C, Blons H, Mineur L, et al. Prognostic effect of BRAF and KRAS mutations in patients with stage iii colon cancer treated with leucovorin, fluorouracil, and oxaliplatin with or without cetuximab: a post hoc analysis of the PETACC-8 Trial. *JAMA Oncol* 2016;14:1-11.
87. Ocaba O, Irigoyen A, Jiménez-Luna C, Benavides M, Ortuño FM, Gallego J, et al. Identification of gene expression profiling associated with erlotinib-related skin toxicity in pancreatic adenocarcinoma patients. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016;311:113-6.
88. González-Flores E, Losa F, Pericay C, Polo E, Rosello S, Safont MJ, et al. SEOM Clinical Guideline of localized rectal cancer. *Clin Transl Oncol* 2016;18:1163-71.
89. Grasselli J, Elez E, Caratù G, Matito J, Santos C, Macarulla T, Vidal J, et al. Concordance of blood- and tumor-based detection of RAS mutations to guide anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology* 2017 (in press). doi: 10.1093/annonc/mdx112
90. Irigoyen A, Gallego J, Guillén Ponce C, Vera R, Iranzo V, Ales I, et al. Gemcitabine-erlotinib versus gemcitabine-erlotinib-capecitabine in the first-line treatment of patients with metastatic pancreatic cancer: Efficacy and safety results of a phase IIb randomized study from the Spanish TTD collaborative group. *Eur J Cancer* 2017;75:73-82. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.032.

# Tratamiento médico del cáncer de colon en estadio II

A. NOGUERIDO, I. MATOS, J. CAPDEVILA

*Servicio de Oncología. Unidad de Tumores Digestivos. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

## RESUMEN

El objetivo de la quimioterapia adyuvante es disminuir el riesgo de recurrencia de enfermedad tras la realización de una cirugía tumoral radical, aumentando así la tasa de curación y supervivencia. Este beneficio está claramente demostrado en los pacientes diagnosticados de cáncer de colon en estadio III, siendo estándar el tratamiento complementario con esquemas basados en fluoropirimidinas y oxaliplatino. Sin embargo, no hay consenso acerca del beneficio en supervivencia que aporta este tratamiento en los pacientes con estadio II, por lo que su indicación es controvertida. La identificación de distintos factores tanto clínicos, histopatológicos como moleculares permite seleccionar a pacientes con un peor pronóstico, que presentan un potencial beneficio con la administración de un tratamiento adyuvante. El conocimiento y caracterización de dichos factores, así como el desarrollo de diversas plataformas genómicas que se está llevando a cabo en los últimos años, nos permitirá identificar mejor a estos pacientes.

**PALABRAS CLAVE:** Quimioterapia. Cáncer colorrectal. Estadios. Factores pronósticos y predictivos.

## INTRODUCCIÓN

La incidencia del cáncer de colon (CC) en España está aumentando según los últimos datos publicados a diferencia de la tendencia en otros países como Estados Unidos, en el que la incidencia ha disminuido un 3% anual desde 2004 a 2013 (1). Esto supone un importante problema de salud, ya que el CC es la segunda causa de muerte por cáncer en nuestro medio (2). No obstante, en los últimos años se ha observado una disminución progresiva en la tasa de mortalidad, probablemente debido a la incorporación de los programas de cribado y a la disponibilidad de tratamientos más eficaces (3).

## ABSTRACT

*The goal of adjuvant chemotherapy is to reduce the risk of recurrence following radical tumor surgery, thus increasing the rate of healing and survival. This benefit is clearly demonstrated in patients diagnosed with stage III colon cancer, being standard a complementary treatment with fluoropyrimidine and oxaliplatin-based regimens. However, there is no consensus about survival benefit of this treatment in patients with stage II, so its indication is controversial. Identification of different clinical, histopathological and molecular factors allow the selection of patients with a worse prognosis, who may present a potential benefit with an administration of the adjuvant treatment. The knowledge and characterization of these factors, as well as the development of several genomic platforms that is being carried out in recent years, will allow us to better identify these patients.*

**KEY WORDS:** Chemotherapy. Colorectal cancer. Stages. Prognostic and predictive factors.

Hasta un 70% de los pacientes con CC se diagnostican en estadios localizados, en los que la cirugía es potencialmente curativa. Sin embargo, un porcentaje de estos pacientes va a presentar una recidiva de la enfermedad, debido a la presencia de enfermedad mínima residual o micrometástasis ocultas. Para establecer un pronóstico inicial y estratificar a los pacientes se ha establecido la clasificación TNM 7ª edición (4) que define el estadio II del CC como tumores localizados que afectan a la grasa mesentérica (T3), alcanzan la serosa o la sobrepasan (T4a) e, incluso invaden órganos vecinos por contigüidad (T4b), pero no tienen afectación a distancia ni ganglionar (Tabla I).

TABLA I  
CLASIFICACIÓN TNM 7ª EDICIÓN

T	Tumor primario		
Tx	No puede ser evaluada la extensión del tumor		
T0	No hay evidencia de tumor primario		
Tis	Carcinoma in situ: afectación intraepitelial o invasión de la lámina propia		
T1	Tumor invade la submucosa		
T2	Tumor invade la muscular propia		
T3	Tumor infiltra la subserosa o tejidos pericólicas		
T4a	Tumor infiltra peritoneo visceral		
T4b	Tumor invade otros órganos o estructuras		
N	Afectación ganglionar		
Nx	No pueden ser evaluados		
N0	Ausencia de metástasis ganglionares regionales		
N1	Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales		
N1a	Metástasis en 1 ganglio linfático regional		
N1b	Metástasis en 2 o 3 ganglios linfáticos		
N1c	Depósito(s) tumoral(es) en la subserosa, mesenterio o tejidos pericólicos o perirrectales, sin ganglios regionales afectados		
N2	Metástasis en 4 o más ganglios linfáticos regionales		
N2a	Metástasis en 4 o 6 ganglios linfáticos regionales		
N2b	Metástasis en 7 o más ganglios linfáticos regionales		
M	Metástasis a distancia		
Mx	No pueden ser evaluadas las metástasis a distancia		
M0	Ausencia de metástasis a distancia		
M1	Presencia de metástasis a distancia		
M1a	Metástasis a distancia confinadas a un solo órgano		
M1b	Metástasis en más de un órgano/sitio o peritoneo		
<i>Grupos pronósticos</i>			
Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1-T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b



Esta última es la principal diferencia con el estadio III, el cual se caracteriza por presentar ganglios afectados, lo que ensombrece su pronóstico. En este contexto, la administración de quimioterapia adyuvante está indicada en el estadio III de CC, ya que el tratamiento con fluoropirimidinas ha demostrado una disminución en el riesgo de muerte del 10% al 15% (5), que se incrementa con la adición de oxaliplatino (6). Por otro lado, en el estadio II este beneficio es menor, del 3% al 5% (7), por lo que su uso no está claramente definido y se establece en las diferentes guías en función de la presencia de distintos factores pronósticos sin que exista un consenso entre ellas (8-10) (Tabla II). En el estadio II existen diferentes situaciones clinicopatológicas que le confieren un peor pronóstico que el propio estadio III, por lo que en estos pacientes la administración de quimioterapia adyuvante depende de diferentes factores de riesgo y de las características moleculares del tumor, que se analizarán por separado más adelante (11).

Los pacientes con un estadio II de CC tienen una probabilidad del 80% de permanecer libres de enfermedad, incluso sin recibir tratamiento adyuvante (12). Identificar a este 20% de pacientes que van a presentar recaídas locales o a distancia es nuestro gran desafío. Definir las características de esta población de alto riesgo nos permitirá seleccionar a los pacientes que pueden beneficiarse de un tratamiento adyuvante en este estadio (13,14).

#### QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE

##### TRATAMIENTO CON FLUOROPIRIMIDINAS Y OXALIPLATINO

Desde los años 90, el tratamiento adyuvante con fluoropirimidinas ha demostrado un aumento en supervivencia en pacientes con estadios III de CC (15-21). Posteriormente, los esquemas que añadían oxaliplatino han mejorado este resultado, por lo que actualmente el tratamiento combinado de fluoropirimidinas y oxaliplatino es el indicado para estos pacientes. Por el contrario, este beneficio en supervivencia es menor en los estadios II, por lo que no se recomienda su uso de forma sistemática.

Varios estudios demuestran un beneficio del tratamiento adyuvante con fluoropirimidinas en el estadio II. El estudio positivo con un mayor reclutamiento es el ensayo clínico QUASAR (22) que aleatorizó 3.239 pacientes, de los cuales 2.146 tenían un estadio II de CC, a recibir tratamiento con 5-fluoracilo (5FU/LV) con o sin levamisol frente a observación. El tratamiento con quimioterapia demostró una disminución significativa del 22% en el riesgo de recurrencia de enfermedad y un 18% de disminución en el riesgo de muerte, lo que se tradujo en un aumento absoluto en la supervivencia a 5 años del 3,6%. Los autores concluyen que este beneficio es suficiente para tratar a estos pacientes, asumiendo la toxicidad de la quimioterapia. Este estudio es criticado porque incluyó pacientes con cáncer de recto, algunos recibieron tratamiento con radioterapia pre o postoperatoria, un pequeño porcentaje recibió tratamiento mediante infusión hepática portal y no intravenosa y la mediana de ganglios aislados en la cirugía fue tan solo de 6. Un estudio dirigido por Taal BG y cols. randomizó 1.029 pacientes, un 45% tenían un estadio II, a recibir tratamiento con 5FU más levamisol frente a cirugía (23). Se obtuvo un aumento significativo en la supervivencia a 5 años del 70% al 78% para el estadio II, con una disminución del riesgo de muerte del 19%. La principal limitación de este estudio es que incluyó un alto porcentaje de pacientes con cáncer de recto. Un análisis combinado de los estudios de adyuvancia del grupo NSABP (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) que comparaban diferentes esquemas de fluoropirimidinas (NSABP-C-01 a C-05) demostró que el tratamiento beneficiaba a los estadios II en términos de supervivencia global (SG) (Hazard ratio (HR) = 0,58 (0,48-0,71),  $p < 0,0001$ ), supervivencia libre de enfermedad (SLE) (HR = 0,68 (0,57-0,81),  $p < 0,0001$ ) y reducción del riesgo de recurrencia (HR = 0,70 (0,54-0,91),  $p < 0,0068$ ) (24). Es importante destacar que en este análisis había un 42% de pacientes con estadio II. El meta-análisis de Wu X y cols., que incluyó 12 estudios randomizados, confirma los resultados anteriores. Los investigadores hallaron un beneficio en SG y SLE a 5 años estadísticamente sig-

TABLA II

DEFINICIÓN DE LOS ESTADIOS II DE ALTO RIESGO SEGÚN LAS GUÍAS DE CONSENSO

Guía	Definición
American Society of Clinical Oncology 2004	Tumor primario pT4, presentación con perforación, pobre diferenciación histológica o < 13 ganglios aislados
European Society for Medical Oncology 2012	Tumor primario pT4, invasión perineural o linfovascular, presentación con perforación u obstrucción, pobre diferenciación histológica o < 12 ganglios aislados
National Comprehensive Cancer Network 2016	Tumor primario pT4, invasión perineural o linfovascular, presentación con perforación u obstrucción, márgenes positivos o indeterminados, pobre diferenciación histológica (excluyendo a los pacientes con inestabilidad de microsátélites) o < 12 ganglios aislados

nificativo (HR: 0,81; 95% CI, 0,71-0,91,  $p = 0,0005$  y HR: 0,86; 95% CI, 0,75-0,98,  $p = 0,03$ ; respectivamente) a favor del tratamiento adyuvante frente a cirugía sola, con una reducción del riesgo de recurrencia también significativo (riesgo relativo (RR) 0,82; 95% CI, 0,71-0,95;  $p = 0,008$ ) (25). Este meta-análisis presenta la limitación de que algunos estudios incluían regímenes antiguos de quimioterapia y que no había un control de calidad de la cirugía realizada, lo que podría derivar en sesgos.

Sin embargo, otros estudios muestran resultados negativos. El INT-0035 comparó el tratamiento de 5-FU con levamisol frente a cirugía. 318 pacientes con estadio II fueron evaluables, en ellos se obtuvo una disminución del riesgo de recurrencia del 31% ( $p = 0,10$ ; RR 0,69; 95% CI, 0,44-1,08) pero con una mediana de 7 años de seguimiento no se obtuvo beneficio en supervivencia (72% en ambas ramas,  $p = 0,83$ ), probablemente por el bajo poder estadístico del estudio (26). En el estadio III la SG fue estadísticamente significativa a favor del tratamiento con quimioterapia, 60,2% frente 47% ( $p = 0,0007$ ). En este estudio se analizaron diferentes factores pronósticos, tras un análisis multivariante, la localización del tumor y la perforación fueron identificadas como factores pronósticos independientes para el estadio II. Al realizar el análisis de supervivencia en función de estos factores no se encontraron diferencias. Los autores discuten que probablemente eso se deba, entre otras causas, a que en el brazo de quimioterapia hubo una alta tasa de mortalidad por enfermedades no relacionadas con el CC. El INT-0089 intentó demostrar beneficio en supervivencia en pacientes de alto riesgo. Este estudio incluyó pacientes con estadio III y II de alto riesgo, definido por perforación del tumor primario, perforación y/u obstrucción intestinal y adherencia o invasión a órganos vecinos (27). Comparó tres esquemas distintos de 5-FU frente a cirugía. 3.759 pacientes fueron randomizados, un 20,5% correspondían a un estadio II de alto riesgo, pero no se encontraron diferencias en supervivencia entre las cuatro ramas. En el IMPACT-B2, tras analizar cinco estudios que evaluaban el tratamiento adyuvante con fluoropirimidinas, con un total de 56% de pacientes con estadio II, se alcanzó un aumento no significativo en la SG y SLE a los 5 años (80% vs. 82% y 73% vs. 76%, respectivamente) (28). Un meta-análisis realizado por el Gastrointestinal Cancer Disease Site Group of the Cancer Care Ontario Program in Evidence-Based Care (CCOPEBC) que incluyó 37 estudios y 11 meta-análisis, confirmó un aumento significativo en la SLE del 5% al 15% para el tratamiento adyuvante en los estadios II, pero no se correspondió con un incremento en la supervivencia global (29). Otro meta-análisis de siete estudios randomizados, con un total de 3.302 pacientes analizados, obtuvo datos similares. En los estadios II se observó un incremento en la SLE a 5 años a favor de la quimioterapia adyuvante 72% vs. 76% ( $p = 0,0490$ ), con un beneficio absoluto del 5% para la SG pero estadísticamente no significativo (80% vs. 81%;  $p = 0,1127$ ) (30).

El beneficio que aportan los esquemas combinados con fluoropirimidinas y oxaliplatino en los estadios II es más controvertido. Los estudios más importantes y que conllevaron a su aprobación son el NSABP-C07 y el MOSAIC. En el estudio NSABP-C07 se evaluó la eficacia de la adición de oxaliplatino a un esquema de 5-FU en bolus (FLOX) frente a la monoterapia (5FU/LV). Dos mil cuatrocientos noventa y dos pacientes fueron randomizados, un 29% con estadio II. El objetivo principal fue el aumento en SLE que se consiguió a favor del tratamiento con oxaliplatino en el grupo global, del 67,3% al 73,2% (HR: 0,81;  $p = 0,017$ ), pero este beneficio no se alcanzó en los estadios II en el análisis por subgrupos. En ninguno de los dos estadios se obtuvo beneficio en SG (31). El MOSAIC es un estudio randomizado que comparaba el tratamiento de oxaliplatino con 5-FU (FOLFOX) frente a 5-FU, ambos administrados en esquema infusional. Los pacientes con estadios III obtuvieron un beneficio en SG a los 6 años a favor del esquema FOLFOX del 68,7% a 72,9% (HR: 0,80; 95% CI, 0,65-0,97;  $p = 0,023$ ); mientras que en los estadios II solo se encontró una mejoría no significativa en la SLE (84% vs. 80%, HR 0,84,  $p = 0,26$ ) sin diferencias en la SG (32). En un análisis posterior tras un seguimiento de 10 años, se observó un aumento del 7% en la SLE y de un 2% en la SG en los pacientes con estadios II de alto riesgo definido por lesiones T4, debut con perforación y menos de 10 ganglios aislados. Este beneficio no fue estadísticamente significativo, probablemente por el pequeño número de pacientes analizados (33).

Todos los estudios comentados demuestran un beneficio del tratamiento adyuvante en estadio III. Como se ha descrito, en el estadio II los resultados no son tan claros, pero hay que tener en cuenta que los estudios se realizaron en población no seleccionada, incluyendo pacientes con estadio III y II, en los que estos últimos solían representar un pequeño porcentaje del total. En global podemos afirmar que hay una tendencia a un aumento en la supervivencia, sobre todo SLE, a favor del tratamiento adyuvante en el estadio II.

#### OTROS AGENTES

El uso de otros agentes de quimioterapia o de terapias biológicas, que han demostrado su eficacia en la enfermedad metastásica, no han aportado beneficio como tratamiento adyuvante. Los estudios CALGB C89803 (34), ACCORD-2 (35) y PETACC-3 (36) evaluaron diferentes esquemas de irinotecán con 5FU en adyuvancia. Ninguno de estos estudios demostró beneficio en supervivencia, y lo que sí se constató fue aumento significativo de la toxicidad grave en los esquemas con irinotecán. Tres estudios con bevacizumab y dos con cetuximab también han mostrado datos negativos. El NSABP-C08 aleatorizó a 2.672 pacientes a recibir FOLFOX frente

FOLFOX más bevacizumab (37). Con una mediana de seguimiento de 35,6 meses, la adición de bevacizumab no supuso un aumento en la SLE (HR: 0,89; 95% CI, 0,76-1,04;  $p = 0,15$ ). Un análisis exploratorio comprobó que el efecto del bevacizumab fue beneficioso en los primeros 15 meses (HR: 0,61; 95% CI, 0,48-0,78;  $p = 0,001$ ), pero este efecto no se mantuvo en el tiempo (HR: 1,22; 95% CI, 0,98-1,52;  $p = 0,076$ ). El AVANT comparó tres brazos de tratamiento, FOLFOX, FOLFOX más bevacizumab y XELOX más bevacizumab (38). No se encontró un aumento de SG a favor de los esquemas que incluían el anticuerpo monoclonal, con una HR de 1,27, (1,03-1,57;  $p = 0,02$ ) en la comparación de FOLFOX frente FOLFOX más bevacizumab y una HR de 1,15 (0,93-1,42;  $p = 0,21$ ) para FOLFOX frente XELOX más bevacizumab. El estudio QUASAR 2 comparó el tratamiento adyuvante de capecitabina más bevacizumab frente a capecitabina en monoterapia (39). No se encontraron diferencias en la SLE a 3 años que fue el objetivo principal del estudio, 75,4% en el grupo de capecitabina más bevacizumab frente 78,4% en el grupo de capecitabina en monoterapia (HR: 1,06, 95% CI 0,89-1,25,  $p = 0,54$ ). El estudio N0147 y PETACC-8 evaluaron el uso de cetuximab en adyuvancia. El N0147 estudió el beneficio de añadir cetuximab al esquema FOLFOX6 (40). La SLE para FOLFOX6 fue del 74,6% frente 71,5% con la adición de cetuximab (HR: 1,21; 95% CI, 0,98-1,49;  $p = 0,08$ ) en pacientes KRAS no mutado, y 67,1% frente 65% (HR: 1,12; 95% CI, 0,86-1,46;  $p = 0,38$ ) en pacientes con KRAS mutado. El PETACC-8 que comparó FOLFOX4 frente FOLFOX4 con cetuximab, confirmó los resultados anteriores. El añadir cetuximab a la quimioterapia no produjo beneficio en SLE (HR: 1,05; 95% CI, 0,85-1,29;  $p = 0,66$ ) (41).

#### FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS EN ESTADIO II DE CC

Como se ha descrito previamente, el papel de la QT adyuvante en los estadios II es limitado. Esta situación ha impulsado el estudio de diferentes factores para identificar a los pacientes con un mayor riesgo de recaída y que se podrían beneficiar del tratamiento adyuvante. Múltiples factores clinicopatológicos y moleculares se han evaluado para definir a este subgrupo de alto riesgo.

#### FACTORES CLINICOPATOLÓGICOS

Los factores clinicopatológicos que se asocian a un peor pronóstico son los tumores T4, la invasión linfovascular (ILV) y perineural (IPN), la pobre diferenciación histológica (incluyendo los tumores mucinosos), debut con obstrucción o perforación intestinal, márgenes afec-

tos, < 12 ganglios aislados en la cirugía y niveles preoperatorios elevados del antígeno carcinoembrionario (CEA) (Tabla III).

El factor que con mayor evidencia se asocia a un peor pronóstico es la presencia de lesiones T4, siendo incluso en diferentes series su riesgo de recaída equivalente al de la afectación ganglionar (42-45). También existen datos sólidos de la asociación de la ILV e IPN con un mal pronóstico (44,46-47). Es importante destacar que la presencia de IPN puede estar infraestimada. En un análisis retrospectivo, tras la revisión exhaustiva de las muestras de anatomía patológica, su incidencia aumentó del 1% inicial al 22%. Además, en este mismo estudio la IPN mostró una peor supervivencia a 5 años comparada con la presencia de ganglios positivos (29% vs. 56%,  $p < 0,0002$ ) (45). Por el contrario, el grado de diferenciación histológica no se asocia de forma consistente con un mayor riesgo de recaída (43-47). Los tumores pobremente diferenciados se correlacionan con la presencia de inestabilidad de microsatélites (IMS), que implica un mejor pronóstico. Probablemente, en estos pacientes el factor más importante sea el molecular, y los tumores pobremente diferenciados con un pronóstico adverso son los que tienen enfermedad de microsatélites estable (MSE) (48).

Actualmente, no existe un número específico de ganglios linfáticos examinados que defina a una cirugía como óptima, pero parece que un mayor número de ganglios aislados se asocia un mejor pronóstico (49). Las diferentes guías establecen que la extirpación de menos de 12 o 13 ganglios conlleva un mayor riesgo de recaída (44-47) (Tablas II-III). Sin embargo, este factor cada vez es más difícil de interpretar, ya que se ha descrito que un mayor número de ganglios refleja la presencia de una reacción inmune contra el tumor que, a su vez, se asocia a la presencia de IMS y por tanto, un mejor pronóstico (50). Los resultados acerca del debut de la enfermedad con obstrucción o perforación intestinal y la presencia de márgenes positivos tras la cirugía son variados, pero en muchos estudios han demostrado ser factores pronósticos independientes (47-51). El nivel preoperatorio de CEA > 5 ng/ml se asocia a una peor supervivencia, pero las guías de consenso consideran que los datos son insuficientes y no lo incluyen como factor pronóstico (52).

#### INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES (IMS)

La IMS produce un defecto en la reparación del ADN. Los microsatélites son secuencias repetitivas de nucleótidos que están presentes en el ADN y que son propensas a presentar mutaciones. Habitualmente, estas mutaciones son reparadas por los genes reparadores de errores, pero cuando estos genes están inactivados, se produce el fenómeno de la IMS, causando un tumor con fenotipo mutador.

TABLA III  
FACTORES PRONÓSTICOS EN ENFERMEDAD LOCALIZADA

<i>Variable</i>	<i>Nº de pacientes</i>	<i>Objetivo</i>	<i>HR</i>	<i>IC</i>	<i>p</i>	<i>Tipo de estudio</i>
T4 vs. T3						
Estadio II	114	SLR	3,06	0,99-9,44	0,051	Cohorte prospectiva (42)
Estadio II	352	SCE	2,78	1,56-4,97	< 0,001	Serie retrospectiva (43)
Estadio II	707	SLR	1,87	1,25-2,81	0,004	Ensayo clínico QUASAR (44)
Estadio II y III	1404	SLR	1,73	1,38-2,17	< 0,001	Ensayo clínico PETTAC 3 (45)
ILV vs. no IVL						
Estadio II	711	SLR	1,43	0,90-2,28	0,15	Ensayo clínico QUASAR (44)
IPN vs. no IPN						
Estadio I-IV	249	SCE	2,17	1,16-4,04	0,02	Serie retrospectiva (46)
ILV y IPN vs. no						
Estadio II y III	1437	SLE	2,40	1,84-3,12	0,0001	Cohorte prospectiva (47)
Pobre grado de diferenciación y mucinoso vs. no	1437	SLE	1,32	0,98-1,77	0,06	Cohorte prospectiva (47)
Estadio II y III	889	SCE	1,77	1,26-2,47	0,001	Serie retrospectiva (43)
Estadio I-IV						*En estadio II, no factor pronóstico
Alto grado y IMS vs. no Tumores operados	738	SCE	0,75	0,31-1,82	0,52	Serie retrospectiva (48)
Alto grado y MSE vs. no Tumores operados	738	SCE	2,54	1,86-3,47	0,001	Serie retrospectiva (48)
< 12 vs. > 12 ganglios						
Estadio II	657	SLE	1,43	0,98-2,08	0,058	Ensayo clínico QUASAR (44)
Estadio II y III	1437	SLE	1,29	1,03-1,62	0,025	Cohorte prospectiva (47)
Márgenes afectos vs. no Estadios II y III	1437	SLE	1,70	1,19-2,44	0,004	Cohorte prospectiva (47)
Obstrucción vs. no Estadio II	194	SLE	3,76	1,2-11,09	0,02	Cohorte prospectiva (51)
Perforación vs. no Estadio II	194	SLE	5,48	1,8-16,5	0,01	Cohorte prospectiva (51)
CEA > 5 ng/ml vs. no Estadio II y III	1437	SLE	1,33	1,07-1,66	0,01	Cohorte prospectiva (47)
MSI vs. MSE						
Estadio II	1913	SLR	0,53	0,40-0,70	0,001	Ensayo QUASAR (52)
Estadio II y III	1404	SLR	0,54	0,0,37-0,81	0,003	Ensayo PETTAC-3 (14)
BRAF mut vs. no Estadio II y III	2226	SG	1,46	1,20-1,79	0,0001	Ensayo NSABP C07/08 (54)
BRAF mut vs. no (MSI)						
Estadio III	304	SLE	1,58	0,88-2,82	0,12	Ensayo N0147 (57)
Estadio II y III	201	SG	1,76	0,88-3,49	0,11	Ensayo NSABP C07/08 (54)
BRAF mut vs. no (MSE)						
Estadio III	2176	SLE	1,32	1,01-1,73	0,044	Ensayo N0147 (57)
Estadio II y III	1534	SG	1,58	1,22-2,03	0,0005	Ensayo NSABP C07/08 (54)
BRAF mut vs. no (MSE + izqd)	697	SG	6,41	3,57-11,52	0,0001	Ensayo PETTAC-3 (58)
Estadio II y III						
KRAS mut vs. no Estadio II y III	2081	SG	1,09	0,92-1,29	0,33	Ensayo NSABP C07/08 (54)
Aspirina vs. no aspirina						
PIK3CA mut. Estadio I y IV	161	SCE	0,18	0,05-0,60	0,0001	Cohorte prospectiva (60)

*SCE: supervivencia cáncer específica; SLR: supervivencia libre de recaída.*

La IMS aparece en aproximadamente el 20% de pacientes con tumores estadio II de CC y tiene un impacto positivo en su supervivencia (52). Estos pacientes tienen un menor riesgo de recidiva sin necesidad de recibir tratamiento QT adyuvante e incluso, en algunos estudios la QT se ha asociado a un efecto deletéreo. En un análisis de un total de 457 pacientes incluidos en 5 estudios randomizados que valoraban el papel de la QT adyuvante con 5-FU en estadios II y III, se observó que la QT no aumentó la SLE en los tumores con IMS en el grupo global (HR: 1,10; 95% IC, 0,42-2,91;  $p = 0,85$ ) y causó una menor SG en los pacientes con IMS y estadio II (HR: 2,95; 95% CI, 1,02-8,54;  $p = 0,04$ ) (53). La IMS fue un factor pronóstico positivo en los pacientes tratados solo con cirugía. En base a estos datos, en los estadios II de CC con IMS no está indicado administrar QT adyuvante, al contrario que en los pacientes con estadio III. En ellos, el efecto positivo de la IMS no es tan robusto por lo que se recomienda el tratamiento QT adyuvante con FOLFOX, el oxaliplatino parece que mantiene su eficacia en este contexto (54).

Datos preclínicos y clínicos sugieren que la IMS es sensible al tratamiento con irinotecán. En el estudio PETACC-3, los pacientes con estadio II e IMS presentaron un aumento de SG a favor del tratamiento adyuvante con 5-FU e irinotecán frente a 5-FU en monoterapia (HR: 0,16, 95% CI, 0,04-0,64,  $p = 0,01$ ) (55). Además, en un análisis del estado de la IMS en el estudio NSABPC-08 que valoraba la adición de bevacizumab a FOLFOX, la IMS se asoció a un aumento en supervivencia estadísticamente significativo a favor de la QT combinada con bevacizumab (HR: 0,52; 95% IC, 0,29-0,94;  $p = 0,02$ ) (56). Estos resultados demuestran que el valor predictivo de respuesta a la QT de la IMS todavía no está aclarado.

#### BRAF/KRAS/PIK3CA Y OTROS FACTORES MOLECULARES

La mutación en BRAF-V600E es un importante factor pronóstico, asociándose significativamente a una peor supervivencia (54). El problema es que su interpretación se debe realizar en conjunto con la IMS y la localización tumoral, como se muestra en la tabla III. La asociación de la mutación en BRAF con la MSE y los tumores izquierdos le confiere un mayor impacto negativo en supervivencia (57). Sin embargo, en tumores con IMS, el estado mutacional de BRAF no es factor pronóstico independiente (HR: 1,33; 95% CI, 0,87-2,04) (58).

Recientemente, se ha estudiado el valor de KRAS en la enfermedad localizada. Los datos reflejan que la mutación en KRAS conlleva un mal pronóstico en tumores BRAF no mutados (52). En la mayoría de los casos, estas mutaciones son mutuamente excluyentes (54). Su impacto en supervivencia es pequeño y principalmente se relaciona con la mutación en el codón 12 y con tumores izquierdos (59). La mayoría de los estudios que han evaluado el estatus de KRAS lo han hecho en pacientes con estadios III, por lo

que su implicación en los estadios II es más incierta. Sí es conocido, que las mutaciones en KRAS carecen de valor predictivo de respuesta al tratamiento con anti-EGFR en la adyuvancia, en el estudio N0147 la adición de cetuximab a la QT no aumentó la supervivencia y este resultado fue independiente del estado de KRAS (40,41).

El valor de PIK3CA como factor pronóstico no está claro en este estadio (54), pero existen datos que apoyan la administración de aspirina tras una cirugía radical de CC con mutación en PIK3CA (60). Sin embargo, esto puede ser un factor de confusión relacionado con algún otro marcador molecular por lo que se necesita más evidencia.

Otros factores moleculares se han evaluado como factores pronósticos. Clásicamente, la presencia de la delección en 18q (18qLOH) se asoció a un mayor riesgo de recaída en los tumores estadio II, pero estudios más recientes ponen en duda su significación pronóstica (42) y un meta-análisis que revisó 17 publicaciones, indica que son necesarios estudios prospectivos para determinar su papel pronóstico (61). SMAD4 es un mediador transcripcional involucrado en el desarrollo del CC, su pérdida de expresión se asocia a una peor SG (HR: 0,43, 95% IC, 0,27-0,70,  $p = 0,001$ ) (45). CDX2 es una proteína que regula el desarrollo del tracto gastrointestinal y oncogénesis, siendo su expresión muy específica en el epitelio intestinal. Los tumores con pérdida de expresión de CDX2 son más agresivos con una pobre supervivencia (12,1% vs. 87,9%, HR: 2,42,  $p = 0,003$ ) y parece que se benefician de la QT adyuvante (91% vs. 56%,  $p = 0,006$ ) en un análisis retrospectivo (62).

#### PLATAFORMAS GENÓMICAS Y SUBTIPOS MOLECULARES

Las principales plataformas genómicas desarrolladas en los últimos años se muestran en la tabla IV. Oncotype es la primera firma que se desarrolló y la más estudiada. Esta firma evalúa la expresión de 12 genes y clasifica a los pacientes en función de un score en bajo, intermedio y alto riesgo. Este *score* se asocia de forma significativa con el riesgo de recurrencia (HR: 1,38, 95% IC, 1,11-1,74,  $p = 0,004$ ) pero no es predictivo del beneficio de la QT adyuvante (44). ColoPrint es otra plataforma que analiza 18 genes e identifica a pacientes de bajo y alto riesgo con impacto en supervivencia (87,6% vs. 67,2%; HR: 2,5; 95% IC 1,33-4,73,  $p < 0,005$ ) (42).

Además de estas plataformas, otras firmas y algoritmos de genes y análisis de microRNA se han estudiado y se muestran en la tabla IV.

La información pronóstica que añaden estas herramientas a los factores clinicopatológicos es escasa, por lo que no se recomienda tomar decisiones en función únicamente de los resultados de estas firmas (64). Actualmente, se está llevando a cabo un estudio prospectivo que compara el riesgo de recurrencia evaluado por ColoPrint frente a criterios clinicopatológicos (número de registro [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) NCT00903565); y además, están pendientes resultados de

TABLA IV  
FIRMAS GÉNICAS Y EXPRESIÓN MICRORNA

<i>Firma génica</i>	<i>Nº pacientes</i>	<i>Objetivo</i>	<i>HR</i>	<i>IC 95%</i>	<i>Validación</i>
OncoType DX					
Estadio II	711	RR	1,43	1,11-1,83	Ensayo QUASAR ( 44)
ColoPrint					
Estadio I-III	206	SLE	2,69	1,41-5,14	Cohorte prospectiva (42)
Veridex					
Estadio II y III	688	SLE	1,27	1,07-1,51	Ensayo PETACC-3 (63)
GeneFx Colon					
Estadios II y III	688	SLE	1,20	1.02-1,40	Ensayo PETACC-3 (63)
microRNA					
Estadio II	460	SLE	3,70	2,56-5,35	Cohorte prospectiva (64)

análisis de coste-eficacia con estas plataformas. Sin embargo, se continúan creando modelos predictivos nuevos. GIV o GIRDIN es una proteína que regula múltiples vías de señalización implicadas en la carcinogénesis, como PI3K/Akt y STAT3. Recientemente, se ha creado un modelo basado en GIV y la ILV que estratifica el riesgo de recidiva en pacientes con estadios II, pero, al igual que el resto, se necesitan estudios prospectivos para validarlo (65).

Los avances en el estudio del genoma han permitido definir a cuatro subtipos intrínsecos de CC en función de los genes que expresan, que son el tipo inmune, canónico, metabólico y mesenquimal (66). Estos subtipos responden de distinta forma a los agentes antineoplásicos y tienen un pronóstico diferente, parece que los tumores mesenquimales tienen una peor supervivencia (67). Estas diferencias confirman que los procesos biológicos implicados en cada subtipo tienen relevancia clínica y nos podrían ayudar a la hora de decidir cuál es el mejor tratamiento para nuestros pacientes. En un futuro, esta clasificación molecular podría ser aplicada en ensayos clínicos en enfermedad localizada.

#### CONCLUSIONES

El beneficio de la QT adyuvante en los estadios II de CC es limitado, por lo que su administración se indica en función de la presencia de distintos factores de riesgo. La mayor evidencia de beneficio en supervivencia se ha observado en los estudios con 5FU adyuvante (22), sin embargo, el beneficio de la adición de oxaliplatino se extrapola de los datos obtenidos en los estadios III y de los resultados del subanálisis del estudio MOSAIC, en el que se demostró un aumento no significativo del 7% en SLE en pacientes con estadios II de alto riesgo (33).

Los factores de riesgo clinicopatológicos están recogidos en las diferentes guías de consenso que se usan en la práctica clínica habitual (8-10) (Tabla II). Estos factores han demostrado tener implicación pronóstica independiente en análisis multivariantes, pero no existen ensayos clínicos randomizados que valoren el beneficio de la QT adyuvante en pacientes con estadios II de alto riesgo frente a un grupo control, por lo que su impacto en supervivencia no está establecido.

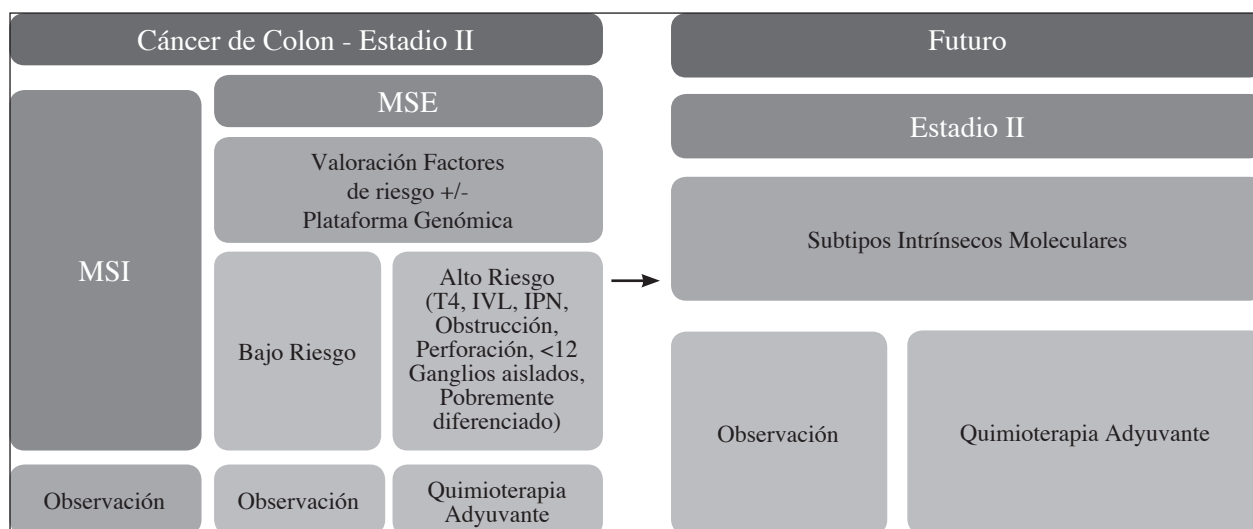


Fig. 1. Algoritmo terapéutico y perspectiva de futuro.

En particular, los factores moleculares cada vez tienen mayor relevancia clínica. Está claramente demostrado que los tumores MSI tienen un mejor pronóstico y no se benefician de tratamiento adyuvante (52,53); sin embargo la guía NCCN es la única que lo incluye. Por otro lado, las mutaciones en BRAF y KRAS se asocian a una peor SG (54), pero se necesita mayor evidencia para tomar decisiones en base a ellas. En este contexto, se han desarrollado las plataformas genómicas, pero la información que aportan a los factores clinicopatológicos es limitada y no predicen beneficio con QT adyuvante, por lo que no se recomienda su uso de forma sistemática (64).

En conclusión, la decisión de administrar QT adyuvante en los estadios II de CC se debe realizar de forma individualizada con cada paciente (Fig. 1), en función de su estado general y comorbilidad, y la presencia de factores de riesgo tanto clínicos como moleculares, valorando así el riesgo-beneficio de la QT.

**CORRESPONDENCIA:**

Jaume Capdevilla  
Servicio de Oncología. Unidad de Tumores Digestivos  
Hospital Universitario Vall d'Hebron  
Passeig de la Vall d'Hebron, 119-129  
08035 Barcelona  
e-mail: jacapdevila@vhebron.net

**BIBLIOGRAFÍA**

- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics 2017. *CA Cancer J Clin* 2017;67(1):730.
- GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. ARCI: OMS; [último acceso el 22/02/17]. Accesible en: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>.
- Bosetti C, Levi F, Rosato V, et al. Recent trends in colorectal cancer mortality in Europe. *Int J Cancer* 2011;129(1):180-91.
- Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC cancer staging manual* (7th ed). New York, NY: Springer; 2010.
- Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: Who benefits and by how much? *J Clin Oncol* 2004;22:1797-806.
- André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2343-51.
- Gray R, Barnwell J, McConkey C, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: A randomised study. *Lancet* 2007;370:2020-9.
- Benson AB 3rd, Schrag D, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3408-19.
- Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, et al. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24(Suppl 6):vi64-72.
- National Comprehensive Cancer Network: NCCN Guidelines: Colon Cancer, Version 2.01.6. Washington; (último acceso el 27/02/17). Disponible en: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/colon.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf)
- Vergo MT, Benson AB 3rd. Point: Treating stage II colon cancer: the quest for personalized adjuvant care. *J Natl Compr Canc Netw* 2012;1;10(11):1370-4.
- Nitsche U, Maak M, Schuster T, et al. Prediction of prognosis is not improved by the seventh and latest edition of the TNM classification for colorectal cancer in a single-center collective. *Ann Surg* 2011;254:793-800; discussion 800-1.
- Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, et al. Colorectal cancer. *Lancet* 2010;375:1030-47.
- Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S, et al. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1635-46.
- Wolmark N, Fisher B, Rockette H, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy or BCG for colon cancer: results from NSABP protocol C-01. *J Natl Cancer Inst* 1988;80:30.
- Zaniboni A, Labianca R, Marsoni S, et al. GIVIO-SITAC 01: A randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and folinic acid administered to patients with colon carcinoma—long term results and evaluation of the indicators of health-related quality of life. *Gruppo Italiano Valutazione Interventi in Oncologia. Studio Italiano Terapia Adjuvante Colon Cancer* 1998;82:2135.
- Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet* 1995;345:939.
- Francini G, Petrioli R, Lorenzini L, et al. Folinic acid and 5-fluorouracil as adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Gastroenterology* 1994;106:899.
- O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:246.
- Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol* 1989;7:1447.
- Five-year results of a randomized controlled trial of adjuvant chemotherapy for curatively resected colorectal carcinoma. The Colorectal Cancer Chemotherapy Study Group of Japan. *Jpn J Clin Oncol* 1995;25:91.
- Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, et al. Adjuvant chemotherapy vs. observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. *Lancet* 2007;370:2020.
- Taal BG, Van Tinteren H, Zoetmulder FA; NACCP group. Adjuvant 5FU plus levamisole in colonic or rectal cancer: improved survival in stage II and III. *Br J Cancer* 2001;16;85(10):1437-43.
- Wilkinson NW, Yothers G, Lopa S, et al. Long-term survival results of surgery alone vs. surgery plus 5 fluorouracil and leucovorin for stage II and stage III colon cancer: pooled analysis of NSABP C-01 through C-05. A baseline from which to compare modern adjuvant trials. *Ann Surg Oncol* 2010;17(4):959-66.
- Wu X, Zhang J, He X, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy for stage II colorectal cancer: a systematic review of 12 randomized controlled trials. *J Gastrointest Surg* 2012;16(3):646-55.
- Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II/III colon cancer. *J Clin Oncol* 1995;13(12):2936-43.
- Haller DG, Catalano PJ, Macdonald JS, et al. Phase III study of fluorouracil, leucovorin, and levamisole in high-risk stage II and III colon cancer: final report of Intergroup 0089. *J Clin Oncol* 2005;1;23(34):8671-8.
- Marsoni S, International Multicenter Pooled Analysis of Colon Cancer Trials Investigators. Efficacy of adjuvant fluorouracil and leucovorin in stage B2 and C colon cancer. International multicenter pooled analysis of colon cancer trials investigators. *Semin Oncol* 2001;28(1 Suppl 1):14-9.
- Figueredo A, Charette ML, Maroun J, et al. Adjuvant therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. *J Clin Oncol* 2004;22:3395.

30. Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? *J Clin Oncol* 2004;22:1797.
31. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol* 2007;25:2198.
32. André T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009;27:3109.
33. André T, de Gramont A, Vernerey D, et al. Adjuvant fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in stage II to III colon cancer: Updated 10-year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol* 2015;33:4176.
34. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. *J Clin Oncol* 2007;10:25(23):3456-61.
35. Ychou M, Raoul JL, Douillard JY, et al. A phase III randomised trial of LV5FU2 + irinotecan vs. LV5FU2 alone in adjuvant high-risk colon cancer (FNCLCC Accord02/FFCD9802). *Ann Oncol* 2009;20:674-80.
36. Van Cutsem E, Labianca R, Bodoky G, et al. Randomized phase III trial comparing biweekly infusional fluorouracil/leucovorin alone or with irinotecan in the adjuvant treatment of stage III colon cancer: PETACC-3. *J Clin Oncol* 2009;27:3117-25.
37. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, et al. Bevacizumab in stage II-III colon cancer: 5-year update of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-08 trial. *J Clin Oncol* 2013;31:359-64.
38. De Gramont A, Van Cutsem E, Schmoll HJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): A phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2012;13:1225-33.
39. Kerr RS, Love S, Segelov E, et al. Adjuvant capecitabine plus bevacizumab vs. capecitabine alone in patients with colorectal cancer (QUASAR 2): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(11):1543-57.
40. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S, et al. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: A randomized trial. *JAMA* 2012;307:1383-93.
41. Taieb J, Tabernero J, Mini E, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab in patients with resected stage III colon cancer (PETACC-8): An open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:862-73.
42. Salazar R, Roepman P, Capella G, et al. Gene expression signature to improve prognosis prediction of stage II and III colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:17-24.
43. Snaebjornsson P, Coupe VM, Jonasson L, et al. PT4 stage II and III colon cancers carry the worst prognosis in a nationwide survival analysis. Shepherd's local peritoneal involvement revisited. *Int J Cancer* 2014;135:467-78.
44. Gray RG, Quirke P, Handley K, et al. Validation study of a quantitative multigene reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for assessment of recurrence risk in patients with stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:4611-9.
45. Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S, et al. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1635-46.
46. Liebig C, Ayala G, Wilks J, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5131-7.
47. Huh JW, Lee JH, Kim HR, et al. Prognostic significance of lymphovascular or perineural invasion in patients with locally advanced colorectal cancer. *Am J Surg* 2013;206:758-63.
48. Rosty C, Williamson EJ, Clendenning M, et al. Should the grading of colorectal adenocarcinoma include microsatellite instability status? *Hum Pathol* 2014;45:2077-84.
49. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: A secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol* 2003;21:2912-9.
50. Ogino S, Noshio K, Irahara N, et al. Lymphocytic reaction to colorectal cancer is associated with longer survival, independent of lymph node count, microsatellite instability, and CpG island methylator phenotype. *Clin Cancer Res* 2009;15:6412-20.
51. Hatano S, Ishida H, Ishibashi K, et al. Identification of risk factors for recurrence in high-risk stage II colon cancer. *Int Surg* 2013;98:114.
52. Hutchins G, Southward K, Handley K, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1261-70.
53. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3219-26.
54. Gavin PG, Colangelo LH, Fumagalli D, et al. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: An assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin Cancer Res* 2012;18:6531-41.
55. Klingbiel D, Saridaki Z, Roth AD, et al. Prognosis of stage II and III colon carcinoma treated with adjuvant 5-FU or FOLFIRI in relation to microsatellite status: Results of the PETACC-3 trial. *Ann Oncol* 2015;26:126-32.
56. Pogue-Geile K, Yothers G, Taniyama Y, et al. Defective mismatch repair and benefit from bevacizumab for colon cancer: Findings from NSABP C-08. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:989-92.
57. Popovici V, Budinska E, Bosman FT, et al. Context-dependent interpretation of the prognostic value of BRAF and KRAS mutations in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2013;13:439.
58. Sinicrope FA, Mahoney MR, Smyrk TC, et al. Prognostic impact of deficient DNA mismatch repair in patients with stage III colon cancer from a randomized trial of FOLFOX-based adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2013;31:3664-72.
59. Imamura Y, Morikawa T, Liao X, et al. Specific mutations in KRAS codons 12 and 13, and patient prognosis in 1075 BRAF wild-type colorectal cancers. *Clin Cancer Res* 2012;18:4753-63.
60. Liao X, Lochhead P, Nishihara R, et al. Aspirin use, tumor PIK-3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N Engl J Med* 2012;367:1596-606.
61. Papat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2005;41(14):2060-70.
62. Dalerba P, Sahoo D, Paik S et al. CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2016;21:374(3):211-22.
63. Di Narzo AF, Tejpar S, Rossi S, et al. Test of four colon cancer risk-scores in formalin fixed paraffin embedded microarray gene expression data. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:10.
64. Zhang JX, Song W, Chen ZH, et al. Prognostic and predictive value of a microRNA signature in stage II colon cancer: A microRNA expression analysis. *Lancet Oncol* 2013;14:1295-306.
65. Ghosh P, Tie J, Muranyi A, et al. Girdin (GIV) Expression as a Prognostic Marker of Recurrence in Mismatch Repair-Proficient Stage II Colon Cancer. *Clin Cancer Res* 2016;15:22(14):3488-98.
66. Dienstmann R, Vermeulen L, Guinney, et al. Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2017;17(2):79-92.
67. Dienstmann R, Salazar R, Tabernero J. Personalizing colon cancer adjuvant therapy: selecting optimal treatments for individual patients. *J Clin Oncol* 2015;1:33(16):1787-96.



# Primera línea de tratamiento del cáncer colorrectal metastásico

M. J. SAFONT AGUILERA<sup>1</sup>, M. GIL RAGA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario de Valencia. Valencia. <sup>2</sup>Servicio de Oncología Médica. Hospital de Sagunto. Sagunto, Valencia

## RESUMEN

En las últimas décadas se ha producido un notable avance en el manejo del cáncer colorrectal metastásico (CCRm). La combinación de múltiples fármacos citotóxicos y las nuevas terapias dirigidas ha permitido alcanzar una supervivencia global superior a los 30 meses, así como aumentar la tasa de resección quirúrgica con intención curativa de la enfermedad metastásica. Actualmente, la elección de la primera línea de tratamiento sistémico se basa principalmente en el objetivo terapéutico, el estado general del paciente, y el estado mutacional de los genes *RAS* y *BRAF*. La integración de la quimioterapia con la cirugía y otras técnicas ablativas debe realizarse de forma individualizada dentro de un comité multidisciplinar de tumores.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer colorrectal. *RAS*. Quimioterapia. Bevacizumab. Cetuximab. Panitumumab.

## ABSTRACT

*In the last decades, there has been a notable advance in the management of metastatic colorectal cancer. The combination of multiple cytotoxic drugs and the new targeted therapies has achieved an overall survival of more than 30 months, as well as an increase in the rate of curative-intent surgical resections of metastatic disease. Currently, the choice of the first line of systemic treatment is based on the therapeutic objective, the general condition of the patient, and the mutational status of the *RAS* and *BRAF* genes. The integration of chemotherapy with surgery and other ablative techniques must be performed individually within a multidisciplinary tumor committee.*

**KEY WORDS:** Colorectal cancer. *RAS*. Chemotherapy. Bevacizumab. Cetuximab. Panitumumab.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es el segundo tumor más frecuentemente diagnosticado en Europa y supone una importante causa de muerte por cáncer a nivel mundial. En España se diagnosticaron en el año 2012 19.261 casos en hombres y 12.979 casos en mujeres, y fallecieron por esta patología 8.742 hombres y 5.958 mujeres (segunda causa de mortalidad por cáncer en ambos sexos) (1). Más de un 25% de los pacientes se diagnostican con enfermedad avanzada, y un 25% de los pacientes con estadios iniciales presentan una recaída durante el seguimiento (2). De todos ellos, el 80%-90% tienen enfermedad hepática irreseccable.

Pese a la importante mejoría del pronóstico en la última década, el CCRm se considera incurable en la mayoría de los casos con una mediana de supervivencia global cercana a los 30 meses. Los principales factores que han contribuido a este incremento de la supervivencia son: la detección más temprana de la enfermedad metastásica, la mejoría en la eficacia de los tratamientos sistémicos, el aumento del número de pacientes que se benefician del tratamiento local de la metástasis y la implementación de los tratamientos de soporte en la estrategia terapéutica (3). En la actualidad, la elección del tratamiento óptimo para cada paciente se basa principalmente en la intención del tratamiento, el estado general y las comorbilidades del paciente, y el estado mutacional de los genes *RAS* y *BRAF*.

## BIOLOGÍA TUMORAL Y PAPEL DE LOS BIOMARCADORES

En la última década ha mejorado notablemente el conocimiento de la heterogeneidad genética y biológica que subyace a la variabilidad clínica y patológica del CCR. En enfermedad metastásica, el desafío actual es comprender los fundamentos moleculares que expliquen la progresión de la enfermedad, así como la respuesta o resistencia a los distintos tratamientos (4). Cada vez existe mayor evidencia de que la carcinogénesis de los tumores originados en el colon derecho es diferente a la de los originados en el colon izquierdo, cuyo reflejo es la existencia de características patológicas y moleculares diferentes (mayor frecuencia de mutaciones en el gen *BRAF*, inestabilidad de microsatélites (IMS) e histología de alto grado en la localización derecha). Este hecho puede tener implicaciones pronósticas y predictivas importantes. Resultados obtenidos de estudios retrospectivos muestran una asociación de los tumores izquierdos con un menor riesgo de muerte (5,6) y con una mayor respuesta a los IEGFR (inhibidores de *epidermal growth factor receptor*) (7).

El principal biomarcador hasta el momento en el CCRm es el estado mutacional de los genes de la familia *RAS* (*KRAS* y *NRAS*) en los exones 2, 3 y 4 que permite seleccionar a aquellos pacientes candidatos a recibir fármacos IEGFR. Las mutaciones de estos genes (aproximadamente el 50% de los casos) producen la activación amplificada de la vía metabólica *RAS/RAF/MAPK*, implicada en el control de múltiples funciones celulares como el crecimiento y la supervivencia, observándose un efecto deletéreo del tratamiento con estos fármacos (cetuximab y panitumumab) en los pacientes *RAS* mutado (8,9). Además de su valor predictivo, las mutaciones en *KRAS* tienen un valor pronóstico independiente asociado a una menor supervivencia (10).

Por otro lado, la presencia de la mutación V600E en el gen *BRAF* (también implicada en la activación de la vía *RAS/RAF/MAPK*) se ha asociado a un peor pronóstico (mediana de supervivencia de 10,4 meses en pacientes con la mutación vs. 34,7 meses en los nativos) (11). Aunque algunos estudios sugieren el valor predictivo negativo de esta mutación en líneas avanzadas, su papel en primera línea todavía no está claramente establecido. Venderbosch y colaboradores (12) sugirieron en un análisis conjunto de 4 estudios fase 3 en primera línea de CCRm, no solo el valor pronóstico negativo de la mutación de *BRAF*, sino también el de la presencia de inestabilidad de microsatélites (IMS). Dados los datos publicados sobre el valor predictivo de la IMS en la respuesta al bloqueo inmunológico con pembrolizumab (tasa de respuesta (TR) del 40% y tasa de supervivencia libre de progresión (SLP) mayor de 6 meses del 78%), se recomienda realizar su determinación en CCRm para seleccionar aquellos pacientes candidatos a recibir inmunoterapia (13).

En los últimos años están emergiendo nuevos posibles biomarcadores predictivos de respuesta a diferentes fármacos antidiaria (especialmente a terapias anti-EGFR) como son la amplificación de los genes *HER2*, *MET* y *KRAS*, los ligandos TGF- $\alpha$ , ampiregulin y epiregulin, y las mutaciones en los genes *EGFR*, *HER3*, *PI3KCA* y *PTEN*, aunque su valor en primera línea de tratamiento fuera de ensayo clínico todavía no está establecido.

## DETERMINACIÓN DE LA ESTRATEGIA ÓPTIMA DE TRATAMIENTO

Un pilar fundamental en la determinación de la estrategia óptima de tratamiento es la valoración individualizada de cada paciente en un comité multidisciplinar de tumores (CMT). El primer paso es determinar si un paciente con CCRm es inicialmente resecable, inicialmente irresecable o probablemente nunca resecable. Múltiples series han demostrado tasas de curación entre el 20%-50% de los pacientes con enfermedad oligometastásica confinada a un órgano tras metastasectomías R0 (principalmente hepáticas), por lo que la cirugía se ha convertido en el estándar de tratamiento en este contexto. Por otro lado, en enfermedad metastásica más extensa y/o afectación de varios órganos, la cirugía ha permitido prolongar la supervivencia de los pacientes, siendo menos frecuente la curación. En el CMT se debe establecer qué pacientes pueden beneficiarse de la cirugía tanto del tumor primario como de las metástasis, la necesidad de quimioterapia y/o el uso de técnicas ablativas y planificar la secuencia óptima de tratamiento. Tras el plan terapéutico inicial, es necesario realizar la valoración de la respuesta que nos permita redefinir la estrategia terapéutica en cada momento.

En pacientes con CCRm claramente irresecable con afectación de varios órganos, se debe discutir la secuencia de tratamiento que permita un control duradero de la enfermedad, teniendo en cuenta la toxicidad de los tratamientos y la calidad de vida de los pacientes e integrando los tratamientos de soporte (Fig. 1).

## TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD OLIGOMETASTÁSICA. ENFERMEDAD LIMITADA AL HÍGADO

La enfermedad oligometastásica se caracteriza por la presencia de pocas lesiones confinadas a 1-2 órganos con posibilidad de realizar tratamiento quirúrgico o ablativo local asociado al tratamiento sistémico de cara a un mejor control o curación de la enfermedad. Dada la frecuencia de afectación hepática, la mayor evidencia del beneficio del tratamiento radical de las metástasis la tenemos en este contexto, extrapolándose sus resultados a otras localizaciones menos frecuentes.

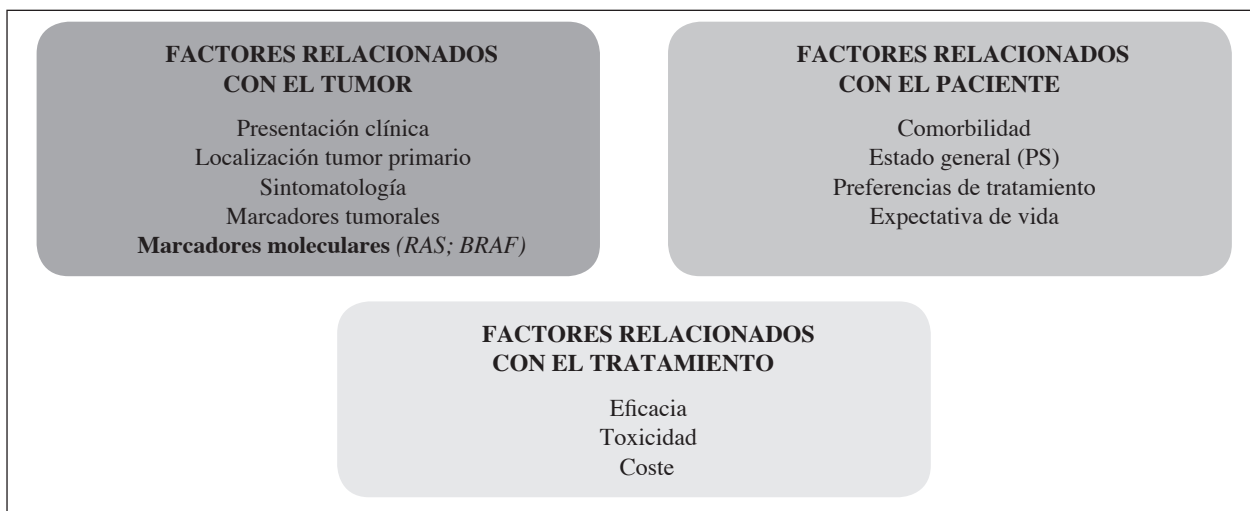


Fig. 1. Principales factores que influyen en la elección del tratamiento en CCRm.

#### TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD LIMITADA AL HÍGADO (ELH)

La resección quirúrgica es el tratamiento de elección de las metástasis hepáticas y el único potencialmente curativo. El principal objetivo debe ser la resección completa (R0). La tasa de supervivencia a los 5 años tras la cirugía de la metástasis solitaria es del 71% aproximadamente (14). Sin embargo, gracias al abordaje multidisciplinar de la cirugía hepática combinada con la administración de QT y otros tratamientos ablativos locales, se han descrito tasas de supervivencia a los 3 años del 60%-86% en los pacientes intervenidos con enfermedad más extensa (15).

Actualmente, se considera que la enfermedad es técnicamente reseccable cuando es posible la resección macroscópica completa manteniendo un volumen de parénquima hepático suficiente (30% de remanente hepático o una ratio > 0,5 entre el peso del remanente hepático y el corporal) (16). Sin embargo, el beneficio de la cirugía no es igual para todos los pacientes, ya que el 50% presentarán una recidiva sistémica de la enfermedad en los 3 años siguientes a la resección (17).

A la hora de establecer cuál es la estrategia terapéutica óptima en los pacientes con metástasis hepáticas técnicamente reseccables, se deben tener en cuenta los factores pronósticos asociados (18). En este contexto, la QT perioperatoria con esquema FOLFOX administrada durante 3 meses antes y después de la cirugía, mostró en el estudio EPOC, un beneficio en el intervalo libre de progresión (ILP) respecto a la cirugía sola en pacientes con 1-4 lesiones y sin enfermedad extrahepática, sin observarse diferencias significativas en la supervivencia global (SG). La adición de IEGFR (19) no ha demostrado beneficio y no existen datos específicos con bevacizumab para este subgrupo de pacientes. Con los datos disponibles, no está claramente establecido cuál es el tratamien-

to de elección en pacientes reseccables con pronóstico favorable. En aquellos pacientes con enfermedad técnicamente reseccable pero con 1 o más factores de riesgo asociados, la QT perioperatoria con FOLFOX o incluso un régimen más activo, parece una opción razonable (4).

En pacientes con ELH irreseccable de inicio, se ha observado de forma retrospectiva un beneficio en supervivencia para los pacientes que finalmente se intervienen con intención radical (2,20), correlacionándose un mayor tasa de resección con una mayor tasa de respuestas (TR) (21). En este sentido se han realizado algunos estudios fase II para analizar el esquema de tratamiento más adecuado en este contexto, aunque no disponemos de estudios randomizados determinantes. El estudio CELIM incluyó 114 pacientes que se randomizaron a recibir cetuximab con FOLFOX o con FOLFIRI (22). La TR fue del 70% en pacientes sin mutación en *KRAS* exón 2, objetivándose un incremento de la tasa de reseccabilidad del 32% basal al 60% tras la QT. Chi y cols. llevaron a cabo un estudio fase II en 138 pacientes con metástasis hepáticas irreseccables sin mutación en *KRAS* exón 2 en el que se comparaba la QT sola (FOLFOX o FOLFIRI) frente a la QT más cetuximab. Sus resultados mostraron un beneficio en TR, tasa de resección R0 (26% vs. 7%) y SG a los 3 años para la rama de combinación (23). El estudio fase II OLIVIA analizó el papel de bevacizumab en combinación con FOLFOXIRI o FOLFOX6 en 80 pacientes con metástasis hepáticas irreseccables (24). El esquema FOLFOXIRI-bevacizumab fue más eficaz con un incremento en TR, tasa de resección R0 (49% vs. 23%) e ILP. Sin embargo, el valor de bevacizumab en este contexto no queda claramente establecido ya que se administra en ambas ramas de tratamiento y el esquema FOLFOXIRI ha demostrado ser más activo que el doblete de quimioterapia.

Con los datos publicados hasta la fecha parece lógico seleccionar para estos pacientes el esquema de tratamiento

con mayor TR: FOLFOX/FOLFIRI más un IEGFR en pacientes RAS nativo y FOLFOXIRI (+/- bevacizumab) independientemente del estado mutacional de RAS.

Cuando la intención de la administración de QT es la conversión de las metástasis hepáticas en enfermedad resecable se recomienda reevaluar la enfermedad cada 2 meses para realizar la cirugía lo antes posible (22), evitando así la desaparición completa de las lesiones y minimizando la toxicidad hepática de los fármacos administrados. El tiempo de máxima respuesta descrita en términos de resecabilidad es de 12 a 16 semanas (25). Se recomienda que la duración total del tratamiento sistémico (antes y después de la cirugía) no sobrepase los 6 meses (4).

## TRATAMIENTO SISTÉMICO

### QUIMIOTERAPIA

El tratamiento sistémico del CCRm se basa en la combinación de una fluoropirimidina (5-fluorouracilo (5-FU) o capecitabina) con oxaliplatino o irinotecán en diferentes esquemas de tratamiento. El 5-FU en bolus es más tóxico que los regímenes con 5FU/leucovorin en infusión continua por lo que se recomienda la asociación con esta combinación (FOLFOX o FOLFIRI) (26,27). La capecitabina oral se ha combinado con oxaliplatino con resultados de eficacia no inferiores al esquema FOLFOX, siendo una alternativa de uso común (28). Sin embargo la combinación de capecitabina e irinotecán es más controvertida debido a los resultados de los estudios iniciales en los que se observó una mayor toxicidad con el esquema CAPIRI (29,30). También la asociación de capecitabina con inhibidores de EGFR (cetuximab o panitumumab) presenta mayor toxicidad que con 5-FU, con resultados de supervivencia inferiores a la de los esquemas sin IEGFR, por lo que su uso conjunto no está indicado (31).

La combinación de una fluoropirimidina con cualquiera de estos 2 fármacos (oxaliplatino o irinotecán) consigue mayor TR, mayor SLP y mayor SG que las fluoropirimidinas en monoterapia (32,33). Tournigand analizó en un estudio randomizado la eficacia de FOLFOX o FOLFIRI en primera línea de CCRm y el esquema contrario a la progresión, sin observar diferencias significativas en SLP ni SG (34). Un análisis combinado de 7 ensayos randomizados encontró una correlación entre la mediana de SG y la administración de los 3 fármacos a lo largo de la enfermedad, sin encontrar diferencias en función del orden de administración de los mismos (35). Estos estudios son la base de la aceptación de cualquiera de estos esquemas en primera línea de tratamiento.

Otra opción de tratamiento en primera línea es la asociación de los 3 fármacos. FOLFOXIRI se ha estudiado en 2 ensayos randomizados. El estudio del grupo

GONO demostró mayor eficacia frente a FOLFIRI en términos de SLP y SG (36), mientras que en el estudio griego el beneficio en SG no fue significativo (37). En ambos ensayos se observó un aumento de la toxicidad significativo (neuropatía periférica, neutropenia, diarrea y alopecia), aunque no se reportó un aumento de muertes tóxicas.

### ANTIANGIOGÉNICOS: BEVACIZUMAB

Bevacizumab fue el primer anticuerpo monoclonal y el único antiangiogénico hasta la fecha, que ha demostrado un aumento significativo en SG asociado a quimioterapia frente a quimioterapia sola (esquemas IFL, FU/leucovorin y capecitabina) en primera línea de tratamiento en CCRm (38-41). El principal estudio randomizado que analizó el beneficio de asociar bevacizumab a un esquema basado en oxaliplatino (NO16966), no consiguió demostrar beneficio en TR ni en SG (42). A pesar de estos resultados, diversos estudios posteriores observacionales y estudios randomizados que analizan la combinación tanto con FOLFOX como con FOLFIRI, no encuentran diferencias significativas en la asociación a ambos esquemas (43-45).

También se ha observado beneficio en la asociación FOLFOXIRI/bevacizumab frente a FOLFIRI/bevacizumab en el ensayo TRIBE, en población muy seleccionada, con un aumento significativo de la TR y de la SLP en el análisis inicial y también de la mediana de SG en el análisis posterior (29,8 meses vs. 25,8 meses, HR 0,80; 95%CI, 0,65-0,98,  $p = 0,03$ ) (46). En el análisis de subgrupos este beneficio no se confirma para los pacientes pretratados con oxaliplatino en adyuvancia (47). No se ha realizado ningún estudio randomizado que compare FOLFOXIRI con FOLFOXIRI/bevacizumab, por lo que no se conoce realmente la contribución que supone el bevacizumab a este esquema.

### INHIBIDORES DE EGFR (IEGFR): CETUXIMAB Y PANITUMUMAB

Cetuximab y panitumumab son dos anticuerpos monoclonales frente a EGFR, el primero quimérico y el segundo totalmente humanizado. Ambos fármacos son activos tanto en combinación con quimioterapia como en monoterapia en pacientes con CCRm que no presenten mutaciones en RAS. La determinación de RAS es obligatoria antes de utilizar un IEGFR y es un factor predictivo negativo de respuesta a los mismos (9). También es recomendable la realización de BRAF, con un valor pronóstico negativo claro aunque su valor predictivo a IEGFR es más incierto (48). Se han publicado recientemente 2 metaanálisis en este sentido, mientras que el de Pietrantonio no observa beneficio en términos de SLP ni SG en el tratamiento de los pacientes BRAF mutados, el

de Rowland, con un análisis estadístico diferente, considera que no existe evidencia suficiente para descartar el uso de IEGFR en pacientes *RAS/BRAF* nativos (49,50).

La toxicidad característica de los IEGFR consiste principalmente en reacciones infusionales (3% cetuximab y 1% panitumumab) y toxicidad cutánea. La aparición e intensidad de la afectación cutánea se ha relacionado con una mayor probabilidad de responder al tratamiento con IEGFR (51).

### Cetuximab

Cetuximab ha demostrado un aumento significativo de TR, SLP y SG en combinación con FOLFIRI frente a FOLFIRI en el estudio pivotal CRYSTAL con un aumento de la SG claro y significativo tanto en el análisis inicial como en los posteriores en población *KRAS* nativo y *RAS* nativo (HR 0,69; 95% CI, 0,54-0,88) (52-54).

Tres ensayos randomizados han analizado el beneficio de la asociación de cetuximab con oxaliplatino. El último análisis del estudio OPUS en población *RAS* nativo observa un mayor beneficio para los pacientes tratados con cetuximab asociado a FOLFOX frente a FOLFOX en TR y SLP con una tendencia a una mayor SG aunque no alcanza la significación (fase II randomizado) (55). Los resultados de los estudios COIN y NORDIC VII son negativos aunque hay que destacar que ambos estudios utilizan combinaciones que actualmente se consideran más tóxicas en su asociación con cetuximab: capecitabina y 5FU en bolus (31,56). El análisis conjunto de los pacientes tratados con FOLFOX/cetuximab de los estudios OPUS y NORDIC VII confirmó el beneficio de esta asociación en pacientes *KRAS* nativo en 1ª línea de CCRM, así como los resultados más recientes del estudio CALGB/SWOG 80405, en el que no se observan diferencias entre FOLFOX/FOLFIRI asociado a cetuximab (57).

### Panitumumab

El estudio pivotal de panitumumab con FOLFOX-4 frente a FOLFOX-4, el estudio PRIME, demostró un aumento significativo tanto de SG como de SLP y TR para los pacientes *RAS* nativo, con una mediana de SG de 26 meses vs. 20,2 meses con FOLFOX-4 (HR 0,78, 95%CI; 0,62-0,99, p ,043) (58). No existen ensayos randomizados en primera línea de tratamiento con FOLFIRI y panitumumab aunque su uso está aprobado en base a los resultados de segunda línea y estudios fase II (59,60).

### ANTIANGIOGÉNICOS VS. IEGFR EN 1ª LÍNEA DE CCRM

Hasta la fecha se han publicado dos fases III y un fase II randomizado para analizar si bevacizumab es superior a IEGFR o viceversa en primera línea de tratamiento

de pacientes con CCRM *RAS* nativo (Tabla I). El estudio FIRE-3, comparó FOLFIRI con cetuximab frente a FOLFIRI bevacizumab y fue un estudio negativo al no alcanzar diferencias significativas en TR, objetivo principal del estudio (61). Sin embargo en el análisis de SG se observó un aumento significativo de está a favor de la rama con cetuximab. En un análisis posterior de TR valorada por un comité independiente si se alcanzó la significación estadística a favor de la rama con cetuximab (25). El estudio americano CALGB/SWOG 80405 comparó FOLFIRI/FOLFOX con cetuximab o bevacizumab. También es un estudio negativo al no observarse diferencias significativas en SG ni en el estudio inicial ni en el análisis posterior de la población *RAS* nativo (43). El estudio fase II randomizado PEAK comparó FOLFOX con bevacizumab o panitumumab. Se observó un aumento significativo de la SLP y una tendencia a un beneficio en SG que no alcanzó la significación estadística (62). Con estos resultados no existen datos que demuestren claramente la superioridad de un biológico frente a otro, aunque la asociación de IEGFR tiende a presentar una mayor tasa de respuestas y una mayor supervivencia, que no se confirma en el estudio del CALGB (Tabla I).

### LOCALIZACIÓN DEL TUMOR PRIMARIO

Ante la evidencia creciente de la importancia de la localización del tumor primario tanto pronóstica como predictiva de respuesta, se han realizado los análisis retrospectivos de los principales estudios ya comentados en base a este parámetro. Un reciente metaanálisis de 13 ensayos randomizados en primera línea establece un valor pronóstico negativo para los tumores localizados en el lado derecho respecto a los tumores originados en el colon izquierdo. También observa una mayor eficacia significativa para los pacientes con tumores izquierdos *RAS* nativo tratados con IEGFR. En los tumores derechos no está clara la mejor opción de tratamiento, la combinación de quimioterapia y bevacizumab presenta mayor SLP y SG aunque los pacientes tratados con IEGFR presentan tasas de respuestas más elevadas (63). Aunque son necesarios más estudios para clarificar el tratamiento más adecuado en cada caso, parece clara la necesidad de tener en cuenta la localización tumoral en futuros ensayos. En la tabla II se describen las opciones de tratamiento más recomendables en función del estado mutacional de *RAS* y *BRAF*, del estado general del paciente y de la localización tumoral, con las limitaciones que suponen que estos resultados procedan de análisis retrospectivos no planificados.

### DURACIÓN DE LA PRIMERA LÍNEA DE TRATAMIENTO

Tradicionalmente los pacientes con enfermedad metastásica seguían el tratamiento de primera línea hasta

progresión o toxicidad inaceptable. La aparición de fármacos más eficaces con supervivencias más prolongadas ha llevado al desarrollo de ensayos frente a observación o con suspensión de parte del tratamiento inicial, que supo-

nen una alternativa de tratamiento totalmente integrada en la práctica diaria para los pacientes con respuesta o estabilización de la enfermedad con el tratamiento inicial (64,65).

TABLA I  
RESULTADOS DE EFICACIA DE LOS ESTUDIOS CALGB 80405, FIRE-3 Y PEAK EN POBLACIÓN RAS NATIVO

	RAS nativo		
	SLP (meses)	SG (meses)	TR <sup>1,2</sup>
<i>FIRE-3 (n = 592)</i>			
FOLFIRI-cetuximab	10,4 (9,5-12,2)	33,1 (24,5-39,4)	65% (57,9-72,6)
FOLFIRI-bavacizumab	10,2 (9,3-11,5)	25,6 (22,7-28,6)	60% (51,9-67,1)
HR <sup>3</sup> /OR <sup>4</sup> (95%, CI)	0,93	0,70	1,28
p valor	p = 0,54	p = 0,011	p = 0,32
<i>PEAK (n = 285)</i>			
FOLFOX-panitumumab	13 (10,9-15,1)	41,3 (28,8-41,3)	63,6%
FOLFOX-bevacizumab	9,5 (9-12,7)	28,9 (23,9-31,3)	60,5%
HR (95%, CI)	0,65	0,63	-
p valor	p = 0,029	p = 0,058	
<i>CALGB80405 (n = 1137)</i>			
QT-cetuximab	11,4 (9,6-12,9)	32 (27,6-38,5)	68,8%
QT-bevacizumab	11,3 (10,3-12,6)	31,2 (26,9-34,3)	56%
HR <sup>3</sup> /OR <sup>4</sup> (95%, CI)	1,10	0,90	
p valor	p = 0,31	p = 0,40	p < 0,01

<sup>1</sup>TR: tasa de respuesta; <sup>2</sup>Tasa de respuesta valorada por comité independiente: 72 vs. 56%; p 0,003; <sup>3</sup>HR = hazard ratio; <sup>4</sup>OR: odds ratio.

TABLA II  
OPCIONES DE TRATAMIENTO RECOMENDADAS EN PRIMERA LÍNEA DE CCRm

Objetivo terapéutico	Perfil molecular	Primera línea de tratamiento	
		Colon derecho	Colon izquierdo
Citorreducción	RAS/BRAF nativos	Triplete <sup>1</sup> ± bevacizumab Doblete <sup>2</sup> + IEGFR	Doblete <sup>2</sup> + IEGFR Triplete ± bevacizumab
	RAS mutado		Doblete + bevacizumab Triplete ± bevacizumab
	BRAF mutado		Triplete ± bevacizumab Doblete ± bevacizumab Inclusión de ensayo clínico Beneficio IEGFR limitado
Control de enfermedad	RAS/BRAF nativos	Doblete + bevacizumab	Doblete <sup>2</sup> + IEGFR Doblete + bevacizumab
	RAS mutado		Doblete + bevacizumab
	BRAF mutado		Triplete + bevacizumab Doblete + bevacizumab Inclusión de ensayo clínico Beneficio IEGFR limitado
Pacientes frágiles		Capecitabina/FU-LV ± bevacizumab Tratamiento de soporte	

<sup>1</sup>Triplete: FOLFOXIRI; <sup>2</sup>Doblete: FOLFOX/XELOX/FOLFIRI (excepto XELOX + IEGFR).

## CONCLUSIONES

El manejo multidisciplinar de los pacientes con CCRm es prioritario para optimizar el tratamiento y mejorar la supervivencia de estos pacientes. El análisis conjunto del estado del paciente, las características biológicas del tumor y la reseccabilidad de la enfermedad metastásica es imprescindible para establecer la estrategia terapéutica inicial más adecuada en cada caso.

Todavía existen numerosas cuestiones sin respuesta en este contexto, entre ellas la mejor secuencia de tratamiento (tanto de citostáticos como de biológicos), la duración del tratamiento de inducción o el papel del tratamiento de mantenimiento.

Los avances en la investigación translacional en las últimas décadas han llevado a un mejor conocimiento de la biología de estos tumores, haciéndose necesaria la realización de estudios randomizados en subgrupos de pacientes más específicos para seguir avanzando en esta patología.

## CORRESPONDENCIA:

María José Safont Aguilera  
Servicio de Oncología Médica  
Hospital General Universitario de Valencia  
Avenida Tres Cruces, 2  
46014 Valencia  
e-mail: mjsafont@yahoo.es

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. No. 11 [Internet]. Vol. 11, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2013. p. <http://globocan.iarc.fr>.
2. Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R, et al. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer* 2006;42(14):2212-21.
3. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27(8):1386-422.
4. Blanco-Calvo M, Concha A, Figueroa A GF et al. Colorectal cancer classification and cell heterogeneity: A systems oncology approach. Vol. 16, International Journal of Molecular Sciences 2015:13610-32.
5. Petrelli F, Tomasello G, Borronovo K, et al. Prognostic survival associated with left-sided vs right-sided colon cancer. *JAMA Oncol* 2017;3(2):211-9.
6. Boeckx N, Koukakis R, et al. Outcome according to left vs right side in the panitumumab studies. *Ann Oncol* 2016;27(Suppl 6).
7. Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol* 2014;25(10):1995-2001.
8. Douillard J-Y, Oliner KS, Siena S, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013;369(11):1023-34.
9. Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, et al. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol* 2015;26(1):13-21.
10. Hassabo HM, Halil I, Mohammad S, et al. Associations between patient (pt) colorectal cancer (CRC) tumor KRAS and BRAF mutation (mut) status and overall survival (OS). *J Clin Oncol* 2014;32(1): abstr 473.
11. Tran B, Kopetz S, Tie J, et al. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer* 2011;117:4623-32.
12. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res* 2014;20:5322-30.
13. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372(26).
14. Aloia TA, Vauthey J, Loyer EM, et al. Solitary colorectal liver metastasis: Resection determines outcome. *Arch Surg* 2006;141(5):460-7.
15. Chun YS, Vauthey JN, Ribero D, et al. Systemic chemotherapy and twostage hepatectomy for extensive bilateral colorectal liver metastases: perioperative safety and survival. *J Gastrointest Surg* 2007;11:1498-504.
16. Jones RP, Stattner S SP, et al. Controversies in the oncosurgical management of liver limited stage IV colorectal cancer. *Surg Oncol* 2014;23:53-60.
17. Jones RP, Jackson R, Dunne DF, et al. Systematic review and meta-analysis of follow-up after hepatectomy for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2012;19(99):477-86.
18. Fong Y, Fortner J, Sun RL, et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999;230(3):309-318-321.
19. Primrose J, Falk S, Finch-Jones M, et al. Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis: The New EPOC randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2014;15(6):601-11.
20. Nordlinger B, Van Cutsem E, Gruenberger T et al. Combination of surgery and chemotherapy and the role of targeted agents in the treatment of patients with colorectal liver metastases: recommendations from an expert panel. *Ann Oncol* 2009;20:985-92.
21. Folprecht G, Grothey A, Alberts S, et al. Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol* 2005;16:1311-9.
22. Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, et al. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2010;11(1):38-47.
23. Ye LC, Liu TS, Ren L, et al. Randomized controlled trial of cetuximab plus chemotherapy for patients with KRAS wild-type unresectable colorectal liver-limited metastases. *J Clin Oncol* 2013;31(16):1931-8.
24. Gruenberger T, Bridgewater J, Chau I, et al. Bevacizumab plus mFOLFOX-6 or FOLFOXIRI in patients with initially unresectable liver metastases from colorectal cancer: The OLIVIA multinational randomised phase II trial. *Ann Oncol* 2015;26(4):702-8.
25. Stintzing S, Modest DP, Fisher von WL, et al. Independent radiological evaluation of objective response, early tumor shrinkage, and depth of response in FIRE-3 (AIO KRK-0306) in the final RAS evaluable population. *Ann Oncol* 2014;25(5):1-41.
26. André T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009;27(19):3109-16.
27. Meta-Analysis Group In Cancer, Levy E PP, et al. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol* 1998;16:3537-41.
28. Cassidy J, Clarke S, Diaz-Rubio E, et al. Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin as first-line therapy for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:2006-12.

29. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, et al. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol* 2007;25:4779-86.
30. Kohne CH, De Greve J, Hartmann JT, et al. Irinotecan combined with infusional 5-fluorouracil/folinic acid or capecitabine plus celecoxib or placebo in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer. EORTC study 40015. *Ann Oncol* 2008;19:920-6.
31. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. 2. *Lancet* 2011;377:2103-14.
32. De Gramont A, Figer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2938-47.
33. Douillard JY; V-303 Study Group. Irinotecan and high-dose fluorouracil/leucovorin for metastatic colorectal cancer. *Oncology* 2000;14:51-5.
34. Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 2004;22:229-37.
35. Grothey A, Sargent D, Goldberg RM, et al. Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment. *J Clin Oncol* 2004;22:1209-14.
36. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nor. *J Clin Oncol* 2007;25:1670-6.
37. Souglakos J, Androulakis N, Syrigos K, et al. FOLFOXIRI (folinic acid, 5-fluorouracil, oxaliplatin and irinotecan) vs. FOLFIRI (folinic acid, 5-fluorouracil and irinotecan) as first-line treatment in metastatic colorectal cancer (MCC): a multicentre randomised phase III trial from the Hellenic Oncolog. *Br J Cancer* 2006;94:798-805.
38. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335-42.
39. Cunningham D, Lang I, Marcuello E, et al. Bevacizumab plus capecitabine versus capecitabine alone in elderly patients with previously untreated metastatic colorectal cancer (AVEX): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14:1077-85.
40. Kabbinnar F, Irl C, Zurlo A, et al. Bevacizumab improves the overall and progression-free survival of patients with metastatic colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based regimens irrespective of baseline risk. *Oncology* 2008;75:215-23.
41. Tebbutt NC, Wilson K, GebSKI VJ, et al. Capecitabine, bevacizumab, and mitomycin in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the Australasian Gastrointestinal Trials Group Randomized Phase III MAX Study. *J Clin Oncol* 2010;28:3191-8.
42. Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008;26:2013-9.
43. Lenz HJ, Niedzwiecki D, Innocenti F, et al. CALGB/SWOG 80405: phase III trial of irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with expanded RAS analyses un treated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (mCRC). *Ann Oncol* 2014;25(Suppl 5): Abstract 5010.
44. Kozloff M, Yood MU, Berlin J, et al. Clinical outcomes associated with bevacizumab-containing treatment of metastatic colorectal cancer: the BRiTE observational cohort study. *Oncologist* 2009;14:862-70.
45. Van Cutsem E, Rivera F, Berry S, et al. Safety and efficacy of first-line bevacizumab with FOLFOX, XELOX, FOLFIRI and fluoropyrimidines in metastatic colorectal cancer: the BEAT study. *Ann Oncol* 2009;20:1842-7.
46. Loupakis F, Cremolini C, Masi G, et al. Initial therapy with FOLFOXIRI and bevacizumab for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2014;371:1609-18.
47. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab vs. FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol* 2015;16:1306-15.
48. Bokemeyer C, Cutsem EV, Rougier P, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: Pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. *Eur J Cancer* 2012;48:1466-75.
49. Pietrantonio F, Petrelli F, Coinu A, et al. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: A meta-analysis. *Eur J Cancer* [Internet] 2015;51(5):587-94.
50. Rowland A, Dias MM, Wiese MD, et al. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* [Internet] 2015;112(12):1888-94.
51. Petrelli F, Borgonovo K, Barni S, et al. The predictive role of skin rash with cetuximab and panitumumab in colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis of published trials. *Target Oncol* 2013;8:173-81.
52. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* [Internet] 2009;360(14):1408-17.
53. Van Cutsem E, Köhne C-H, Láng I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011;29(15):2011-9.
54. Van Cutsem E, Lenz H-J, Köhne C-H, et al. Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan Plus Cetuximab in Colorectal Cancer. *Cetuximab Treatment and RAS Mu. J Clin Oncol* [Internet] 2015;33(7):692-700.
55. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(5):663-71.
56. Tveit KM, Guren T, Glimelius B, et al. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol* 2012;30:1755-62.
57. Taieb J, Maughan T, Bokemeyer C, et al. Cetuximab combined with infusional 5-fluorouracil/folinic acid (5-FU/FA) and oxaliplatin in metastatic colorectal cancer (mCRC): A pooled analysis of COIN and OPUS study data [abstract]. *ASCO Meet* 2012 Abstr. 30.
58. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010;28:4697-705.
59. Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4706-13.
60. Seymour MT, Brown SR, Middleton G, et al. Panitumumab and irinotecan versus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): a prospectively stratified randomised trial. *Lancet Oncol* 2013;14:749-59.



61. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1065-75.
62. Schwartzberg LS, Rivera F, Karthaus M, et al. PEAK: a randomized, multicenter phase II study of panitumumab plus modified fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (mFOLFOX6) or bevacizumab plus mFOLFOX6 in patients with previously untreated, unresectable, wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal. *J Clin Oncol* 2014;32:2240-7.
63. Holch JW, Ricard I, Stintzing S, et al. The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of first-line clinical trials. *Eur J Cancer* 2017;70:87-98.
64. Labianca R, Sobrero A, Isa L, et al. Intermittent versus continuous chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomised 'GISCAD' trial. *Ann Oncol* 2011;22(5):1236-42.
65. Simkens LH, van Tinteren H, May A, et al. Maintenance treatment with capecitabine and bevacizumab in metastatic colorectal cancer (CAIRO3): a phase 3 randomised controlled trial of the Dutch Colorectal Cancer Group. *Lancet* 2015;385:1843-52.

# Cáncer colorrectal metastásico refractario

P. GARCÍA ALFONSO, G. GARCÍA GONZÁLEZ, I. GALLEGO GALLEGO, A. MUÑOZ MARTÍN

*Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

## RESUMEN

El cáncer colorrectal es el tercer cáncer más frecuente a nivel mundial en el que se han producido recientes avances en el tratamiento de la enfermedad metastásica irreseccable. El objetivo de esta revisión es discutir las opciones terapéuticas para pacientes con cáncer colorrectal metastásico irreseccable tratados en primera línea. La adición de antiangiogénicos como el bevacizumab, aflibercept y ramucirumab mejora los resultados de la quimioterapia en CCR metastásico. Los anti-EGFR como el cetuximab y panitumumab en combinación con quimioterapia han mejorado los resultados en pacientes con tumores RAS *wild-type*. Después de la 2ª línea, los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico, cetuximab y panitumumab, han demostrado eficacia en pacientes con tumores KRAS *wild-type*. Sin embargo, existen pocos datos en pacientes previamente tratados con anti-EGFR y que han sido retratados con fármacos anti-EGFR. En pacientes con progresión de la enfermedad después del tratamiento existen nuevos agentes disponibles: el regorafenib (inhibidor tirosinquinasa multidiaria) y el TAS 102 (combinación de trifluridina y tipiracil).

En el caso de metástasis limitadas al hígado se evaluarán la radioquimioembolización y la quimioembolización para pacientes seleccionados. Los recientes avances con anti-PD1 en pacientes con cáncer colorrectal metastásico con inestabilidad microsatélite han generado un marcado entusiasmo por la inmunoterapia en esta enfermedad. Con la multiplicación de opciones terapéuticas en primera, segunda y líneas sucesivas este concepto debería ser reemplazado por la estrategia multilínea en función del paciente y de la biología tumoral.

Es necesario un mayor conocimiento de la biología tumoral y de los factores predictivos de respuesta a estos tratamientos y de ensayos con nuevas estrategias terapéuticas.

**PALABRAS CLAVE:** 5-fluoracilo. Aflibercept. Bevacizumab. Cetuximab. Cáncer colorrectal. EGFR. Irinotecán. Oxaliplatino. Panitumumab. Ramucirumab. Regorafenib. VEGFR.

## ABSTRACT

*Colorectal cancer is the third most common cancer, with recent advances in the management of unresectable metastatic lesions. The aim of this review is to discuss the remaining options for pretreated patients with unresectable metastatic colorectal cancer. The addition of targeted drugs inhibiting angiogenesis, notably bevacizumab, aflibercept and ramucirumab, has improved chemotherapy outcomes in metastatic CRC. Anti-EGFR agents, cetuximab and panitumumab, in combination with chemotherapy have also improved survival in patients with wild-type RAS tumors. Beyond second-line treatment, two epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors, cetuximab and panitumumab, have a demonstrated clinical interest in patients with KRAS wild-type tumours. However, few data exist in patients pretreated with an anti-EGFR and who are being rechallenged with anti-EGFR drugs.*

*For patients with disease progression after treatment, newer agents are now available: the multitargeted tyrosine kinase inhibitor regorafenib and the cytotoxic combination of trifluridine and tipiracil (TAS-102).*

*In the case of metastases limited to the liver, transarterial chemoembolization, hepatic artery infusion and radioembolization could also be discussed in selected patients.*

*The recent success of anti-PD1 drugs in metastatic colorectal cancer patients with mismatch repair deficiency generated overwhelming enthusiasm for immunotherapy in the disease. With the multiplication of therapeutic options in first-line, second-line treatment, and beyond, the concept of subsequent lines of chemotherapy should be replaced by a multiline strategy, dependent on the patient and on tumour biology. A better understanding of the tumour biology and predictive factors for the response to these therapies is needed, and further strategic trials are urgently warranted.*

**KEY WORDS:** 5-fluoracil. Aflibercept. Bevacizumab. Cetuximab. Colorectal cancer. EGFR. Irinotecan. Oxaliplatin. Panitumumab. Ramucirumab. Regorafenib. VEGFR.

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es el tercer cáncer más frecuentemente diagnosticado, siendo responsable de más de 500.000 muertes al año en el mundo (1).

Los pacientes con enfermedad avanzada e irreseccable son candidatos a recibir distintas líneas de tratamiento. Las combinaciones están basadas en quimioterapia, siendo los agentes más importantes el 5FU, irinotecán, oxaliplatino y TAS 102, y en fármacos biológicos como son los anti-angiogénicos y los anti-EGFR que han demostrado una evidente eficacia en la enfermedad metastásica. A pesar del incremento en las opciones terapéuticas los resultados siguen siendo pobres lo que enfatiza la necesidad de la introducción de nuevos agentes eficaces y tolerables.

El tratamiento de 2º línea es el que se administra después del fracaso de la quimioterapia de primera línea. Se aplica un esquema de quimioterapia distinto al previo y habitualmente a pacientes con buen PS y adecuada función de órgano. La secuencia FOLFOX / FOLFIRI o la inversa han demostrado la misma eficacia en términos

de supervivencia global (2). Además de la quimioterapia los pacientes pueden recibir tratamientos biológicos con anti-EGFR o con antiangiogénicos en función del estado mutacional de RAS y BRAF.

Los algoritmos terapéuticos de las distintas opciones terapéuticas en segunda línea y en líneas sucesivas aparecen en las figuras 1 y 2.

TERAPIA ANTI-EGFR

El factor de crecimiento epitelial (EGF) y su receptor (EGFR) están implicados en el control autocrino y paracrino del cáncer colorrectal. La unión del ligando con el receptor lleva a la autofosforilización del dominio intracelular del EGFR activando cascadas de señalización incluyendo RAS-RAF-MAPK, STAT y PI3K-AKT. Su activación regula la diferenciación, proliferación, migración, angiogénesis y apoptosis celular (3,4).

Dos anticuerpos monoclonales frente a EGFR son activos en el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico, el cetuximab y el panitumumab.

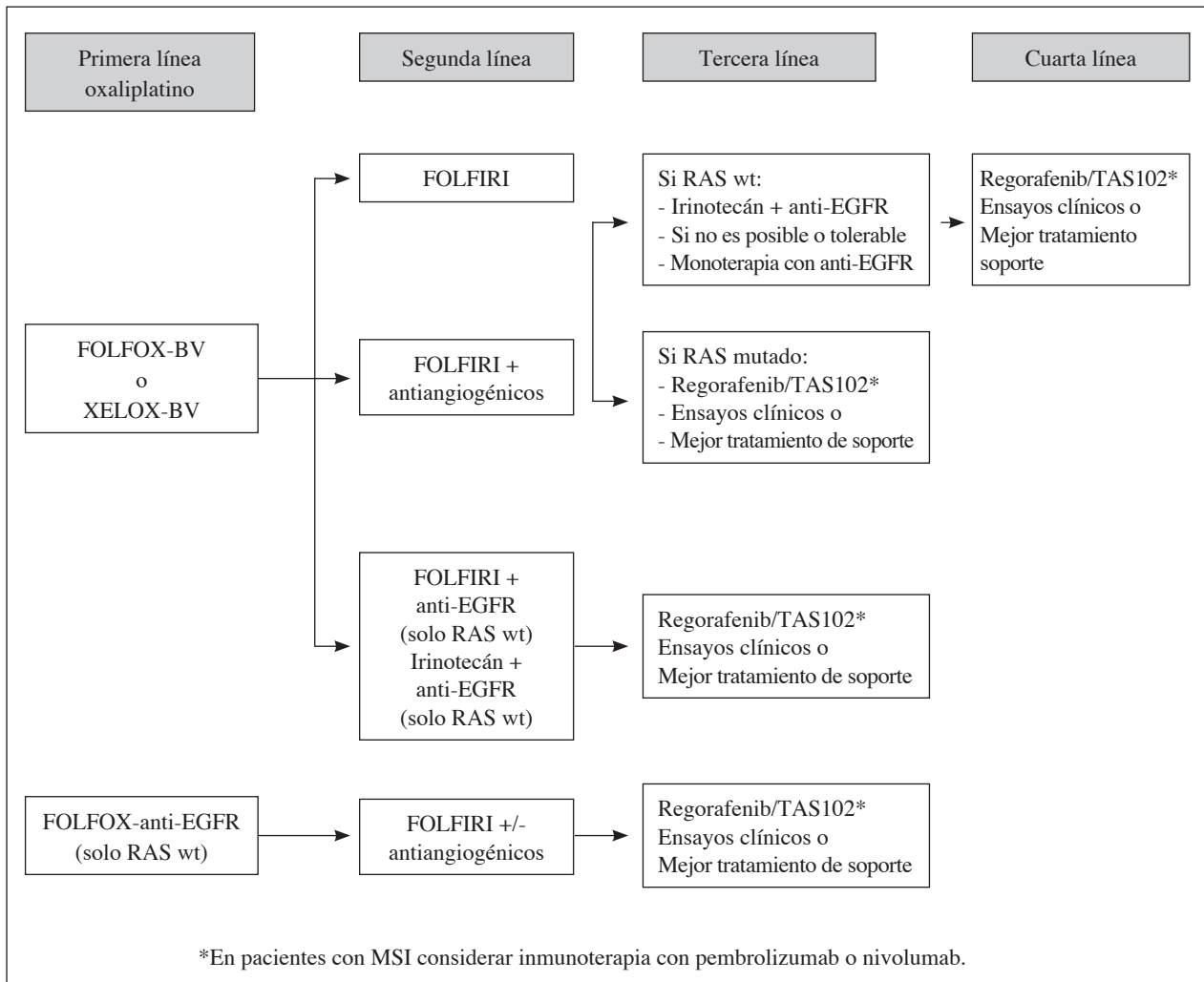


Fig. 1. Estrategias terapéuticas en cáncer colorrectal avanzado aptos para terapia intensiva.

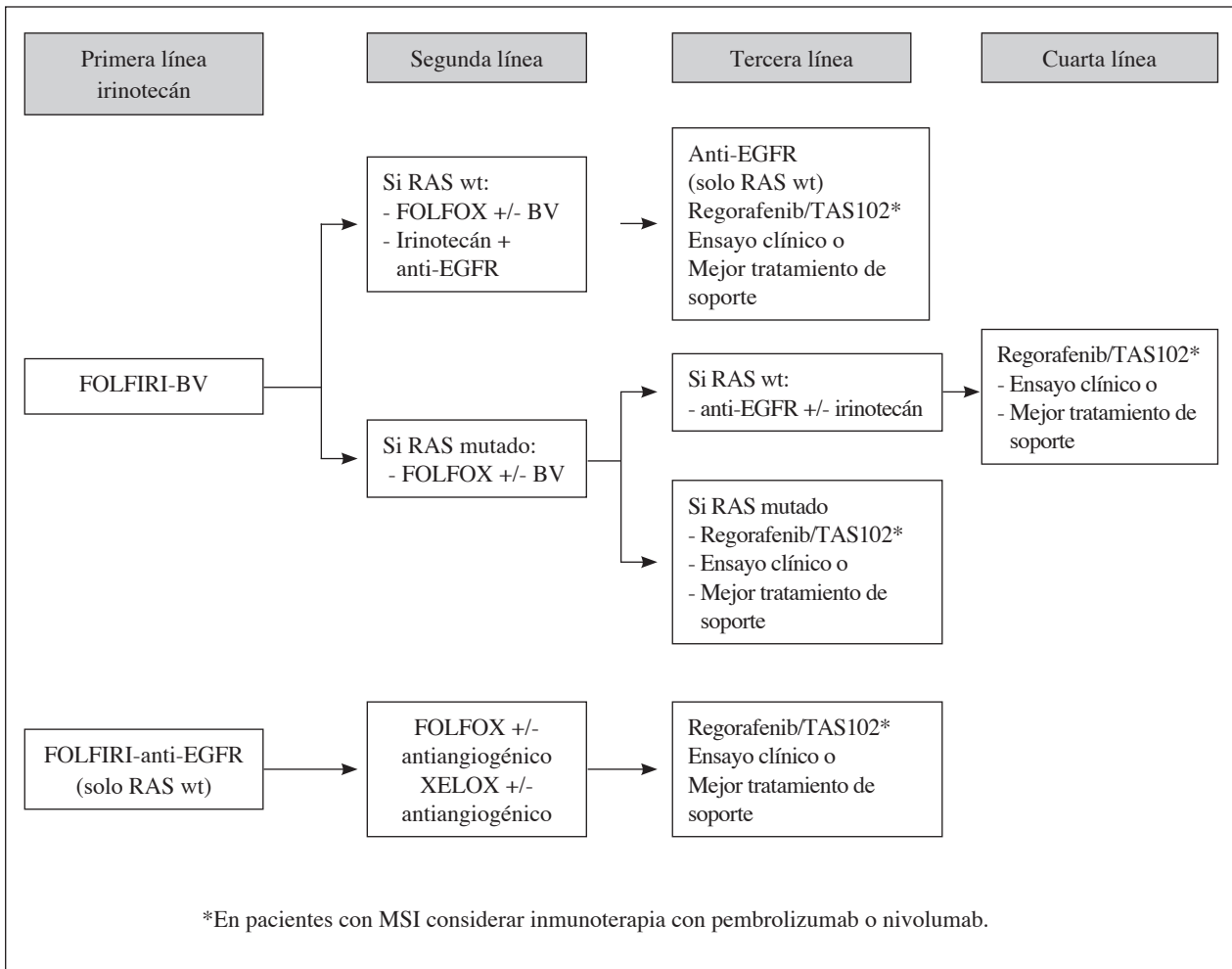


Fig. 2. Estrategias terapéuticas en cáncer colorrectal avanzado aptos para terapia intensiva.

Está bien establecido que el análisis de biomarcadores es crítico para la selección de pacientes candidatos a tratamiento con anti-EGFR, dado que son efectivos solamente en el subgrupo de pacientes RAS *wild type* (KRAS y NRAS wt), lo que supone aproximadamente un 40% de todos los CCRm. En todo paciente candidato a estos tratamientos se deben testar los exones 2, 3 y 4 de KRAS y NRAS según las últimas recomendaciones de ASCO y ESMO.

La evidencia sugiere que las mutaciones en BRAF (fundamentalmente la mutación V600E) hace que la respuesta a estos agentes en monoterapia o en combinación con quimioterapia sea altamente improbable. Queda todavía por determinar el valor predictivo de las mutaciones sobre PI3K (5,6).

#### CETUXIMAB

El cetuximab es un anticuerpo monoclonal quimérico (ratón/humano) IgG1 cuya diana es el dominio extracelular del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

La utilidad del cetuximab en monoterapia quedó demostrada por primera vez en el ensayo clínico NCIC CO.17 (7).

En este ensayo se randomizaron 572 pacientes previamente tratados con terapias basadas en fluoropirimidinas, irinotecán y oxaliplatino a recibir cetuximab en monoterapia vs terapia de soporte. El cetuximab mostró beneficios estadísticamente significativos de SG (6,1 m vs. 4,6 m; HR = 0,77; IC al 95% 0,64 a 0,92; p = 0,005) y de SLP (HR = 0,68; IC al 95% 0,57 a 0,8; p < 0,001).

De manera posterior a este ensayo y cuando se demostró la utilidad predictiva de las mutaciones activadoras del KRAS se realizó un análisis retrospectivo en esta población del exón 2 de KRAS, demostrándose el mayor beneficio del cetuximab en monoterapia en el subgrupo KRAS wt tanto en cuanto a SG (9,5 m vs. 4,8 m; HR = 0,55, IC 95% 0,41-0,74; p < 0,001) como a SLP (3,7 m vs. 1,9 m; HR = 0,4, IC 95% 0,30-0,54; p < 0,001) (8).

El estudio BOND-1 (9), que fue el que dio la primera indicación de cetuximab para el tratamiento del CCRm, randomizó a 329 pacientes con CCRm y enfermedad refractaria a irinotecán a recibir tratamiento con cetuximab en monoterapia o en combinación con irinotecán.

Los resultados demostraron la eficacia de la combinación en términos de tasa de respuestas (22.9% [IC al 95% 17,5 a 29,1] vs. 10.8% [IC al 95% 5,7 a 18,1];  $p = 0,007$ ), SLP (4,1 m vs. 1,5 m, HR = 0,54; IC 95% 0,42 a 0,71;  $p < 0,001$ ) y SG (8,6 m vs. 6,9 m; HR = 0,91; IC 95% 0,68 a 1,21;  $p = 0,48$ ) pero sin diferencias estadísticamente significativas para la SG.

El estudio EPIC realizado de manera posterior al BOND-1 también mostró beneficio del cetuximab en combinación con quimioterapia en enfermos ya previamente tratados (10).

En este estudio fase III, con resultados publicados en el año 2008, se aleatorizaron 1.298 pacientes refractarios a oxaliplatino a recibir irinotecán con o sin cetuximab. La SLP fue significativamente mayor en el grupo de la terapia combinada (4 vs. 2,6 meses) así como la tasa de respuestas objetivas (16% vs. 4%) y el control global de la enfermedad (61% vs. 46%). No hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a SG (10,7 vs. 10 m) probablemente debido a que el 50% de los pacientes que recibieron irinotecán en monoterapia sufrieron *crossover*.

Sin embargo, a pesar de que ninguno de los 2 estudios mostró mejorías estadísticamente significativas de la SG, los resultados de los estados mutacionales de KRAS no han sido publicados hasta la fecha para ninguno de los dos estudios.

#### PANITUMUMAB

El panitumumab es un anticuerpo monoclonal completamente humanizado cuya diana es el dominio extracelular del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El mecanismo por el cual bloquea la vía de señalización del EGFR es similar al cetuximab (11).

Obtuvo por primera vez su indicación por la FDA en el año 2006 para el tratamiento de pacientes con CCRm que expresaba EGFR y que habían progresado a varios esquemas de tratamiento previos.

Se evaluó por primera vez en monoterapia en el ensayo clínico fase III 20020408 (12). En este estudio se aleatorizaron a 463 pacientes con CCRm refractario a múltiples líneas previas de tratamiento a recibir panitumumab frente a mejor terapia de soporte.

El grupo del panitumumab obtuvo mejores resultados tanto en cuanto a tasa de respuestas (10% vs. 0%,  $p < 0,0001$ ) como en cuanto a SLP (8 semanas vs. 7,3 semanas, HR = 0,54; IC 95% 0,44 a 0,66,  $p < 0,0001$ ). No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a SG (8,1 m vs. 7,6 m, HR = 1; IC 95% 0,82 a 1,22) si bien se postula que el *crossover* del 76% de la población del estudio de un brazo a otro pudo haber sesgado estos resultados.

Además se evaluó la calidad de vida siendo mejor en pacientes tratados con panitumumab frente a los tratados con terapia de soporte (a pesar de la toxicidad cutánea

del panitumumab), dado que presentaban mejor control sintomático y menor sintomatología tumoral (13).

El papel de panitumumab en combinación con la quimioterapia en segunda línea o posteriores ha sido evaluado en dos ensayos clínicos:

- El ensayo fase III 20050181 randomizó a 1.186 pacientes a recibir FOLFIRI con panitumumab o FOLFIRI en monoterapia. El estado mutacional de KRAS se determinó en el 91% de los pacientes (1.083), de los cuales un 45% presentó KRAS mutado. En la población KRAS wt el grupo con panitumumab tuvo mejores resultados de SLP frente a FOLFIRI en monoterapia (6,7 m vs. 4,9 m, HR 0,82,  $p 0,023$ ). La adición de panitumumab mejoró la SG pero no de forma estadísticamente significativa (14,5 m vs. 12,5 m, HR 0,92,  $p 0,37$ ). La tasa de respuestas fue mejor en el grupo que contenía panitumumab (36% vs. 10%, OR 5,50 y  $p < 0,0001$ ) (14,15).
- En el ensayo PICCOLO se comparó Irinotecán con panitumumab frente a Irinotecán en monoterapia en pacientes con CCRm refractario a tratamiento con fluoropirimidinas. Obtuvo mejoría con significación estadística para la combinación en SLP y en tasa de respuestas.

La tasa de respuestas objetivas fue del 34% para la combinación y del 12% para Irinotecán en monoterapia (OR 4,12,  $p < 0,0001$ ). La SLP fue de 5,5 m frente a 4,7 m (HR 0,78,  $p 0,015$ ) y la supervivencia global fue de 10,4 m vs. 10,9 m (HR 1,01,  $p 0,91$ ) respectivamente (16).

Existe mucha controversia acerca del tratamiento biológico óptimo en segunda línea de CCRm. El estudio fase 2 SPIRITT evaluó los resultados de la adición de panitumumab o bevacizumab a FOLFIRI en segunda línea de CCRm KRAS wt en 182 pacientes que habían progresado a regímenes de tratamientos previos basados en oxaliplatino y bevacizumab. La SLP y la SG medias fueron similares en ambos grupos (SLP 7,7 m en el grupo de panitumumab y de 9,4 m con bevacizumab; HR 1,01,  $p 0,97$ , SG 18 m vs. 21 m respectivamente, HR 1,06 y  $p 0,75$ ). La tasa de respuestas objetivas fue del 32% con panitumumab y del 19% con bevacizumab. Este estudio no concluye cual es la mejor terapia biológica en segunda línea (17).

#### CETUXIMAB FRENTE A PANITUMUMAB

Se ha publicado recientemente el ensayo clínico ASPECCT fase 3, abierto, multicéntrico de no inferioridad. Comparó cetuximab con panitumumab en monoterapia en pacientes con CCRm refractario a tratamiento quimioterápico previo (18).

El objetivo primario de no inferioridad de SG fue alcanzado, siendo la SG media de 10,4 meses (IC 95%

9,4-11,6 meses) en el brazo de panitumumab y de 10 meses en el grupo de cetuximab (IC 95% 9,3-11 m) (HR 0,97 IC 95% 0,84-1,11).

La incidencia de eventos adversos fue similar entre ambos grupos.

#### SWITCH O RETRATAMIENTO DE ANTI-EGFR

El tratamiento con anti-EGFR no está únicamente indicado en segundas líneas sino que también se pueden utilizar en sucesivas y primeras líneas. Por ello, se han realizado estudios que exploran la posibilidad de retratamiento o cambio de fármaco anti-EGFR en pacientes que ya han sido tratados previamente con estos fármacos.

Recientemente un estudio fase II prospectivo (19) investigó el retratamiento con irinotecán-cetuximab en 39 pacientes que habían experimentado un beneficio clínico con este esquema pero que habían progresado posteriormente. Los resultados fueron alentadores, pues la tasa global de respuestas fue del 53,8% (RP 48,7%, RC 5,1%, EE 35,9%) y la SLP media fue de 6,6 meses.

En otro estudio fase II 20 pacientes que habían progresado a cetuximab fueron tratados con panitumumab. En este estudio no hubo respuestas objetivas pero un 45% de los pacientes tuvieron enfermedad estable siendo la SLP de 1,9 m y la SG media de 5,2 meses (20).

El ensayo PANERB fue un estudio francés prospectivo que incluyó a 106 pacientes con CCRm KRAS wt que habían recibido terapias previas con irinotecán junto a cetuximab que a la progresión de dicho tratamiento iniciaron terapia con panitumumab. Del 45% de pacientes que habían tenido una respuesta inicial al cetuximab, un 31% respondieron al tratamiento posterior con panitumumab y un 16% obtuvieron estabilizaciones de la enfermedad. Del 26% que había sido resistente a cetuximab un 7% tuvo respuestas objetivas con el panitumumab y otro 7% tuvo estabilizaciones de la enfermedad (21).

Otros ensayos muestran que el panitumumab no tiene actividad en tumores KRAS wt resistentes a cetuximab (tasa de respuestas del 0%) (22).

Es por ello que el retratamiento o cambio de fármaco anti-EGFR es un tema controvertido, por lo que se necesitan de un mayor número de ensayos clínicos y por el momento no se recomienda.

Además ensayos clínicos actuales muestran que la terapia anti-EGFR no pierde actividad en líneas sucesivas (siempre y cuando no lo hayan recibido en líneas previas) a diferencia de lo que sucede con el bevacizumab (23).

#### MECANISMOS DE RESISTENCIA

Los mecanismos de resistencia a anti-EGFR se pueden explicar por diferentes vías.

Por ejemplo, mutaciones adquiridas en el dominio extracelular del EGFR que impiden la unión de cetuximab pero que no modifican la acción de panitumumab. Esta mutación se ha identificado en algunos pacientes resistentes a cetuximab que posteriormente respondieron a panitumumab (24).

Existen estudios que sugieren que el estado mutacional de RAS es dinámico a lo largo de la evolución de la enfermedad pudiendo sufrir modificaciones durante el tratamiento con terapias dirigidas anti-EGFR o en el proceso de desarrollo de metástasis, sugiriéndose que las mutaciones adquiridas en KRAS pueden actuar como un posible mecanismo de resistencia a estos fármacos (25,26).

#### TOXICIDAD

En cuanto a la toxicidad con anti-EGFR las más frecuentes son astenia, rash acneiforme, náuseas, alteraciones hidroelectrolíticas (hipomagnesemia) y reacciones infusionales con cetuximab debido a su carácter quimérico.

Las reacciones infusionales ocurren hasta en un 25% y su incidencia es mayor en determinadas áreas geográficas. Muchas son severas y acontecen al inicio de la infusión, por ello se recomienda premedicación con antihistamínicos, corticoides y no exceder velocidades de 5 ml/min. En caso de reacciones severas una opción es la desensibilización o el cambio a panitumumab (27).

Todos los anti-EGFR pueden provocar reacciones cutáneas que son frecuentes y pueden llegar a ser severas. La más común es el rash acneiforme que ocurre en dos tercios de los pacientes y su severidad se correlaciona con mejores resultados (28).

#### TERAPIA DUAL CON ANTI-VEGF

El estudio BOND-2 es un ensayo clínico fase 2 que compara cetuximab y bevacizumab con o sin irinotecán en 76 pacientes con enfermedad refractaria a irinotecán y oxaliplatino y naive a bevacizumab. La tasa de respuestas fue del 37% frente a 20%, el tiempo hasta la progresión tumoral de 7,3 m vs. 4,9 m y la SG de 15 m frente a 11,4 m favoreciendo al régimen con irinotecán, cetuximab y bevacizumab (29).

Ante estos datos se realizó posteriormente el estudio fase 2 BOND-2.5. Incluyó a 33 pacientes con CCRm que había progresado a quimioterapia y bevacizumab, siendo naive a cetuximab a recibir irinotecán-bevacizumab-cetuximab.

La tasa de respuestas fue del 9%, el 11% de los pacientes obtuvieron estabilización de la enfermedad. La mediana del tiempo hasta la progresión de 3,9 m (IC 95% 1,3-6,8) y la mediana de supervivencia fue de 10,6 meses (IC 95% 6,6-13,8) (30).

Actualmente no hay datos que avalen el uso de terapia dual en la práctica clínica.

## ANTIANGIOTICOS

La terapia antiangiogénica está considerada como una terapia antitumoral desde hace 4 décadas. La angiogénesis es necesaria para la invasión tumoral y la metastatización siendo un mecanismo primordial para la progresión tumoral. La angiogénesis está mediada a través del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y sus receptores (VEGF/VEGFR), el factor de crecimiento derivado de plaquetas y sus receptores (PDGF/PDGFR) y el factor de crecimiento fibroblástico y sus receptores (FGF/FGFR). Varios antiangiogénicos han sido aprobados en líneas sucesivas en el tratamiento del cáncer colorrectal (bevacizumab, aflibercept y ramucirumab) y serán revisados en este apartado.

## BEVACIZUMAB

En el estudio de Giantonio fase III ECOG 3200, los pacientes que habían progresado a primera línea de quimioterapia (sin biológico) fueron randomizados a recibir FOLFOX con o sin bevacizumab. La adición de bevacizumab incrementó la tasa de respuestas, la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global (12,9 vs. 10,9 meses,  $p = 0,0011$ ). En este estudio los pacientes no recibieron bevacizumab en primera línea y la dosis de bevacizumab fue superior a la habitual (10 mg/kg) (31).

El beneficio de añadir bevacizumab a pacientes que habían recibido bevacizumab en primera línea fue evaluado en el estudio TML 18147, en el que los pacientes que habían recibido una quimioterapia con bevacizumab en primera línea fueron randomizados a recibir en segunda línea quimioterapia diferente a la previa con o sin bevacizumab. El estudio obtuvo su objetivo primario consiguiendo un discreto incremento en la supervivencia global (11,2 meses vs. 9,8 meses; HR, 0,81 95% IC 0,69-0,94  $p = 0,062$ ). El análisis de subgrupos de este ensayo encontró que el efecto del tratamiento fue independiente del estadio mutacional del *kras* (32).

Similares resultados ha encontrado el estudio del grupo GONO, BEBYP estudio fase III randomizado en el que los pacientes que continuaron bevacizumab en 2º línea con una quimioterapia diferente a la de primera línea obtuvieron un beneficio significativo en la SLP 6,7 meses vs. los que solo recibieron quimioterapia 5,2 meses (HR 0,66; 95% IC, 0,49-0,90;  $p = 0,0072$ ) (33).

Este estudio junto con los resultados de otros antiangiogénicos en segunda línea ha llevado a la conclusión de que la secuenciación antiangiogénica obtiene un beneficio modesto en la supervivencia global.

## AFLIBERCEPT

Otro antiangiogénico que ha demostrado eficacia en segunda línea es el aflibercept. Este es una proteína de

fusión recombinante que atrapa el VEGF-A, VEGF-B y PlGF inhibiendo de esta forma la angiogénesis.

El estudio VELOUR ha evaluado en segunda línea a pacientes que han progresado a una primera línea con oxaliplatino. El estudio obtiene el objetivo primario al incrementar la supervivencia global (13,5 meses para FOLFIRI/aflibercept vs. 12,1 meses para FOLFIRI/placebo; HR 0,82; IC 95% 0,71-0,94;  $p = 0,003$ ). También obtuvo un beneficio en la supervivencia libre de enfermedad (6,9 meses vs. 4,7 meses, HR 0,76,  $p < 0,0001$ ). En este estudio un 30% de pacientes recibieron bevacizumab en primera línea. La eficacia del tratamiento fue independiente de haber recibido o no bevacizumab en primera línea. La tasa de respuesta fue del 19,8% en la rama del aflibercept y 11,1% en la rama de solo FOLFIRI ( $p = 0,0001$ ). El perfil de efectos adversos fue similar al reportado previamente con bevacizumab, pero los efectos adversos asociados con quimioterapia tuvieron una mayor incidencia en la rama de aflibercept (34).

## RAMUCIRUMAB

Es un anticuerpo monoclonal IgG1 que inhibe el dominio extracelular del receptor tipo 2 VEGFR2, previniendo de esta manera la unión del receptor con sus ligandos naturales. El estudio RAISE, fase III randomizado ha evaluado en 1.072 pacientes que han progresado a un tratamiento con FOLFOX/bevacizumab en primera línea, una segunda línea con FOLFIRI con ramucirumab vs. FOLFIRI placebo. El estudio cumple su objetivo primario al incrementar significativamente la supervivencia global (13,3 vs. 11,7 meses; HR 0,84 IC 95% 0,7-0,98 ( $p = 0,0219$ )). También obtuvo un incremento significativo en SLP 5,7 vs. 4,5 meses; HR 0,79 IC 95% 0,7-0,9  $p > 0,0005$ . Todos los subgrupos analizados se beneficiaron del tratamiento con ramucirumab. La tasa de respuesta fue similar en ambos brazos (13,4% en el brazo de ramucirumab con FOLFIRI vs. 12,5% en FOLFIRI solo). En base a estos resultados ramucirumab ha sido aprobado en combinación con FOLFIRI para CCRm por la FDA en 2015 (35).

No se han realizado estudios fase III para comparar los distintos antiangiogénicos ni con los anti-EGFR por lo que el perfil de toxicidad puede ser un factor determinante. Un estudio fase II randomizado sugiere que no hay diferencia entre bevacizumab y panitumumab cuando se combina con FOLFIRI en términos de supervivencia global y libre de enfermedad, aunque existe un beneficio significativo en tasa de respuestas para el brazo de panitumumab (36).

## NUEVOS TRATAMIENTOS DE TERCERA Y CUARTA LÍNEA

## REGORAFENIB

Regorafenib es un inhibidor tirosin kinasa oral multiana que bloquea kinasas implicadas en la regula-

ción de la angiogénesis tumoral (receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular [VEGFR] 1, 2 y 3, TIE 2), de la oncogénesis (KIT, RET, RAF1, BRAF y BRAF<sup>V600E</sup>) y del microambiente tumoral (PDGFR y FGFR) (37).

La evidencia de la actividad antitumoral del regorafenib se objetivó en modelos preclínicos de cáncer colorrectal metastásico (CCRM) y fue posteriormente confirmada en un ensayo fase 1b que mostró un adecuado perfil de toxicidad (38,39).

En base a estos datos, se desarrolló el ensayo clínico fase 3 internacional CORRECT que demostró la actividad del regorafenib en CCRM refractario a terapias basadas en fluoropirimidinas, oxaliplatino, irinotecán, antiangiogénicos y terapias anti-EGFR (en pacientes KRAS *wild type*).

En este ensayo se randomizaron 760 pacientes que habían progresado a múltiples líneas de tratamiento estándar a recibir terapia de soporte más regorafenib 160 mg/día durante 3 semanas en ciclos de 28 días o placebo. El objetivo primario fue la supervivencia global. El estudio mostró mejoría estadísticamente significativa de la supervivencia global a favor de regorafenib (SG media 6,4 meses vs. 5 meses para placebo; HR 0,77 [IC 95% 0,64-0,94, p 0,0052]) y de la supervivencia libre de progresión (SLP media 1,9 meses vs. 1,7 meses para regorafenib y placebo respectivamente, HR 0,49 [IC 95% 0,42-0,58, p < 0,0001]).

La toxicidad observada fue mayor en el grupo de pacientes que recibían tratamiento con regorafenib (93%) respecto a los que recibieron tratamiento con placebo (61%). La toxicidad más frecuente grado 3-4 fue enfermedad palmo-plantar (17%), fatiga (10%), diarrea (7%) hipertensión (7%) y rash y descamación (6%). Sin embargo, en la mayoría de los casos, los eventos adversos fueron fácilmente manejables y no empeoraron la calidad de vida de los pacientes tratados con regorafenib (40).

Dos ensayos clínicos evaluaron la seguridad de regorafenib en pacientes con CCRM refractario a tratamientos convencionales, el fase IIIb CONSIGN que incluyó a 2.872 pacientes de 25 países y el ensayo REBECCA con 654 pacientes, los resultados obtenidos fueron consistentes con los objetivados en el ensayo CORRECT (41,42).

El beneficio de la monoterapia con regorafenib fue posteriormente confirmado en el ensayo fase 3 multicéntrico CONCUR. Se randomizaron 204 pacientes asiáticos a recibir regorafenib vs. placebo. El objetivo primario también fue la supervivencia global, obteniendo significación estadística en el grupo del regorafenib (SG media 8,8m vs. 6,3 m, HR 0,55 IC 95% 0,4-0,77, p 0,00016). Los efectos adversos ocurrieron en el 97% de los pacientes tratados con regorafenib y en el 46% de los pacientes que recibieron placebo. Los eventos grado 3-4 en el grupo de regorafenib más frecuentes fueron EPP (16%), HTA (11%), hiperbilirrubinemia (7%), hipofosfatemia (7%), incremento de ALT (7%), incremento de

AST (6%), aumento de lipasa (4%) y rash maculo-papular (4%). Las diferencias en la supervivencia global, se postula que se deben a los tratamientos previos, un 60% de pacientes en el CONCUR fueron tratados con fármacos biológicos frente a un 100% en el CORRECT, un análisis por subgrupos muestra que los pacientes que no habían sido tratados previamente con biológicos respondían mejor al regorafenib. Los resultados en los pacientes que habían recibido terapia diana fueron similares a los objetivados en el ensayo CORRECT (43).

Ante estos datos, el regorafenib fue aprobado por la FDA en septiembre de 2012 y por la EMA en agosto de 2013 encontrándose indicado en pacientes con CCRM refractarios a quimioterapia estándar con adecuado *performance status*.

#### TRIFLURIDINA/TIPIRACILO (TAS 102)

TAS 102 es un fármaco citotóxico oral compuesto por dos moléculas: la trifluridina (FTD) y el tipiracilo (TPI).

La FTD es un análogo nucleósido que se incorpora directamente al ADN provocando la rotura de sus cadenas. Su concentración plasmática se mantiene gracias al TPI, que es un potente inhibidor de la timidina fosforilasa, enzima encargada en degradar a la FTD (44).

La eficacia de este fármaco se sugirió en un ensayo clínico fase II realizado en Japón. Se aleatorizaron 172 pacientes con CCRM refractarios a terapias convencionales a recibir tratamiento con trifluridina/tipiracilo o placebo.

Se observó que trifluridina/tipiracilo prolongó significativamente la mediana de supervivencia global (9 m vs. 6,6 m). En este estudio la toxicidad G3-4 más frecuente fue la hematológica (45).

Los resultados de este estudio conllevaron su aprobación en Japón.

En 2015 se publicaron los resultados del ensayo clínico fase III, internacional, doble ciego RECURSE. Este estudio incluyó a 800 pacientes con CCRM que habían progresado al menos a 2 líneas de tratamiento con fluoracilo, irinotecán, oxaliplatino, bevacizumab y anti-EGFR (si KRAS wt). Se aleatorizaron 2:1 a recibir trifluridina/tipiracilo o placebo.

Trifluridina/tipiracilo prolongó significativamente la mediana de supervivencia global, la cual era el objetivo primario (7,1 vs. 5,3 meses, HR 0,68, IC 95% 0,58-0,81, p < 0,001) y fue independiente del uso previo de regorafenib. También mejoró la supervivencia libre de progresión, objetivo secundario (2 vs. 1,7 m; HR 0,48; IC 95% 0,41-0,57; p < 0,001). Los eventos adversos más frecuentes fueron hematológicos y gastrointestinales destacando neutropenia (38%), leucopenia (21%) y neutropenia febril (4%). Desde el punto de vista gastrointestinal la mayoría fueron G1-G2. La mayoría de los eventos adversos se pudieron manejar retrasando el siguiente ciclo y solo un 14% de los pacientes requirió ajuste de dosis (46).



Actualmente se considera trifluridina/tipiracilo una opción terapéutica para pacientes que han progresado a terapias estándar y puede administrarse antes o después de regorafenib.

#### RADIOEMBOLIZACIÓN

La radioembolización es un procedimiento consistente en la administración selectiva de partículas radioactivas a través de la arteria hepática a las metástasis hepáticas.

En el cáncer colorrectal metastásico las partículas radioactivas más frecuentemente utilizadas son las microesferas de Ytrio 90, un radioisótopo con una vida media de 64,1 horas, emisor puro de partículas beta con una energía promedio de 0,94 MeV y una trayectoria media en tejidos de 2,5 mm. Debido a que las microesferas son demasiado grandes para atravesar la circulación venosa se deben administrar por el sistema arterial en tumores altamente vascularizados. Se depositan en la circulación arteriolar que rodea los depósitos tumorales, administrándose una dosis alta de radiación en esa área (47).

Por esto, es preciso realizar previamente al procedimiento una arteriografía para determinar el suplemento arterial del hígado. Además es necesario realizar embolizaciones con *coils* de la arteria gastroduodenal, gástrica derecha y cualquier rama extrahepática que se origine de la arteria hepática para prevenir que el Ytrio 90 refluya al tracto gastrointestinal. Como consecuencia de esto, el principal efecto adverso reportado es la úlcera gastroduodenal.

En el año 2009 se publicó un estudio sobre radioembolización con Ytrio 90, donde un 38% de pacientes (28) había recibido previamente tratamientos basados en fluoracilo/oxaliplatino e irinotecán y la mayoría de los pacientes incluidos tenían enfermedad metastásica limitada al hígado. La tasa de respuestas objetivas fue del 40,3% y se observó una SG media de 14,5 meses con buen perfil de toxicidad (48).

Algunos estudios han comparado la radioembolización con otros tratamientos en pacientes que previamente habían recibido quimioterapia.

Un ensayo clínico fase 3 multicéntrico comparó tratamiento con fluoracilo intravenoso y radioembolización con Ytrio 90 frente a fluoracilo en monoterapia en un total de 46 pacientes con CCRm limitado al hígado, irresecable y refractario a quimioterapia estándar (FU, oxaliplatino e irinotecán). La tasa de respuestas objetivas fue baja (9,5% con la combinación vs. 0% con fluoracilo), pero la mediana de tiempo a la progresión fue estadísticamente mayor en el grupo de pacientes que recibió radioembolización (5,5 meses vs. 2,1 meses en el grupo con fluoracilo en monoterapia, HR 0,51; IC 95% 0,28-0,94,  $p = 0,03$ ). La mediana de tiempo a la progresión hepática fue de 5,5 m para la combinación vs. 2,1 m en el grupo de fluoracilo en monoterapia (HR 0,38,

IC 95% 0,2-0,72,  $p = 0,003$ ). No hubo diferencias en la SG entre ambos grupos siendo de 10 m con la combinación vs de 7,3 m con fluoracilo (HR = 0,92; 95% CI, 0,47 a 1,78;  $p = 0,80$ ), lo que pudo ser debido a que se permitió *crossover* en el 70% de pacientes en el grupo de fluoracilo en monoterapia (49).

Un ensayo clínico fase 2 incluyó a 151 pacientes (61 con CCR) con enfermedad metastásica hepática. Se objetivó que los pacientes con CCRm tratados con radioembolización con Ytrio 90 obtuvieron una mediana de SLP de 2,9 m y la supervivencia global fue de 8,8 meses a pesar de ser refractarios a terapias convencionales (50).

Largas series de casos han reportado que la radioembolización con Ytrio 90 en pacientes con enfermedad metastásica hepática irresecable y refractaria a tratamientos estándar parece ser una técnica segura y con beneficio clínico (51-53).

Dados los resultados obtenidos en pacientes politratados se están realizando ensayos en líneas más precoces.

Recientemente el ensayo clínico fase 3 SIRFLOX comparó la primera de línea de tratamiento con FOLFOX +/- bevacizumab (a elección del investigador) con o sin microesferas de Ytrio 90 en 530 pacientes con CCRm con metástasis hepáticas irresecables. La mediana de seguimiento fue de 36,1 meses, no hubo diferencias en la supervivencia libre de progresión con la adición de radioembolización (10,7 m para la combinación vs. 10,2 m, HR 0,93, IC 95% 0,77-1,12,  $p = 0,43$ ). Se objetivó una mayor SLP a nivel hepático en el brazo que contenía radioembolización (20,5 m vs. 12,6 m, HR 0,69, IC 95% 0,55-0,90,  $p = 0,002$ ). Los pacientes que recibieron tratamiento con Ytrio 90 presentaron mayor tasa de respuestas a nivel hepático (79 vs. 69%) siendo mayores las respuestas completas del 6% al 2% respectivamente. No hubo diferencias significativas en la tasa de resecciones hepáticas posteriores (14% en ambos grupos). Los datos en supervivencia global están pendientes (54). Los resultados de los estudios FOXFIRE y FOXFIRE Global están pendientes y ayudarán a valorar el beneficio de la radioembolización con Ytrio 90 en líneas más precoces.

Actualmente la radioembolización debería considerarse como una opción de tratamiento paliativo en pacientes seleccionados con CCR metastásico con afectación predominantemente hepática.

#### INMUNOTERAPIA

El CCR es una enfermedad heterogénea. Recientemente se han definido 4 subtipos moleculares con implicaciones tanto en el pronóstico como en la respuesta a los diferentes tratamientos: CMS1 Inmune (en el que se incluye la inestabilidad de microsátélites), CMS2 epitelial canónico, CMS3 epitelial metabólico y CMS 4 mesenquimal (55).

La inestabilidad de microsátélites (IMS) se debe a una deficiencia en los genes reparadores del ADN encargados de restaurar apareamientos erróneos (d-MMR: *mismatch repair*-deficiente) (56).

La IMS se ha encontrado en un 90% de cánceres de colon asociados al síndrome de Lynch (CCR no polipósico hereditario) pero también en CCR esporádicos siendo su prevalencia en estadios precoces del 15% y del 3% en estadios avanzados (57,58).

Los estudios con inmunoterapia se han centrado en pacientes con CCRm con d-MMR. Este subgrupo de tumores se caracterizan por presentar un infiltrado linfocitario tumoral predominante lo que se asocia con respuesta inmune, además de miles de mutaciones somáticas que codifican proteínas alteradas las cuales pueden ser reconocidas y atacadas por el sistema inmune (59,60).

La hipótesis de que la inmunoterapia puede ser útil en pacientes con IMS se ha evaluado en diferentes estudios:

- Un ensayo clínico fase II (61) evaluó la actividad de pembrolizumab (anticuerpo monoclonal IgG4 dirigido contra la proteína de superficie PD-1) administrado a dosis de 10 mg/kg cada 14 días en 11 pacientes con CCR con d-MMR, en 21 pacientes con CCR sin alteraciones en genes reparadores del ADN y en 9 con d-MMR con cáncer no colorrectal. Todos eran metastásicos y politratados, los pacientes con CCR habían recibido de 2 a 4 líneas previas.

Los objetivos del estudio fueron determinar la tasa de respuestas objetivas y la tasa de supervivencia libre de progresión a las 20 semanas.

La tasa de respuestas objetivas fue del 40% en el grupo de CCR con d-MMR (IC 95% 12-74%), del 0% (IC 95% 0-20%) en el grupo de pacientes con CCR sin alteraciones en genes reparadores del ADN y del 71% (IC 95% 29%-96%) en los pacientes con d-MMR con cáncer no colorrectal.

En cuanto a la tasa de SLE fue del 78% (IC 95% 40-97), del 11% (IC 95% 1-35) y del 67% (IC 95% 22-96) respectivamente. Estos resultados indican que la IMS es un biomarcador de respuesta a la inmunoterapia. La mediana de SLE y SG no fue alcanzada en el grupo de CCR con d-MMR y fue de 2,2 y 5 m respectivamente en el grupo de pacientes con CCR sin alteraciones en los genes de reparación del ADN (HR para progresión o muerte de 0,10,  $p < 0,001$ ).

Los eventos adversos fueron consistentes con los resultados de otros estudios de pembrolizumab, la toxicidad más frecuente de cualquier grado fue la cutánea (rash, prurito) en un 24%, aumento enzimas pancreáticas (15%) y disfunción tiroidea (10%) (62).

- El ensayo clínico fase II, Checkmate 142, incluyó a 59 pacientes con CCRm y d-MMR y 23 pacientes con CCRm sin alteraciones en los genes reparadores del ADN. Estos pacientes recibieron nivolumab +/- ipilimumab. La mediana de SLP fue de 5,3 meses (IC 95% 1,4-no estimable) en el grupo con d-MMR que recibió nivolumab en monoterapia, no alcanzada en el grupo con d-MMR que recibió nivolumab con ipilimumab y de 1,4 m (IC 95%: 1,2-1,9) en el grupo con CCRm sin alteración en los genes reparadores del ADN (63).

Con los resultados de estos estudios, el tratamiento con nivolumab o pembrolizumab podría ser una opción en 2ª y 3ª línea de pacientes con CCRm y deficiencias en genes reparadores del ADN (MMR). Es necesario confirmar este beneficio en más ensayos clínicos.

#### CORRESPONDENCIA:

Pilar García Alfonso  
Servicio de Oncología Médica  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón  
C/ Doctor Esquerdo, 46  
28007 Madrid  
e-mail: pgarcaalfonso@gmail.com

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics. *Cancer J Clin* 2016;66:7-30.
2. Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 2004;22:229-37.
3. Mendelsohn J, Baselga J. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *Semin Oncol* 2006;33:369-85.
4. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2005;5:341-54.
5. Allegra CJ, Rumble RB, Hamilton SR, et al. Extended RAS gene mutation testing in metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion update 2015. *J Clin Oncol* 2016;34:179.
6. European Society for Medical Oncology (ESMO) consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. V. 2016.
7. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007;357:2040-8.
8. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1757-65.
9. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337-45.
10. Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:2311-9.
11. Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, et al. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001;38:17-23.
12. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:1658-64.

13. Odom D, Barber B, Bennett L, et al. Health-related quality of life and colorectal cancer-specific symptoms in patients with chemotherapy-refractory metastatic disease treated with panitumumab. *International Journal of Colorectal Disease* 2011;26:173-81.
14. Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:4706-13.
15. Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Final results from a randomized phase 3 study of FOLFIRI {+/-} panitumumab for second-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2014;25:107-16.
16. Seymour MT, Brown SR, Middleton G, et al. Panitumumab and irinotecan vs. irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): a prospectively stratified randomised trial. *Lancet Oncol* 2013;14:749-59.
17. Hecht JR, Cohn A, Dakhil S, et al. SPIRITT: A randomized, multicenter, phase II study of panitumumab with FOLFIRI and bevacizumab with FOLFIRI as second-line treatment in patients with unresectable wild type kras metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14:72-80.
18. Price TJ, Peeters M, Kim TW, et al. Panitumumab vs. cetuximab in patients with chemotherapy-refractory wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer (ASPECCT): a randomised, multicentre, open-label, non-inferiority phase 3 study. *Lancet Oncol* 2014;15:569-79.
19. Santini D, Vincenzi B, Addeo R, et al. Cetuximab rechallenge in metastatic colorectal cancer patients: how to come away from acquired resistance? *Annals of Oncology* 2012;23:2313-8.
20. Wadlow RC, Hezel AF, Abrams TA, et al. Panitumumab in patients with KRAS wild-type colorectal cancer after progression on cetuximab. *Oncologist* 2012;17:14.
21. Metges J, Raoul J, Achour N, et al. PANERB study: panitumumab after cetuximab-based regimen failure. *Journal of Clinical Oncology* 2010;28 [abstract].
22. Ohhara Y, Matsusaka S, Watanabe T, et al. Circulating tumor cells as prognostic marker in Japanese patients with kras wild-type metastatic colorectal cancer receiving panitumumab after progression on cetuximab. *J Cytol Histol* 2014;5:204.
23. Cascinu S, Lonardi S, Rosati G, et al. A phase III multicenter trial comparing two different sequences of second/third line therapy (cetuximab/irinotecan followed by FOLFOX vs. FOLFOX followed by cetuximab/irinotecan) in metastatic KRAS wt colorectal cancer (mCC) patients, refractory to FOLFIRI/Bevacizumab. *Eur J Cancer* 2015;51(Suppl S3):abstr 2006.
24. Montagut C, Dalmases A, Bellosillo B, et al. Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer. *Nature Medicine* 2012;18:221-3.
25. Misale S, Yaeger R, Hobor S, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012;486:532-6.
26. Díaz LA, Williams RT, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature* 2012;486:537-40.
27. O'Neil BH, Allen R, Spigel DR, et al. High incidence of cetuximab-related infusion reactions in Tennessee and North Carolina and the association with atopic history. *J Clin Oncol* 2007;25:3644.
28. Berlin J, Van Cutsem E, Peeters M, et al. Predictive value of skin toxicity severity for response to panitumumab in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): pooled analysis of five clinical trials (abstract). *J Clin Oncol* 2007;25:196s.
29. Saltz LB, Lenz HJ, Kindler HL, et al. Randomized phase II trial of cetuximab, bevacizumab, and irinotecan compared with cetuximab and bevacizumab alone in irinotecan-refractory colorectal cancer: the BOND-2 study. *J Clin Oncol* 2007;25:4557.
30. Segal NH, Reidy-Lagunes D, Capanu M, et al. Phase II study of bevacizumab in combination with cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory colorectal cancer patients who have progressed on a bevacizumab containing regimen (the BOND 2.5 study) (Abstract # 4087). *J Clin Oncol* 2009;27:189s.
31. Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 2007;25:1539-44.
32. Bennouna J, Sastre J, Arnold D, et al. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14(1):29-37.
33. Masi G, Salvatore L, Boni L, et al. Continuation or reintroduction of bevacizumab beyond progression to first-line therapy in metastatic colorectal cancer: final results of the randomized BEBYP trial. *Ann Oncol* 2015;26(4):724-30.
34. Van Cutsem E, Taberero J, Lakomy R, et al. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 2012;30(28):3499-506.
35. Taberero J, Yoshino T, Cohn AL, et al. Ramucirumab vs. placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015;16:499.
36. Hecht JR, Cohn A, Dakhil S, et al. SPIRITT: a randomized, multicenter, phase II study of panitumumab with FOLFIRI and bevacizumab with FOLFIRI as second line treatment in patients with unresectable wild type KRAS metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14:72-80.
37. Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al. Regorafenib (BAY 73-4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *Int J Cancer* 2011;129:245-55.
38. Schmieder R, Hoffmann J, Becker M, et al. Regorafenib (BAY 73-4506): antitumor and antimetastatic activities in preclinical models of colorectal cancer. *Int J Cancer* 2014;135:1487-96.
39. Strumberg D, Scheulen ME, Schultheis B, et al. Regorafenib (BAY 73-4506) in advanced colorectal cancer: a phase I study. *Br J Cancer* 2012;106:1722-7.
40. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013;381:303-12.
41. Cutsem EV, Ciardiello F, Seitz J-F, et al. Results from the large, open-label phase 3b CONSIGN study of regorafenib in patients with previously treated metastatic colorectal cancer [abstract]. *Ann Oncol* 2015;26:LBA-05.
42. Adenis A, de la Fouchardiere C, Paule B, et al. Survival, safety, and prognostic factors for outcome with Regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer refractory to standard therapies: results from a multicenter study (REBECCA) nested within a compassionate use program. *BMC Cancer* 2016;16:412.
43. Li J, Qin S, Xu R, et al. Regorafenib plus best supportive care vs. placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:619.
44. Lenz HJ, Stintzing S, Loupakis F. TAS-102, a novel antitumor agent: a review of the mechanism of action. *Cancer Treat Rev* 2015;41:777.
45. Yoshino T, Mizunuma N, Yamazaki K, et al. TAS-102 monotherapy for pretreated metastatic colorectal cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:993.
46. Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2015;372:1909.

47. de Baere T, Deschamps F. Arterial therapies of colorectal cancer metastases to the liver. *Abdominal Imaging* 2011;36:661-70.
48. Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Ibrahim SM, et al. Radioembolization of colorectal hepatic metastases using yttrium-90 microspheres. *Cancer* 2009;115:1849-58.
49. Hendlisz A, Van den Eynde M, Peeters M, et al. Phase III trial comparing protracted intravenous fluorouracil infusion alone or with yttrium-90 resin microspheres radioembolization for liver-limited metastatic colorectal cancer refractory to standard chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 2010;28:3687-94.
50. Benson AB 3rd, Geschwind JF, Mulcahy MF, et al. Radioembolisation for liver metastases: results from a prospective 151 patient multi-institutional phase II study. *Eur J Cancer* 2013;49(15):3122.
51. Hickey R, Lewandowski RJ, Prudhomme T, et al. 90Y radioembolization of colorectal hepatic metastases using glass microspheres: safety and survival outcomes from a 531-patient multicenter study. *J Nucl Med* 2016;57:665-71.
52. Kennedy AS, Ball D, Cohen SJ, et al. Multicenter evaluation of the safety and efficacy of radioembolization in patients with unresectable colorectal liver metastases selected as candidates for (90)Y resin microspheres. *J Gastrointest Oncol* 2015;6:134-42.
53. Saxena A, Meteling B, Kapoor J, et al. Is yttrium-90 radioembolization a viable treatment option for unresectable, chemorefractory colorectal cancer liver metastases? A large single-center experience of 302 patients. *Ann Surg Oncol* 2015;22:794-802.
54. van Hazel GA, Heinemann V, Sharma NK, et al. SIRFLOX: randomized phase III trial comparing first-line mFOLFOX6 (plus or minus bevacizumab) vs. mFOLFOX6 (plus or minus bevacizumab) plus selective internal radiation therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2016;34:1723-31.
55. Guinney J, Dienstmann R, Wang B et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* 2015;21:1350-1356.
56. Raut CP, Pawlik TM, Rodriguez-Bigas MA. Clinicopathologic features in colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Mutat Res* 2004;568:275-82.
57. Koopman M, Kortman GA, Mekenkamp L, et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009;100:266-73.
58. Goldstein J, Tran B, Ensor J, et al. Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with highlevel microsatellite instability (MSI-H). *Ann Oncol* 2014;25:1032-8.
59. Eshleman JR, Lang EZ, Bowerfind GK, et al. Increased mutation rate at the hprt locus accompanies microsatellite instability in colon cancer. *Oncogene* 1995;10:33-7.
60. Smyrk TC, Watson P, Kaul K, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma. *Cancer* 2001;91:2417-22.
61. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509-20.
62. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch repair deficiency (abstract). *J Clin Oncol* 2015;33(Suppl; abstr LBA100). Abstract available online at <http://meetinglibrary.asco.org/content/143531-156> (Accessed on August 17, 2015).
63. Overman MJ, Kopetz S, McDermott RS, et al. Nivolumab ± ipilimumab in treatment (tx) of patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) with and without high microsatellite instability (MSI-H): CheckMate-142 interim results (abstract). *J Clin Oncol* 2016;34(Suppl; abstr 3501). Abstract available online at <http://meetinglibrary.asco.org/content/166455-176> (accessed on July 26, 2016).