

Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre

Detection of circulating tumor
cells, circulating tumor stem cells
and liquid biopsies

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
de Tecnologías y Prácticas de Salud



Comunidad
de Madrid

Dirección General de Planificación,
Investigación y Formación
CONSEJERÍA DE SANIDAD

Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre

Detection of circulating tumor
cells, circulating tumor stem
cells and liquid biopsies

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS

Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre. Detection of circulating tumor cells, circulating tumor stem cells and liquid biopsies. Vendula Blaya-Nováková, Cristina Grávalos Castro Madrid. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid. 2015

1 Archivo PDF - (Informes, Estudios e Investigación)

NIPO: 680-17-027-4

Células tumorales circulantes; células tumorales stem circulantes; biopsia líquida; ADN tumoral circulante en plasma; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer colorrectal.

Dirección: Paloma Arriola Bolado

Autores: Vendula Blaya-Nováková, Cristina Grávalos Castro

Coordinación y gestión del proyecto: Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid. (Brezmes A, López M, Mendieta JM)

Apoyo y gestión documental: Álvarez N, Redondo JC

Este documento se ha realizado al amparo del convenio de colaboración suscrito por el Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Economía y Competitividad, y por la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, en el marco del desarrollo de actividades de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS, financiadas por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

Edita: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid. D. G. de Planificación, Investigación y Formación.

Maquetación: Boletín Oficial de la Comunidad de Madrid

NIPO: 680-17-027-4

Este documento puede ser reproducido en todo o en parte, por cualquier medio, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

Para citar este informe: Blaya-Nováková, V., Grávalos Castro C. Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre. Madrid. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid. 2015. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias



Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre

Detection of circulating tumor
cells, circulating tumor stem
cells and liquid biopsies

Declaración de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Acrónimos y abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico
ADNtp: ácido desoxirribonucleico tumoral circulante en plasma
AETSA: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía
AG: acuerdo global
ARN: ácido ribonucleico
ARNm: ácido ribonucleico mensajero
AUC: área bajo la curva
CA 15-3: antígeno tumoral 15-3
CA 27-29: antígeno tumoral 27-29
CCR: cáncer colorrectal
CCRM: cáncer colorrectal metastásico
CEA: antígeno carcinoembrionario
CM: cáncer de mama
CMm: cáncer de mama metastásico
CP: cáncer de próstata
CPHRm: cáncer de próstata metastásico resistente a castración
CPLa: cáncer de próstata localmente avanzado
CPTRm: cáncer de próstata metastásico resistente a taxanos
CPm: cáncer de próstata metastásico
CTC: células tumorales circulantes
CTSC: células tumorales stem circulantes
DAPI: tinción 4',6-diamino-2-fenilindol
ddPCR™: Droplet Digital™ PCR
DTC: células tumorales diseminadas
EBRT: radioterapia de haz externo
ECA: ensayo clínico aleatorizado
ECOG: estado funcional según la Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico
EMT: transición epitelial-mesenquimal
EpCAM: Epithelial cell adhesion molecule
FDA: Food and Drug Administration
FFAA: fosfatasas alcalinas
FFPE: fijado en formol y embebido en parafina
FISH: hibridación fluorescente in situ
Hb: hemoglobina
HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

HR: hazard ratio
IC_{95%}: intervalo de confianza al 95%
IQR: rango intercuartil
LDH: lactato deshidrogenasa
NGS: secuenciación de alto rendimiento (next-generation sequencing)
OMS: Organización Mundial de la Salud
OR: odds ratio
PCR: reacción en cadena de la polimerasa
PET-TC: tomografía por emisión de positrones-tomografía computada
PSA: antígeno prostático específico
QT: quimioterapia
RE: receptores de estrógeno
RECIST: Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)
RRHH: receptores hormonales
ROC: receiver operating characteristic
RP: receptores de progesterona
RR: riesgo relativo
RT: radioterapia
RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa de la transcriptasa inversa
Se: sensibilidad
SEE: supervivencia específica de enfermedad
SG: supervivencia global
SGm: mediana de la supervivencia global
SISH: hibridación in situ con plata
SLE: supervivencia libre de enfermedad
SLEM: supervivencia libre de enfermedad metastásica
SLP: supervivencia libre de progresión
SLPm: mediana de la supervivencia libre de progresión
SLRb: supervivencia libre de recurrencia bioquímica
SNC: sistema nervioso central
Sp: especificidad
TC: tomografía computarizada
TN: tumor triple negativo (sin receptores hormonales ni gen HER2 amplificado)
VPN: valor predictivo negativo
VPP: valor predictivo positivo
UICC: Unión Internacional Contra el Cáncer

Índice

Resumen	11
Abstract	13
Introducción	15
Antecedentes	15
Células tumorales circulantes	15
Células tumorales stem circulantes.....	16
ADN tumoral circulante en plasma.....	16
Datos epidemiológicos	17
Cáncer de mama	17
Cáncer colorrectal	18
Cáncer de próstata	19
Descripción de la tecnología.....	20
Determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes.....	20
Biopsias líquidas en sangre	23
Situación de comercialización en España	25
Alcance del informe	26
Objetivos	27
Objetivo general	27
Objetivos específicos.....	27

Métodos	29
Estrategia de búsqueda.....	29
Selección de los estudios.....	29
Criterios de inclusión.....	30
Criterios de exclusión.....	31
Diseño de los estudios.....	32
Valoración de la evidencia.....	32
Extracción de datos.....	32
Resultados	33
Resultados de la búsqueda.....	33
Determinación de las células tumorales circulantes.....	33
Valor pronóstico de la determinación de las CTC.....	34
Utilidad clínica de la determinación de las CTC.....	48
Variabilidad interplataformas CellSearch® – IsoFlux™ System.....	49
Biopsias líquidas en sangre.....	49
Validez analítica de la determinación de las mutaciones en el ADNtp.....	49
Valor pronóstico de la determinación de las mutaciones en el ADNtp.....	50
Utilidad clínica de la determinación de las mutaciones en el ADNtp.....	51
Variabilidad interplataformas BEAMing Digital PCR – Droplet Digital™ PCR System.....	51
Discusión	52
Células tumorales circulantes.....	52
Biopsias líquidas en sangre.....	54
Conclusiones	56

Anexos	58
Anexo 1. Estrategia de la búsqueda bibliográfica.....	58
Anexo 2. Diagrama de flujo PRISMA 2009.....	66
Células tumorales circulantes	66
Células tumorales stem circulantes.....	67
Biopsias líquidas en sangre	68
Anexo 3. Nivel de calidad de la evidencia científica del Centro de Medicina Basada en Evidencia de Oxford (2011)	69
Anexo 4. Tablas de evidencia científica:	
Características de los estudios incluidos.....	70
Células tumorales circulantes	70
Biopsias líquidas.....	109
Referencias	112

Índice de tablas

Tabla 1. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema Cellsearch® en el cáncer de mama no metastásico	35
Tabla 2. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema Cellsearch® en el cáncer de mama metastásico	41
Tabla 3. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema Cellsearch® en el cáncer colorrectal no metastásico	42
Tabla 4. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema Cellsearch® en el cáncer colorrectal metastásico	45
Tabla 5. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema Cellsearch® en el cáncer de próstata metastásico.....	47

Resumen

Título: Determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y biopsias líquidas en sangre

Autores: Vendula Blaya-Nováková, Cristina Grávalos Castro

Agencia: Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid

Persona de contacto: Paloma Arriola Bolado.

Fecha: Septiembre 2015

Idioma: Español.

Tipo de publicación: Revisión sistemática.

Páginas: 120

Nº Referencias: 81.

Tipo de tecnología: Determinación de células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes: sistemas CELLSEARCH® (Janssen Diagnostics, LLC) e IsoFlux™ Liquid Biopsy System (Fluxion Biosciences, Inc.). Biopsias líquidas en sangre (determinación de mutaciones en el ADN tumoral circulante en plasma): sistemas BEAMing Digital PCR (Sysmex Inostics GmbH) y Droplet Digital™ PCR System (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

Palabras clave: células tumorales circulantes; células tumorales stem circulantes; biopsia líquida; ADN tumoral circulante en plasma; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer colorrectal; revisión sistemática.

Introducción: La medición de las células tumorales circulantes, de las células tumorales stem circulantes y las biopsias líquidas en sangre están emergiendo como técnicas diagnósticas no invasivas que pueden ser de utilidad para pacientes con alto riesgo de recidiva, como factores pronósticos y/o predictivos de respuesta a las terapias dirigidas contra dianas celulares.

Objetivos: El objetivo del presente informe es evaluar el valor pronóstico de la determinación de células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes y de las biopsias líquidas en sangre en cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata como técnicas diagnósticas con fines pronósticos y predictivos de respuesta a tratamiento.

Métodos: Se realizó una revisión sistemática de la literatura científica. La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en diferentes bases de datos electrónicas (Medline, Embase, DARE, Cochrane Library Plus, ClinicalTrials.gov, AUnETS) desde mayo de 2000 hasta mayo de 2015 con el fin de localizar revisiones sistemáticas, meta-análisis, ensayos clínicos, estudios de cohortes y estudios comparativos de precisión pronóstica o validez analítica de determinación de células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes y de biopsias líquidas en sangre en pacientes con cáncer de mama, cáncer

de próstata y cáncer colorrectal. También se realizó una búsqueda manual a partir de las referencias de los estudios incluidos y se consultaron las listas de bibliografía publicadas en las páginas web de las tecnologías a estudiar. Para los resúmenes que cumplieron los criterios de inclusión, se analizaron los artículos completos y se extrajeron los datos relevantes, recogiendo en unas tablas de evidencia científica. Se analizó el nivel de evidencia científica de acuerdo a la clasificación del Centro de Medicina Basada en la Evidencia de Oxford (2011). Se realizó una síntesis cualitativa, ordenada y estructurada de la evidencia encontrada.

Resultados: La búsqueda identificó un total de 2456 estudios: 1619 para la determinación de las células tumorales circulantes, 125 para la determinación de las células tumorales stem circulantes y 712 para las biopsias líquidas en sangre. Se seleccionaron 36 trabajos sobre la determinación de células tumorales circulantes (20 para el cáncer de mama, nueve para el cáncer colorrectal, seis para el cáncer de próstata y un trabajo para los tres diagnósticos); todos utilizaron el sistema CellSearch®. Ningún estudio sobre la determinación de células tumorales stem circulantes cumplió los criterios de inclusión. Se incluyeron tres estudios sobre las biopsias líquidas en sangre: dos utilizaron el sistema Droplet Digital™ PCR System y uno el sistema BEAMing Digital PCR en pacientes con cáncer de mama.

Conclusiones: Se encontró evidencia sobre la existencia de una asociación entre la presencia de las células tumorales circulantes y la supervivencia en el cáncer de mama metastásico, cáncer colorrectal metastásico y cáncer de próstata metastásico resistente a terapia hormonal. Solo un trabajo estudió la utilidad clínica de la determinación de las células tumorales circulantes: cambiar la línea de tratamiento después del primer ciclo de quimioterapia si no se detectaba un descenso del número de células tumorales circulantes no mejoraba la supervivencia de las pacientes con cáncer de mama metastásico. Los datos disponibles no permiten recomendar el uso de la determinación de las células tumorales circulantes en la práctica clínica para guiar las decisiones terapéuticas o para la estratificación del riesgo en ninguno de los cánceres estudiados. No se encontraron estudios que avalasen el uso de las biopsias líquidas en sangre en la práctica clínica en ninguno de los cánceres estudiados.

Abstract

Title: Detection of circulating tumor cells, circulating tumor stem cells and liquid biopsies

Author: Vendula Blaya-Nováková, Cristina Grávalos Castro

Agency: Health Technology Assessment Unit, Community of Madrid, Spain

Contact: Paloma Arriola Bolado

Date: September 2015

Language: Spanish

Publication type: Systematic review

Pages: 120

N° References: 81

Technology: Detection of circulating tumor cells and circulating tumor stem cells: CELLSEARCH® system (Janssen Diagnostics, LLC) and IsoFlux™ Liquid Biopsy System (Fluxion Biosciences, Inc.). Liquid biopsy (detection of mutations in plasma tumor DNA): BEAMing Digital PCR (Sysmex Inostics GmbH) and Droplet Digital™ PCR System (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

Key words: neoplastic cells, circulating; circulating tumor stem cells; liquid biopsy; plasma tumor DNA; breast neoplasms; colorectal neoplasms; prostatic neoplasms; systematic review.

Background: The circulating tumor cell and circulating tumor stem cell detection and liquid biopsies (detection of mutations in plasma tumor DNA) are emerging non-invasive diagnostic techniques which may be useful for high-risk cancer patients as prognostic factors or predictors of response to targeted therapy.

Objectives: The objective of the present report is to evaluate the prognostic value of the determination of circulating tumor cells, circulating tumor stem cells and liquid biopsies in breast cancer, colorectal cancer and prostate cancer.

Methods: A systematic search of the scientific literature published between May 2000 and May 2015 was conducted in various electronic databases (Medline, Embase, DARE, Cochrane Library Plus, ClinicalTrials.gov, AUnETS) to identify systematic reviews, clinical trials, cohort studies and prognostic and diagnostic accuracy studies of the circulating tumor cell and circulating tumor stem cell detection and liquid biopsies in patients with breast, colorectal and prostate cancer. The reference lists of the included studies were hand searched, and bibliographic resources published on the webpages of the manufacturers were also consulted. For abstracts that met the inclusion criteria, full-text articles were analyzed and relevant data were extracted and presented in evidence tables. The level of evidence was

determined according to the Oxford Centre for Evidence-Based Medicine (2011). A structured qualitative synthesis of the evidence found was performed.

Results: A total of 2456 studies were found: 1619 studies of circulating tumor cell determination, 125 studies of circulating tumor stem cell determination, and 712 studies of liquid biopsies. Thirty-six studies of circulating tumor cells were included (20 of breast cancer, nine of colorectal cancer and 6 of prostate cancer, and one report that covered all three diagnostics); all of them used the CellSearch® system. No circulating tumor stem cell study fulfilled the inclusion criteria. Three liquid biopsy studies in breast cancer were included: two used the Droplet Digital™ PCR System and one used the BEAMing Digital PCR.

Conclusions: There is scientific evidence about the association between the presence of circulating tumor cells and survival in metastatic breast cancer, metastatic colorectal cancer and metastatic castration-resistant prostate cancer. Only one study of clinical utility of the determination of circulating tumor cells was found: for patients with metastatic breast cancer patients and persistently increased circulating tumor cell count after 21 days of first-line chemotherapy, early switching to an alternate cytotoxic therapy was not effective in prolonging overall survival. Currently available evidence does not support the recommendation to use the circulating tumor cell determination for guiding the treatment or for risk stratification in clinical practice in any of the indications studied. No evidence that would support the use of liquid biopsies in clinical practice was found.

Introducción

Antecedentes

La medición de las células tumorales circulantes (CTC), de las células tumorales stem circulantes (CTSC) y las biopsias líquidas en sangre (la determinación de las mutaciones en el ADN tumoral circulante en plasma, ADNtp) están emergiendo como técnicas diagnósticas no invasivas que podrían ser de utilidad para el cribado de pacientes en alto riesgo de recidiva, como factores pronósticos y/o predictivos de respuesta a las terapias dirigidas contra dianas celulares, evitando la realización de biopsias invasivas de metástasis.

Células tumorales circulantes

El pronóstico de los pacientes con cáncer viene determinado principalmente por la diseminación, en muchas ocasiones a través de vía hematógena, de las células tumorales desde la localización del tumor primario a los órganos a distancia. Las CTC son células tumorales liberadas desde el tumor primario o desde las metástasis en el torrente sanguíneo.¹ Las CTC pueden ser detectadas en la sangre de la mayoría de los pacientes con tumores sólidos, pero solo muy raramente en la sangre de los individuos sanos.² Su existencia fue evidenciada hace más de un siglo por el patólogo austriaco T.R. Ashworth³ y desde su descubrimiento se han intentado desarrollar varios métodos para su detección.

La diseminación tumoral es un fenómeno dinámico que requiere de una serie de eventos secuenciales, principalmente a nivel de la expresión genética en diferentes poblaciones de células cancerígenas. El destino de estas células, y la posible formación de lesiones metastásicas, depende de la interacción entre la célula cancerígena y su microambiente. Todavía no está claro si las CTC son precursoras de lesiones metastásicas (y poseen la capacidad de formar metástasis a distancia) o si las CTC son tan solo una medida de la carga tumoral.⁴ De cualquier modo, el número de CTC detectadas en sangre ha sido correlacionado con el desarrollo de metástasis, supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) en personas afectas de cáncer.⁵⁻⁹ En este sentido, ya se incluyen las CTC en la nueva edición del Manual de estadiaje TNM del año 2010 como clasificación cM0(i+) para el cáncer de mama (CM).¹⁰ En pacientes sin evidencia de metástasis, su detección podría brindar un pronóstico de la evolución de la enfermedad y contribuiría en la elección del tratamiento para prevenir su recidiva.

Una de las principales ventajas de la detección de CTC en sangre peri-

férica es que la toma de muestra es segura y puede repetirse frecuentemente, mientras que los procedimientos invasivos como por ejemplo la aspiración de médula ósea tienen una aceptación limitada por parte del paciente. Otra ventaja esencial es que la prueba puede servir para la valoración de la actividad tumoral en tiempo real y no solo cuando el crecimiento o la progresión de la enfermedad son observables, por ejemplo, mediante técnicas de radiodiagnóstico.

Células tumorales stem circulantes

Los tumores están compuestos por poblaciones de células heterogéneas. Algunas de estas células tienen las características de las células madre (stem cells). Se supone que durante la evolución clonal del tumor, la presencia en la sangre de estas CTSC sería un indicador de un comportamiento más agresivo del tumor.¹¹ Por otra parte, parece ser que las CTSC son relativamente más resistentes a la radioterapia (RT) y a los tratamientos citotóxicos actualmente disponibles y pueden contribuir al fracaso terapéutico y a la recurrencia de la enfermedad, y gracias a sus características pueden facilitar la repoblación y re-crecimiento del tumor en el lugar primario (recurrencia) o en otros órganos de la economía (progresión de la enfermedad a distancia).¹¹

ADN tumoral circulante en plasma

Se sabe que las células liberan pequeños fragmentos de ADN al torrente sanguíneo. La mayoría de este ADN está incluido en el componente plasmático de la sangre entera. En el caso de las células tumorales, su ADN contiene mutaciones somáticas que son específicas para estas células malignas y no están presentes en las células normales.¹²⁻¹⁴ La detección específica de ADNtp se ha correlacionado con la carga tumoral, cambia en respuesta al tratamiento o cirugía, e indica que las subpoblaciones de células tumorales que son resistentes al tratamiento pueden proliferar pese a la terapia.^{15,16}

Por lo tanto, el ADNtp podría servir como una biopsia líquida, una posible alternativa a las biopsias de metástasis en órganos, y ser utilizado para una variedad de aplicaciones clínicas y de investigación sin necesidad de biopsias del tejido tumoral que, además de ser costosas, inconvenientes para el paciente y de conllevar posible riesgo de complicaciones clínicas, a veces son muy dificultosas por la localización anatómica del tumor o de sus metástasis. Además, el enfoque sistémico evalúa el estado mutacional del tumor sin el sesgo de selección inherente a las muestras de tejido, ya que las mutaciones que confieren mayor agresividad pueden estar presentes tan solo en algunas lesiones tumorales. La determinación dinámica de las

mutaciones en el ADNtp podría ser de utilidad pronóstica y también predictiva de respuesta o resistencia a terapias dirigidas contra dianas celulares: un muestreo repetido del ADN tumoral circulante podría determinar si el perfil genético del tumor ha cambiado en respuesta al tratamiento realizado.

Datos epidemiológicos

Cáncer de mama

El cáncer de mama (CM) es la neoplasia más frecuente en mujeres en España y en el mundo (excluyendo el cáncer de piel no melanoma). Con unos 25.215 casos diagnosticados en el año 2012 en España (últimos datos disponibles) y una incidencia de 84.9 casos por 100.000 mujeres supone el 29% de todos los tumores malignos diagnosticados en mujeres. También es el tipo de cáncer que más muertes produce en las mujeres, con 6.057 muertes en 2012 y una tasa de mortalidad de 16.7/100.000 mujeres. En el 2012 representó el 16% de todas las muertes por cáncer en el sexo femenino en España.¹⁷

La mayoría de las muertes relacionadas con el CM se relaciona con las metástasis a distancia, no con el tumor primario *per se*. Por ello, la estrategia terapéutica en el CM primario es no solo eliminar el tumor primario, sino también evitar las recurrencias y el desarrollo de las metástasis a distancia mediante el uso de tratamientos complementarios a la cirugía. Las pacientes con CM con alto riesgo de desarrollar metástasis a distancia se someten a tratamientos sistémicos neoadyuvantes y adyuvantes (RT, quimioterapia (QT) y otros tratamientos farmacológicos). Una vez que el tumor haya producido metástasis, el objetivo de la terapia es el de paliar o demorar los síntomas relacionados con el cáncer, prolongar la supervivencia y mejorar la calidad de vida de las pacientes.

La terapia hormonal con antiestrógenos y los tratamientos dirigidos contra el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) en pacientes con presencia de algunos factores predictivos como la existencia de receptores hormonales (RRHH) o la sobreexpresión del gen HER2 en las células tumorales ha disminuido notablemente las tasas de recurrencia en pacientes seleccionadas. El éxito de la QT en pacientes sin estas características (positividad para RRHH y sobreexpresión de HER2) sin embargo, no ha sido tan espectacular, y estas pacientes están siendo sometidas a tratamientos con eficacia limitada. Por ello se siguen buscando factores pronósticos robustos que permitirían aplicar estos tratamientos solamente a las pacientes con un riesgo de recidiva alto.¹⁸ Actualmente los únicos biomarcadores séricos recomendados por las diferentes sociedades oncológicas, en combinación con las técnicas radiodiagnósticas y las características de la paciente, son el antígeno tumoral 15-3 (CA 15-3), el antígeno carcinoem-

brionario (CEA) y el antígeno tumoral 27-29 (CA 27-29)^{19,20}, pero esta recomendación solo se refiere a la monitorización del tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico (CMm). Se ha formulado la hipótesis de que la ausencia de CTC podría permitir identificar a las pacientes con bajo riesgo de recidiva en las que la terapia adyuvante podría ser evitada, y su presencia a las pacientes con alto riesgo de recidiva en las que se intensificaría el tratamiento sistémico. Además, se cree que los cambios en el número de CTC durante el curso del tratamiento podrían indicar una respuesta (o no respuesta) al tratamiento de forma temprana, hecho que ayudaría a tomar la decisión de mantener o cambiar la terapia de forma individualizada en cada paciente.

Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) es el tipo de tumor que afecta al mayor número de personas de ambos sexos en España, con una incidencia de 48.9/100.000 personas y un total de 32.240 casos nuevos detectados en el año 2012. Es el tercer tipo de cáncer más frecuente en hombres (19.621 casos, incidencia 65.6/100.000 hombres) y el segundo más frecuente en mujeres (12.979 casos, incidencia 35.3/100.000 mujeres). Representa el 15% de todos los tumores malignos en ambos sexos y causa el 14.3% de las muertes por cáncer, situándose así en el segundo lugar en cuanto a mortalidad se refiere (8.742 muertes en hombres y tasa de mortalidad de 27.3/100.000 hombres, 5.958 muertes en mujeres y tasa de mortalidad de 13.5/100.000 mujeres en el año 2012).¹⁷

El tratamiento de elección en el CCR no metastásico es la resección quirúrgica y, dependiendo del estadio de la enfermedad, la QT adyuvante (algunos estadios II y todos los estadios III) y en casos seleccionados la RT. Estos tratamientos aportan un beneficio de aproximadamente 15% en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) a los 5 años en los pacientes en el estadio III, lo que significa que en el 85% restante el tratamiento es ineficiente o innecesario.^{21,22} Se cree que la determinación de las CTC podría tener unos beneficios similares a los mencionados en el CM. Además, se presume que una identificación temprana del desarrollo de la enfermedad metastásica podría tener una gran importancia para mejorar los resultados clínicos de estos pacientes. Por otra parte, en los pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm) y buena respuesta a la QT inicial a menudo se considera una reducción de la intensidad del tratamiento, o una pausa en el tratamiento hasta volver a observar signos de progresión tumoral.²³ La desventaja es que la enfermedad puede progresar rápidamente durante estos periodos sin tratamiento.²⁴ Las CTC podrían ayudar en la distinción entre los pacientes que se podrían permitir una pausa prolongada (aquellos con CTC indetectables) y los pacientes que necesitarían volver al tratamien-

to rápidamente (en los que se observaría una elevación en el número de CTC).⁶ La fenotipización de las CTC podría además ayudar potencialmente a elegir a los pacientes para tratamientos dirigidos más específicos.

Cáncer de próstata

En España, el cáncer de próstata (CP) es el cáncer más frecuente en hombres (22% de todos los cánceres) y el tercero más letal (9% de las muertes por cáncer en hombres), después del cáncer de pulmón y del CCR. En el año 2012 se detectaron 27.853 casos (96.8 casos/100.000 hombres), y se registraron 5.481 muertes por esta enfermedad (15.2 muertes/100.000 hombres).¹⁷

El principal factor de riesgo es la edad ya que el 90% de los CP ocurren en personas mayores de 65 años.²⁵ Muchos hombres con CP localizado nunca experimentarán los síntomas o consecuencias de la enfermedad, pero es difícil distinguir a esta población con un curso indolente del otro grupo que presentará una enfermedad rápidamente progresiva, y que a menudo morirá por las consecuencias de la enfermedad metastásica. La mayoría de los pacientes diagnosticados de CP se someten a un tratamiento quirúrgico que puede tener importantes efectos adversos, incluidos los problemas de erección o incontinencia urinaria, que pueden influir de una manera importante en su calidad de vida. Estos pacientes tienen un dilema importante entre elegir este tratamiento agresivo, optar por otras opciones de tratamiento (RT, terapia hormonal) o elegir realizar un seguimiento intensivo, ya que incluso sin tratamiento la probabilidad de morir por otras causas es mucho mayor que la de morir por la enfermedad misma, especialmente en los pacientes más mayores.²⁶

Si las CTC pudieran considerarse un resultado sustitutivo válido, su determinación podría también ayudar en las decisiones sobre la interrupción de los tratamientos ineficientes en pacientes con el cáncer de próstata metastásico resistente a castración (CPHRm). Estas decisiones suelen ser complicadas porque estos pacientes a menudo exhiben cambios del antígeno prostático específico (PSA), síntomas inespecíficos y hallazgos radiográficos inconsistentes. La cuantificación de las CTC podría disminuir la morbilidad por la toxicidad del tratamiento, reducir costes y permitir a los pacientes recibir tratamientos alternativos en caso de pérdida de eficacia de los tratamientos convencionales.⁷

Los factores pronósticos más importantes hasta la fecha son el estadio TNM, la escala de Gleason, los márgenes quirúrgicos, y el PSA.²⁷ El PSA es un biomarcador que ha sido usado ampliamente con fines diagnósticos, predictivos y pronósticos. El PSA se usa para el cribado, para tomar las decisiones sobre la RT adyuvante después de la cirugía y como un marcador temprano de recurrencia después del tratamiento primario. Sin embargo, el

PSA no es específico para los procesos malignos, y esta falta de relación patofisiológica entre el PSA y la carcinogénesis requiere seguir buscando otros marcadores sustitutivos que mejorarían el poder predictivo del PSA. Uno de estos marcadores podría ser la cuantificación de las CTC.²⁸

Descripción de la tecnología

Determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes

Existen varios métodos de identificación de las CTC en sangre. El aislamiento de las CTC de la sangre (detección directa) es relativamente complicado, ya que las CTC son muy escasas, y pueden estar presentes en concentraciones tan bajas como 1 CTC entre 100 millones de leucocitos.

La técnica de detección de ácidos nucleicos (principalmente del ácido ribonucleico mensajero [ARNm] ya que su presencia señala la presencia de células viables) con la reacción en cadena de la polimerasa de la transcriptasa inversa (RT-PCR) se considera la más sensible. Esta técnica es rápida y requiere una pequeña cantidad de sangre, pero es un método indirecto porque es necesaria la lisis de las CTC, con lo que no es posible contar el número de CTC, ni conservar las células para un análisis molecular posterior. Desafortunadamente, su especificidad es baja porque existe un número alto de resultados falsos positivos por contaminación o porque los genes diana también pueden encontrarse en células no tumorales. Otra limitación sería para su uso en el entorno clínico es la falta de estandarización y de reproducibilidad. Entre las técnicas indirectas estarían también los ensayos de proteínas (por ejemplo el EPISPOT).

Entre los métodos de detección directa destaca la separación inmunomagnética que utiliza la unión de un anticuerpo con un marcador (proteína) en la superficie de las CTC. Estos anticuerpos se conjugan con unas perlas magnéticas y las CTC son separadas del resto de células sanguíneas mediante una fuerza magnética (las tecnologías CellSearch® de Janssen Diagnostics, LLC, IsoFlux™ Liquid Biopsy System de Fluxion Biosciences, Inc., AdnaTest™ de AdnaGen AG, MACS™ de Miltenyi Biotec, MagSweeper™, etc.).

Otros métodos directos son, por ejemplo, la separación inmunológica mediante la unión de un anticuerpo a un sustrato sólido, la captura microfluídica, la selección basada en la morfología celular o en las características físicas de las CTC independientemente de los marcadores celulares, como son la filtración basada en el tamaño, la separación dielectroforética o la centrifugación en gradiente de densidad; y el análisis inmunocitoquímico.

El desafío de la falta de estandarización y reproducibilidad de estos métodos ha llevado al desarrollo de varias técnicas automatizadas o semiautomatizadas.

El presente informe se ha centrado en dos técnicas de detección de las CTC mediante la separación inmunomagnética: el sistema CellSearch® de la compañía Janssen Diagnostics, LLC, y el sistema IsoFlux™ Liquid Biopsy System de Fluxion Biosciences, Inc.

CellSearch® CTC Test

El sistema CellSearch® es, hasta la fecha, el único sistema validado y autorizado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos para la detección de las CTC en el CMm, CCRm y cáncer de próstata metastásico (CPm) en el entorno clínico. El sistema permite detectar las CTC en concentraciones tan bajas como 1 CTC en 7.5 ml de sangre periférica entera. Los puntos de corte del número de CTC para determinar el pronóstico no favorable son de ≥ 5 CTC/7.5 ml en el CMm⁵, ≥ 3 CTC/7.5 ml en el CCRm⁶ y ≥ 5 CTC/7.5 ml en el CPm.⁷

El sistema CellSearch® está compuesto por los siguientes componentes:

- Tubos de ensayo patentados “CellSave Preservative Tubes” que contienen un conservante optimizado para la colección de las frágiles CTC y permiten almacenar las muestras durante 96 horas a temperatura ambiente, permitiendo así un procesamiento por lotes o el envío a un laboratorio lejano.
- Kit de detección de CTC “CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit”.
- Kit de control “CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit” que comprueba el funcionamiento de los reactivos, instrumentos y técnicas del operador.
- “CELLTRACKS® AUTOPREP® System”, un sistema automatizado que permite un procesamiento de la muestra estandarizado y reproducible a través de la captura inmunomagnética de las células, enriquecimiento y tinción inmunofluorescente
- Soporte de cartucho “MAGNEST® Cartridge Holder”;
- Sistema semiautomatizado “CELLTRACKS ANALYZER II®”, basado en la óptica fluorescente y utilizado para capturar y analizar las CTC que han sido seleccionadas inmunomagnéticamente. El resultado se presenta en forma de imágenes fluorescentes;
- Estación de trabajo para la revisión a distancia “CELLSEARCH® Remote Review Workstation” (opcional).

El CellSearch® un sistema semiautomático basado en un enriquecimiento inmunomagnético de las células epiteliales tumorales añadiendo a la muestra de sangre entera un fluido férrico con nanopartículas cubiertas de anticuerpos dirigidos contra la molécula de adhesión expresada por las células epiteliales en su superficie (Epithelial Cell Adhesion Molecule, EpCAM). Las células epiteliales circulantes son aisladas mediante unos campos magnéticos. Para distinguir entre los linfocitos y las CTC se añade un anticuerpo monoclonal fluorescente específico para los leucocitos CD45+ y unos anticuerpos monoclonales fluorescentes para las citoqueratinas 8, 18 y/o 19, específicas para las células epiteliales. Posteriormente se añade una tinción inmunocitoquímica para la detección de las células nucleadas con el ácido nucleico fluorescente (4',6-diamino-2-fenilindol, DAPI). Las células se colocan en el microscopio digital CELLTRACKS ANALYZER II® en un cartucho de imán para su lectura. La fuerza magnética atrae a las células a una única profundidad focal, y el sistema escanea el cartucho y presenta una galería de imágenes de las células candidatas a ser diagnosticadas como CTC que son positivas para la citoqueratina y el DAPI y negativas para el CD45+ a un operador entrenado para una selección final. El sistema dispone de un cuarto filtro abierto mediante el cual es posible determinar otras características de las CTC, por ejemplo la expresión del gen HER2 mediante una tinción con anticuerpos monoclonales dirigidos contra la proteína HER2.

Se podrían dar falsos positivos en los casos de expresión de citoqueratinas en otros tipos celulares no-CTC y por la presencia de células epiteliales benignas en sangre periférica en determinadas condiciones fisiopatológicas (inflamación, cirugía, enfermedades proliferativas epiteliales benignas, trauma). En cuanto a los falsos negativos, es una desventaja del sistema CellSearch que, por estar basado en el enriquecimiento por el EpCAM, no puede detectar células tumorales que no expresan el EpCAM, como las CTSC y probablemente tampoco las células tumorales en transición epitelial-mesenchimal (EMT) que puede llevar a la pérdida de la expresión del EpCAM. El CellSearch® tampoco captura las CTC que no expresan las citoqueratinas 8/18/19. Algunos autores, sin embargo, han utilizado el ya mencionado cuarto filtro precisamente para la detección de las CTSC.²⁹

La prueba está aprobada por la FDA para ser utilizada como una ayuda en el seguimiento de los pacientes con CMm, CCRm y CPm, en asociación con la información clínica derivada de las pruebas de diagnóstico (por ejemplo, pruebas de imagen diagnósticas, pruebas de laboratorio), el examen físico y la historia médica completa, conforme con los protocolos de gestión clínica adecuados. Aunque los cambios en el número de CTC deberían ser predictivos de la progresión de la enfermedad en pacientes en tratamiento con QT, el fabricante advierte que la prueba no debe ser usada

para valorar la efectividad de diferentes líneas de tratamiento o para distinguir por sí sola entre una enfermedad progresiva y no progresiva.

IsoFlux™ Liquid Biopsy System

El sistema IsoFlux™ Liquid Biopsy System de Fluxion Biosciences, Inc., combina la tecnología de separación microfluídica y la captura inmunomagnética de las CTC. La principal diferencia del CellSearch® es que es una plataforma abierta que permite utilizar anticuerpos de captura definidos por el usuario (EpCAM, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), HER2, N-cadherina etc.) e incorporar así un cóctel de anticuerpos dirigidos a diferentes tipos de células de sangre periférica (CTC, CTSC, células en el proceso de EMT, células circulantes inmunológicas y otras células raras específicas para una enfermedad o marcador). Otra ventaja de este sistema es que las células capturadas son fácilmente transferibles para un análisis molecular posterior, tal como la secuenciación de alto rendimiento (next-generation sequencing, NGS), reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), fluorescencia con hibridación in situ (FISH) o inmunofluorescencia.

La fracción monocitaria de la muestra de sangre periférica se mezcla, después de extraer los eritrocitos, con las perlas magnéticas que están unidas a uno o más tipos de anticuerpos específicos de las CTCs. La muestra se carga en el pozo de un cartucho que contiene unos canales de flujo microfluídicos de un diámetro de algunos micrómetros. La muestra fluye de manera altamente ordenada y laminar, propulsada por fuerzas neumáticas generadas por la máquina, y las células marcadas con perlas magnéticas son seleccionadas por un imán fuerte de neodimio. Los demás leucocitos siguen el flujo hasta un pozo de residuos.

Hasta el momento, el sistema se ha utilizado únicamente como herramienta de investigación.

Biopsias líquidas en sangre

Las nuevas técnicas de detección, como la PCR digital o la NGS, son muy sensibles y permiten la detección de moléculas de ADN mutado en concentraciones entre 0.02 y 0.1% del total del ADN estudiado.

El presente informe se ha centrado en dos técnicas de detección de las mutaciones en el ADNtp para la selección de la terapia dirigida: el sistema BEAMing Digital PCR de la compañía Sysmex Inostics GmbH, y el Droplet Digital PCR™ System (ddPCR™) de Bio-Rad Laboratories, Inc.

BEAMing Digital PCR

La tecnología BEAMing Digital PCR de Sysmex Inostics GmbH combina la PCR de emulsión con perlas magnéticas y la citometría de flujo para la detección altamente sensible de las moléculas de ADN tumoral mutado. El acrónimo BEAMing significa Beads (perlas), Emulsiones, Amplificación y Magnetismo. El proceso básico consiste en una transformación de una población de moléculas de ADN en una población de perlas, cada una recubierta de miles de copias de secuencias idénticas, generando así hasta 300 millones de compartimentos de PCR en una reacción. La tecnología tiene la capacidad para detectar y cuantificar el ADN mutado y el ADN de tipo nativo (wild-type) presentes en proporciones superiores a 1: 10.000 (0.01%). La lectura está basada en la citometría de flujo.

El problema de las técnicas de detección del ADNtp cualitativas es que pueden obtener resultados falsamente negativos, porque la cantidad del ADNtp es demasiado pequeña para detectar mutaciones minoritarias, o al contrario obtener resultados falsos positivos estocásticos porque la muestra podría contener una mutación rara aleatoria. La ventaja del BEAMing es que es un método cuantitativo y puede medir el número de moléculas de ADN por ensayo, asegurando que la cantidad del ADN testado es suficiente para detectar mutaciones minoritarias dentro de un rango de frecuencia esperado. La cuantificación también permite distinguir entre las mutaciones patogénicas y aleatorias, ya que proporciona un ratio del ADN mutado y ADN wild-type (mutaciones espontáneas por las células benignas), así que las mutaciones que no alcanzan cierto umbral se pueden considerar aleatorias. También es posible llevar a cabo controles de calidad estándar, necesarios para pruebas diagnósticas rutinarias. Además, la cuantificación potencialmente podría utilizarse como un marcador sustitutivo de la carga de enfermedad o para predecir el riesgo de recurrencia.

Una limitación importante de la técnica es que tan solo puede detectar mutaciones ya conocidas (no sirve para el descubrimiento de mutaciones nuevas).

Droplet Digital™ PCR System

Droplet Digital™ PCR System (ddPCR™) es un sistema de PCR digital fabricado por los laboratorios Bio-Rad Laboratories, Inc., que proporciona una cuantificación absoluta de las moléculas de ADN o ARN diana para una aplicación posterior de los ensayos EvaGreen o de PCR digital basada en sondas. El sistema tiene dos instrumentos, el generador de gotitas Droplet Generator y el lector Droplet Reader, más los reactivos asociados. Hasta la fecha hay tres generaciones de este sistema: QX100™, QX200™ y QX200™ AutoDG™ (donde la generación de las gotitas es automatizada).

El generador de gotitas Droplet Generator se utiliza para la partición de la mezcla de reacción ddPCR™ en miles de gotitas de volumen en el orden de nanolitros. Después de realizar la PCR en un termociclador, las gotitas de cada muestra se analizan individualmente en el lector Droplet Reader. Las gotitas son leídas pocillo por pocillo mientras fluyen en una fila única por un sistema de detección óptica de dos colores en manera seriada. Se pueden procesar hasta 96 muestras por ciclo de procesamiento. Las gotitas PCR-positivas y PCR-negativas son contadas de forma digital para proporcionar una cuantificación absoluta del ADN diana. Alternativamente, los productos amplificados se pueden extraer de las gotitas para aplicaciones posteriores, tales como la secuenciación o la clonación.

El sistema elimina la variabilidad entre los usuarios y la tecnología digital de partición de gotitas reduce el sesgo de la eficiencia de amplificación y de los inhibidores de la PCR.

En el campo de la oncología, la tecnología ddPCR™ puede utilizarse para realizar estudios de biomarcadores o de la variación del número de copias ya que puede medir diversos grados de mutaciones cancerosas, detectar copias mutadas del ADN diana, y resolver los estados de variación del número de copias con una alta sensibilidad y resolución. Estos ensayos son prediseñados y validados en laboratorios húmedos. También se puede utilizar para la NGS, el análisis de la expresión de genes en el ARNm y en el micro ARN, y para la detección de patógenos, el monitoreo ambiental o el análisis de alimentos.

Situación de comercialización en España

Las tecnologías de determinación de células tumorales circulantes y de las biopsias líquidas pertenecen a la categoría de productos sanitarios para diagnóstico “in vitro” que se aplican a muestras extraídas del organismo.⁸⁰ Estos productos se regulan por una reglamentación sanitaria armonizada en la Unión Europea.⁸¹ Los productos sanitarios que cumplen con los requisitos de la reglamentación pueden obtener un marcado CE y con este marcado pueden comercializarse en todos los países de la Unión Europea sin necesidad de nuevas evaluaciones. En el momento actual (febrero 2016), las tecnologías CellSearch, Isoflux y Droplet Digital PCR tienen el marcado CE y la tecnología BEAMing está siendo evaluada para su obtención.

Se desconoce el grado de implantación de estas tecnologías en el sistema sanitario español.

Alcance del informe

Análisis del valor pronóstico de la determinación de las CTC y CTSC (mediante sistemas CELLSEARCH® de Janssen Diagnostics, LLC, o IsoFlux™ Liquid Biopsy System de Fluxion Biosciences, Inc.) y de la efectividad y del valor pronóstico la determinación de las mutaciones en el ADNtp (mediante sistemas BEAMing Digital PCR de Sysmex Inostics GmbH o Droplet Digital™ PCR System de Bio-Rad Laboratories, Inc.) en el CM, CCR y CP, para su uso en hospitales de tercer nivel del Sistema Nacional de Salud.

Objetivos

Objetivo general

El objetivo del presente informe es evaluar el valor pronóstico de la determinación de las células tumorales circulantes, células tumorales stem circulantes (mediante los sistemas CELLSEARCH® de Janssen Diagnostics, LLC, o IsoFlux™ Liquid Biopsy System de Fluxion Biosciences, Inc.) y de la determinación de las mutaciones en el ADN tumoral plasmático (mediante los sistemas BEAMing Digital PCR de Sysmex Inostics GmbH o Droplet Digital™ PCR System de Bio-Rad Laboratories, Inc.) en el cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata como técnicas diagnósticas con fines pronósticos y predictivos de respuesta a tratamiento.

Objetivos específicos

- 1) Determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes
 - a) Evaluar el valor pronóstico de la prueba de determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes en el cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata (sistemas CELLSEARCH® e IsoFlux™ Liquid Biopsy System)
 - b) Valorar la utilidad clínica de la prueba de determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes en términos de modificaciones en el estado de salud de los pacientes con cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata provocados por los resultados de la prueba (sistemas CELLSEARCH® e IsoFlux™ Liquid Biopsy System)
 - c) Determinar la variabilidad interplataformas: CELLSEARCH® vs IsoFlux™ Liquid Biopsy System
- 2) Biopsias líquidas en sangre – determinación de las mutaciones en el ADN tumoral circulante en plasma
 - a) Determinar la validez analítica de la prueba de determinación de las mutaciones en el ADN tumoral plasmático en el cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata (sistemas BEAMing Digital PCR y Droplet Digital™ PCR System)

- b) Evaluar el valor pronóstico de la prueba de determinación de las mutaciones en el ADN tumoral plasmático en el cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata (sistemas BEAMing Digital PCR y Droplet Digital™ PCR System)
- c) Valorar la utilidad clínica de la prueba de determinación de las mutaciones en el ADN tumoral plasmático en términos de modificaciones en el estado de salud de los pacientes con cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata provocados por los resultados de la prueba (sistemas BEAMing Digital PCR y Droplet Digital™ PCR System)
- d) Determinar la variabilidad interplataformas: BEAMing Digital PCR vs Droplet Digital™ PCR System

Métodos

Estrategia de búsqueda

Se realizaron tres búsquedas sistemáticas, una para la determinación de las células tumorales circulantes, una para la determinación de las células tumorales stem circulantes y una para las biopsias líquidas en sangre, con un límite temporal para el periodo mayo 2000-mayo 2015. La última fecha de búsqueda fue el 25 de agosto de 2015. Las fuentes de información por tipo de estudio fueron las siguientes:

- Estudios primarios: búsqueda a través de Embase (embase.com) y Medline (PubMed) y del registro de ensayos clínicos ClinicalTrials.gov. También se hizo una revisión manual de las referencias bibliográficas de los estudios incluidos, y se revisaron las listas de bibliografía publicadas en las páginas web de las tecnologías a estudiar.³⁰⁻³⁴
- Informes de evaluación: incluidos en las bases de datos de las diferentes Agencias y Unidades de Evaluación de Tecnologías Sanitarias Españolas (AUnETS) y de las Agencias de Evaluación de otros países pertenecientes a la Red Internacional de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (INAHTA).
- Revisiones sistemáticas/meta-análisis: en las bases de datos especializadas en revisiones sistemáticas: la base de datos del National Health Service Centre for Reviews and Dissemination (CRD) y Cochrane Library Plus.

Las estrategias de búsqueda en las bases de datos se encuentran detalladas en el Anexo 1.

Selección de los estudios

Este trabajo fue realizado de acuerdo con los criterios de elaboración de revisiones sistemáticas de la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) publicada en 2009.³⁵

Todas las citas (títulos y resúmenes) identificadas mediante la búsqueda electrónica se descargaron a una base de datos de Reference Manager. Los duplicados fueron eliminados y las citas restantes fueron examinadas aplicando los criterios de inclusión previamente definidos. Los resúmenes que cumplieron los criterios de inclusión fueron analizados mediante la lectura del texto completo (Anexo 2).

Criterios de inclusión

Células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes

- Población: Personas con cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata
- Intervención: Determinación de las células tumorales circulantes y células tumorales stem circulantes mediante el sistema CELLSEARCH® (Janssen Diagnostics, LLC) o IsoFlux™ Liquid Biopsy System (Fluxion Biosciences, Inc.)
- Comparación: No hay comparador (seguimiento)
- Resultados:
 - Valor pronóstico: Supervivencia libre de enfermedad (para la enfermedad no metastásica), supervivencia libre de progresión (para la enfermedad metastásica), supervivencia específica de la enfermedad y supervivencia global
 - Precisión pronóstica: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos
 - Utilidad clínica: Supervivencia libre de enfermedad, supervivencia libre de progresión, supervivencia específica de la enfermedad y supervivencia global
 - Variabilidad interplataformas (CELLSEARCH® vs IsoFlux™ Liquid Biopsy System): curvas ROC, índice kappa, coeficientes de correlación de concordancia
- Tiempo: Sin límite
- Setting: Aplicable en los hospitales de tercer nivel del Sistema Nacional de Salud.

Biopsias líquidas en sangre

- Población: Personas con cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer de próstata
- Intervención: Determinación de las mutaciones en el ADN tumoral circulante en plasma mediante el sistema BEAMing Digital PCR (Sysmex Inostics GmbH) o Droplet Digital™ PCR System (Bio-Rad Laboratories, Inc.)
- Comparación:
 - Validez analítica: biopsia del tejido tumoral
 - Valor pronóstico y utilidad clínica: no hay comparador (seguimiento)

- Resultados:
 - Validez analítica: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos
 - Valor pronóstico: Supervivencia libre de enfermedad, supervivencia libre de progresión, supervivencia específica de la enfermedad y supervivencia global
 - Precisión pronóstica: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos
 - Utilidad clínica: Supervivencia libre de enfermedad, supervivencia libre de progresión, supervivencia específica de la enfermedad y supervivencia global
 - Variabilidad interplataformas (BEAMing Digital PCR vs Droplet Digital™ PCR System): curvas ROC, índice kappa, coeficientes de correlación de concordancia
- Tiempo: Sin límite
- Setting: Aplicable en hospitales de tercer nivel del Sistema Nacional de Salud.

Criterios de exclusión

- Estudios con fecha de publicación anterior al año 2000
- Estudios en los que las técnicas utilizadas no sean CELLSEARCH® o IsoFlux™ Liquid Biopsy System (para la determinación de las células tumorales circulantes y/o células tumorales stem circulantes) o BEAMing Digital PCR o Droplet Digital™ PCR System (para las biopsias líquidas en sangre)
- Estudios con muestras biológicas que no sean de sangre periférica
- Estudios de laboratorio (en animales, líneas celulares o modelos biológicos)
- Estudios que no comprueben los resultados de validez analítica de las pruebas BEAMing Digital PCR o Droplet Digital™ PCR System con alguna prueba de referencia o gold standard (biopsia del tejido)
- Para los estudios de factores pronósticos, estudios con menos de 150 pacientes³⁶, a menos que un tamaño menor sea justificado por un cálculo del poder estadístico
- También se excluyeron los estudios que daban los datos de supervivencia libre de enfermedad o de progresión pero no detallaban el proceso de seguimiento (técnicas diagnósticas, periodicidad), o tan solo se incluyeron los datos de supervivencia global.
- Estudios con deficiencias metodológicas
- Estudios publicados en idioma que no sea inglés o español.

Cuando varios estudios incluyeron la misma o prácticamente la misma población de estudio se seleccionaron los datos y los resultados disponibles más completos.

Diseño de los estudios

Se incluyeron informes de evaluación de tecnologías sanitarias, meta-análisis (que dispongan de datos separados por técnica de detección), ensayos clínicos aleatorizados (ECA), estudios de cohortes y estudios comparativos de precisión diagnóstica o pronóstica.

Valoración de la evidencia

Se realizó una lectura crítica de los estudios incluidos. A partir de la información extraída de los estudios se elaboró una síntesis cualitativa de los principales hallazgos de cada estudio.

Se analizó el nivel de evidencia científica de acuerdo a la clasificación del Centro de Medicina Basada en la Evidencia de Oxford (CMBE) del año 2011 (Anexo 3)³⁷, al no existir una escala de valoración de calidad de la evidencia de estudios pronósticos generalmente aceptada.

Extracción de datos

Se realizó la extracción de los siguientes datos de los estudios incluidos en la revisión, recogidos en unas tablas de evidencia científica (Anexo 4):

- Autor
- Año de la publicación
- Localización geográfica
- Diseño del estudio:
 - Tipo de diseño epidemiológico
 - Enmascaramiento
 - Aleatorización
 - Tamaño muestral
 - Intervención
 - Prueba de referencia utilizada (si procede) / seguimiento
- Objetivos del estudio
- Criterios de selección de los pacientes
- Características iniciales de los pacientes participantes
- Variables de resultado
- Comentarios sobre la calidad del estudio
- Otros comentarios.

Resultados

Resultados de la búsqueda

La búsqueda identificó un total de 2.456 estudios: 1.619 para la determinación de las CTC, 125 para la determinación de las CTSC y 712 para las biopsias líquidas en sangre (determinación de las mutaciones en el ADNtp) (Anexo 2).

Al aplicar los criterios de inclusión y exclusión se seleccionaron 34 estudios de la determinación de las CTC: 19 para el CM (18 estudios originales y un meta-análisis, tres de ellos en pacientes con CM localizado y el resto en pacientes con enfermedad metastásica), nueve para el CCR (siete estudios originales y dos meta-análisis) y seis para el CP (cinco estudios originales y un meta-análisis). También se identificaron dos informes de evaluación de tecnologías sanitarias para la determinación de las CTC. Todos los trabajos incluidos utilizaron el sistema CellSearch®. Mediante la búsqueda sistemática en las bases de datos bibliográficas no se encontró ningún estudio que emplease el sistema IsoFlux™ Liquid Biopsy System, y de los estudios mencionados por la empresa Fluxion Biosciences, Inc., en su página web³¹ ninguno cumplió los criterios de inclusión.

Ningún estudio de la determinación de las CTSC cumplió los criterios de inclusión.

Tres trabajos que estudiaron la detección de las mutaciones en el ADNtp cumplieron los criterios de inclusión. Los tres estudios se centraron en el CM temprano o metastásico. Un estudio utilizó la tecnología BEAMing Digital PCR y dos estudios utilizaron el sistema ddPCR™.

Determinación de las células tumorales circulantes

Se encontraron dos informes de evaluación de tecnologías sanitarias para el uso de la determinación de las CTC mediante la técnica CellSearch®, uno del Observatorio de Tecnologías Emergentes de la Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía (AETSA) del año 2006 centrado en el CMm³⁸, y otro del Australia and New Zealand Horizon Scanning Network del año 2009³⁹, que valoró la aportación de la técnica no solo para el CMm, pero también para el CCRm y CPm. El informe de la AETSA se basó en un único estudio de Cristofanilli et al. del año 2004.⁵ Los dos infor-

mes concluyeron que no se disponía de evidencia científica suficiente para recomendar el uso de la técnica como una prueba pronóstica para el cáncer metastásico en la práctica clínica.

Valor pronóstico de la determinación de las CTC

Cáncer de mama

Se encontraron 18 estudios originales y un meta-análisis sobre la validez clínica de la determinación de las CTC como prueba pronóstica. Un estudio reportó resultados de la precisión pronóstica de la prueba CellSearch[®] 40, y otro comunicó, además de los datos del valor pronóstico, también la información sobre el impacto clínico de la prueba. 41

El sistema CellSearch[®] está aprobado para su uso en el cáncer metastásico y ofrece los puntos de corte para el pronóstico favorable o no favorable para estos estadios avanzados. La detección de las CTC en el cáncer localizado está menos estudiada, siendo una de las razones la escasa presencia de CTC en estos estadios. Se encontraron dos estudios que evaluaron el papel de las CTC como factor pronóstico en pacientes con CM localizado (estadios I-III). 8,9 Los autores de los dos estudios modificaron el volumen de sangre de los 7.5 ml habituales a 30 ml para aumentar así la probabilidad de encontrar alguna CTC, y utilizaron el umbral de ≥ 1 CTC/30 ml para definir el pronóstico no favorable (aunque el estudio de Rack et al. proporcionó igualmente los datos para los puntos de corte de ≥ 2 y ≥ 5 CTC/30 ml, la diferencia en el volumen impide una comparación con los estudios en CMm).

El estudio de cohortes de *Franken et al.* 8 encontró diferencias significativas en la supervivencia específica de la enfermedad (SEE) entre los dos grupos de pacientes (≥ 1 CTC/30 ml vs 0; HR=3.47, IC_{95%}=1.36-8.83) y en la supervivencia libre de enfermedad metastásica (SLEM; HR=2.56, IC_{95%}=1.20-5.46), pero no en la SLE después de 4 años de seguimiento. El uso de este umbral es algo cuestionable, sin embargo, ya que ≥ 1 CTC/30ml fueron detectadas también en el 15% de las pacientes inicialmente reclutadas pero que acabaron teniendo un tumor benigno y en el 19% de las pacientes con carcinoma ductal *in situ*, en comparación con su presencia en el 16% de las pacientes con CM en estadio I y el 18% de las pacientes con CM en estadio II. *Rack et al.* 9 analizaron los datos de 2.026 participantes de un ECA y encontraron diferencias significativas tanto en la SLE (88.1% vs 93.7% en las pacientes con ≥ 1 y 0 CTC/30 ml, $p < 0.001$, respectivamente; HR=2.11, IC_{95%}=1.49-2.99) como en la SG a los 3 años de seguimiento (93.2% vs 97.3%, $p < 0.001$; HR=2.18, IC_{95%}=1.32-3.59), que sin embargo es un período relativamente corto considerando que se trataba del CM en es-

tadios localizados. La presencia de las CTC tanto antes como después de la QT se asoció con una peor SLE (HR=1.12, IC_{95%}=1.02-1.25) y una tendencia hacia una reducción de la SG (prueba log-rank: p=0.10).

Tabla1. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema CellSearch® en el cáncer de mama metastásico

Autor, Año	N	Estadio	SLE (%) SLEM (%) 0 CTC ¹	≥1 CTC ¹	HR	P	SEE (%) SG (%) 0 CTC ¹	≥1 CTC ¹	HR	P	Nivel de Evidencia
Franken, 2012 (8) ²	404	I-III	88.4 ND	78.9 ND	1.63 2.56	0.155 0.015	95.7 ND	85.5 ND	3.47 ND	0.009 ND	3
Rack, 2014 (9) ³	2026	M0	93.7 94.2	88.1 87.9	2.11	<0.001 <0.001 ⁴	97.5 97.3	94.4 93.2	ND 2.18	0.008 ⁴ 0.002	3

(1) en 30 ml de sangre periférica

(2) supervivencia a los 4 años

(3) supervivencia a los 3 años;

(4) prueba log-rank

CTC: células tumorales circulantes; HR: hazard ratio; ND: no disponible; SEE: supervivencia específica de la enfermedad; SLE: supervivencia libre de enfermedad; SLEM: supervivencia libre de enfermedad metastásica; SG: supervivencia global

El estudio de *Cristofanilli et al.*⁵ del año 2004 fue el primer estudio grande que utilizó la técnica CellSearch® para estudiar el papel de las CTC en el CMm. En el ya histórico estudio multicéntrico prospectivo doble ciego de una cohorte de 177 pacientes demostraron por primera vez una asociación entre las CTC y la SLP (HR=1.76, p=0.001) y SG (HR=4.26, p<0.001) independientemente del tiempo hasta la aparición de las metástasis, el lugar de metástasis (viscerales vs no viscerales) y la presencia de RRHH, y establecieron el umbral de 5 CTC/7.5 ml como un punto de corte validado internamente para el pronóstico favorable o no favorable. Las CTC eran además el predictor de mala evolución más importante en comparación con los demás predictores “clásicos” como la presencia de RRHH, la expresión del gen HER2 o el estado funcional. Las diferencias entre los dos grupos persistían en la primera visita de seguimiento (SLP: HR=2.52, p<0.001; SG: HR=6.49, p<0.001). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes en las que el número de CTC descendió de ≥5 CTC a <5 CTC y el grupo de las pacientes que tuvieron <5 CTC en ambas mediciones (p=0.60), ni entre el grupo de pacientes en las que el número de CTC aumentó de <5 CTC a ≥5 CTC y las pacientes en las que el número de CTC se mantuvo por encima

de cinco en ambas mediciones ($p=0.99$). Sí encontraron diferencias entre el grupo de pacientes en las que el número de CTC descendió por debajo de 5 CTC y el grupo en las que el número de CTC descendió, pero siguió por encima de 5 CTC en ambas mediciones (SLP: $p=0.002$; SG: $p=0.006$). Además, el número de CTC en la primera visita fue pronóstico para la SG en las pacientes en tratamiento con QT en monoterapia o tratamiento combinado, pero no en las que realizaron tratamiento hormonal, inmunoterapia o ambos ($p=0.002$).

Müller et al.⁴² encontraron una asociación significativa entre las CTC y la SG en un estudio de cohortes prospectivo multicéntrico de 245 pacientes con enfermedad metastásica de diagnóstico reciente (HR=2.7, IC_{95%}=1.6-4.2). La presencia de las CTC no se correlacionaba con la SLP.

El estudio prospectivo multicéntrico de **Pierga et al.**⁴³ estudió el valor pronóstico de las CTC en 267 pacientes con CMm iniciando tratamiento de primera línea y comparó su validez pronóstica con los biomarcadores séricos clásicos: CA 15-3, CEA, lactato deshidrogenasa (LDH) y fosfatasa alcalinas (FFAA). De estos cinco biomarcadores, en el análisis multivariable de la SLP solo las CTC y el CEA se mantuvieron como un predictor independiente, y para la SG solo las CTC se mantuvieron estadísticamente significativas (RR=2.4, IC_{95%}=1.1-5.4), pero la comparación de los diferentes marcadores mediante las curvas ROC (receiver operating characteristic) no demostró mejor rendimiento de unos marcadores frente a otros para la predicción de la respuesta a la QT antes del segundo ciclo, de hecho el rendimiento fue igualmente pobre en todos. Un análisis complementario de la misma cohorte comparó el rendimiento de los cinco marcadores más el CYFRA 21-1 medidos al inicio y durante el tratamiento.⁴⁴ Los índices de concordancia no demostraron una superioridad clara de ninguno de los biomarcadores o de las CTC ni de una combinación de ellos para la predicción de la SLP.

Wallwiener et al.⁴⁵ compararon el valor pronóstico de las CTC en tres subtipos de CM predefinidos (RRHH+/HER2-, HER2+, RRHH-/HER2-) en un estudio prospectivo multicéntrico de 486 pacientes con CMm. Las CTC fueron un predictor independiente para la supervivencia en la cohorte entera (SLP: HR=1.82, IC_{95%}=1.41-2.34; SG: HR=4.79, IC_{95%}=2.95-7.79) y en cada uno de los tres subgrupos, pero se encontró una falta de asociación entre las CTC y la supervivencia en las pacientes pre-tratadas con trastuzumab ($p=0.426$).

Jiang et al.⁴⁶ llevaron a cabo un estudio multicéntrico doble ciego del valor pronóstico de las CTC medidas antes y después de la QT en 294 mujeres chinas con CMm. Tener ≥ 5 CTC/7.5 ml se asociaba con peor SLP (HR=1.93, IC_{95%}=1.39-2.69) y SG (HR=3.76, IC_{95%}=2.35-6.01). Similares resultados se observaron para la determinación de las CTC después de la QT. Los autores tuvieron la oportunidad de explorar la interacción entre las terapias dirigidas y las CTC ya que una parte de las pacientes con tumores HER2+ no pudo recibir el tratamiento anti-HER2 por razones económicas,

pero no encontraron diferencias; el efecto pronóstico de las CTC se mantuvo independientemente del tratamiento recibido en este subgrupo.

Smerage et al.⁴¹ estudiaron las diferencias en el pronóstico entre las pacientes con <5 CTC/7.5 ml al inicio del tratamiento, las pacientes con un descenso de ≥ 5 CTC antes del inicio de la QT a menos de 5 CTC después del primer ciclo y en las pacientes con un número de CTC consistentemente alto en su ECA multicéntrico de 595 pacientes con CMm que no habían recibido QT previa para la enfermedad metastásica. El grupo con las CTC altas tuvo el doble de riesgo de progresión y de muerte que el grupo que experimentó una disminución de las CTC (SLP: HR=1.94, IC_{95%}=1.52-2.47; SG: HR=2.13, IC_{95%}=1.63-2.79). Este además fue el único trabajo encontrado que estudió la utilidad clínica de emplear la información sobre los cambios en el número de CTC para dirigir el tratamiento (ver apartado “Utilidad clínica de la determinación de las CTC”).

Martín et al.⁴⁷ midieron las CTC en una cohorte prospectiva consecutiva de 99 pacientes con CMm antes del inicio del tratamiento con QT paliativa y después del primer ciclo de la terapia. Solo el número de CTC alto después del tratamiento se asociaba de manera significativa con una peor tasa de beneficio clínico definido como respuesta completa, parcial o enfermedad estable según los criterios RECIST⁴⁸ (44% vs 77% en las pacientes con <5 CTC, $p=0.0051$) y con peor SG (HR=2.47, IC_{95%}=1.25-4.89). El estudio no tuvo suficiente poder estadístico para poder correlacionar las CTC con la SLP o para encontrar relaciones significativas entre la determinación de CTC basal y la SG. La SG de los pacientes con un descenso en el número de las CTC fue parecida a la de los pacientes con un número de CTC bajo en ambas mediciones, sugiriendo que la determinación del día 21 podría tener más utilidad para la determinación no solo de la respuesta al tratamiento, pero también del pronóstico global. Los autores, sin embargo, advierten que sus resultados podrían no ser extrapolables al tratamiento comunitario, ya que sus pacientes tenían acceso a otros tratamientos experimentales después de la determinación de las CTC. La proporción de las pacientes con HER2+ también fue más alta de lo habitual ya que se trataba de un centro de investigación de referencia que recibe a estas pacientes para su inclusión en los ensayos clínicos con terapia dirigida.

Wallwiener et al.⁴⁹ también evaluaron el efecto de los cambios en el número de CTC antes y después del primer ciclo de tratamiento en una cohorte prospectiva de 393 pacientes con CMm. La presencia de ≥ 5 CTC/7.5 ml basal se asoció con progresión de la enfermedad (HR=1.55, IC_{95%}=1.19-2.01) y peor SG (HR=2.79, IC_{95%}=2.04-5.63). Los cambios de <5 CTC a ≥ 5 CTC/7.5 ml y viceversa no se asociaron de manera estadísticamente significativa con la supervivencia; solo las pacientes con ≥ 5 CTC/7.5 ml en ambas mediciones tuvieron un peor pronóstico (SLP: HR=2.17, IC_{95%}=1.39-3.37; SG: HR=5.58, IC_{95%}=3.06-10.15).

Después de su primer estudio prospectivo, Cristofanilli y sus compañeros del MD Anderson Cancer Center de la Universidad de Tejas en Houston, Estados Unidos, publicaron numerosos estudios de cohortes retrospectivas de las pacientes con CMm tratadas en su centro entre los años 2001 y 2009 cuyos datos se recogieron en una base de datos mantenida prospectivamente.⁵⁰⁻⁵⁶

Cristofanilli et al.⁵⁰ evaluaron el significado pronóstico de las CTC en el CMm en relación con las medidas de carga tumoral, los indicadores del fenotipo de la enfermedad y el tratamiento recibido en un análisis retrospectivo de una cohorte de 151 pacientes. Las CTC demostraron la mayor magnitud del efecto para el riesgo de muerte (HR=2.2, p=0.003) al compararlas con los demás factores pronósticos clásicos. El biomarcador CA 27-29 no resultó estadísticamente significativo (p=0.24).

Dawood et al.⁵¹ restringieron su cohorte retrospectiva a un grupo más homogéneo de pacientes con CMm con diagnóstico de enfermedad metastásica reciente que empezaba el tratamiento de primera línea. Un número de CTC elevado se asociaba con mayor riesgo de muerte (HR=3.64, IC_{95%}=2.11-6.30), con una diferencia absoluta en la supervivencia a un año del 23.9% (p<0.001). Por otra parte, sus resultados no ajustados sugirieron que las CTC podrían servir para estratificar el riesgo también dentro de los subgrupos de pacientes de relativo buen pronóstico (HER2+, con RRHH, con metástasis únicamente óseas) y mal pronóstico (HER2-, RRHH-, con metástasis viscerales).

Las CTC también resultaron ser un predictor de supervivencia independientemente de la presencia de las metástasis detectadas por la PET-TC, el estatus HER2 y el número de líneas de tratamiento previas en una cohorte retrospectiva de 195 pacientes con CMm de **de Giorgi et al.**⁵² (SG: HR=1.79, IC_{95%}=1.06-3.00). El número elevado de CTC se asoció sobre todo con la presencia de metástasis óseas, indicando una posible relación entre las CTC y la carga o actividad tumoral.

Giordano et al.⁵³ publicaron datos de una cohorte retrospectiva de 517 pacientes con CMm. Tener 5 o más CTC/7.5 ml fue un factor de riesgo independiente para una peor SLP (HR=1.23, IC_{95%}=1.01-1.48) y SG (HR=2.08, IC_{95%}=1.64-2.66). Sus resultados también sugirieron una reducción de la utilidad pronóstica de las CTC en el grupo de pacientes con tumores HER2+.

Un subanálisis de 235 pacientes de esta cohorte con el diagnóstico de enfermedad metastásica reciente en tratamiento sistémico de primera línea de **Giuliano et al.**⁵⁴ demostró una falta de valor pronóstico de las CTC en pacientes con tumores HER2+ recibiendo tratamiento anti-HER2 y en las pacientes que recibían la QT con taxanos en combinación con bevacizumab. Esto se tradujo en un mayor beneficio terapéutico de las terapias dirigidas anti-HER2 para las pacientes con ≥ 5 CTC/7.5 ml en comparación con las pacientes con un número de CTC bajo, tanto en términos de la SLP como de la SG, aunque no fue así en el caso de la QT en combinación con beva-

cizumab, donde una disminución de las CTC gracias al tratamiento no se trasladó en una mejora de la supervivencia de las pacientes con ≥ 5 CTC/7.5 ml. En cambio, las mujeres con un número de CTC alto recibían escaso beneficio en términos de SLP de la QT en monoterapia y del tratamiento hormonal, incluso cuando este tratamiento fue indicado en los casos con RRHH+. Además, en el grupo de pacientes con expresión del gen HER2 normal, las pacientes con ≥ 5 CTC/7.5 ml obtuvieron un mayor beneficio con el tratamiento combinado que las pacientes con < 5 CTC/7.5 ml al compararlo con las pacientes que recibieron monoterapia (prueba de heterogeneidad, $p=0.01$). También percibían más beneficio en términos de SG, pero en este caso la heterogeneidad entre los dos grupos no fue significativa ($p=0.16$). La QT con bevacizumab fue superior a la QT con taxanos en monoterapia en las pacientes con ≥ 5 CTC/7.5 ml ($HR=0.28$, $IC_{95\%}=0.12-0.64$), pero no en las pacientes con < 5 CTC/7.5 ml ($HR=0.88$, $IC_{95\%}=0.42-1.83$). Los resultados del estudio están sin embargo limitados por la falta de comparaciones aleatorizadas y por el pequeño número de pacientes en los diferentes subgrupos.

Giordano además utilizó esta cohorte de 517 pacientes para demostrar un aumento lineal del riesgo de muerte en las pacientes con CMm conforme aumentaba el número de CTC (variable continua) mediante un análisis de redes neuronales artificiales con validación interna⁵⁵; las pacientes con ≥ 80 CTC/7.5 ml tuvieron marcadamente peor pronóstico que el resto del grupo. Giordano también elaboró unos nomogramas pronósticos de probabilidades de SLP a los 6 meses y 1 y 2 años y de SG a los 1, 2 y 5 años, desarrollados en el ya mencionado subgrupo de 236 pacientes con CMm en tratamiento de primera línea⁵⁴ y validado externamente con los datos de 210 pacientes de características similares del estudio francés IC2006-04.⁵⁶ Los nomogramas elaborados en este estudio están disponibles en <http://cancernomograms.com/CTCOnline.html> (último acceso 2 de octubre 2015).

Munzone et al.⁵⁷ realizaron, además del análisis del valor pronóstico de más de 1 CTC/7.5 ml y más de 5 CTC/7.5ml para la SLP ($HR_{5CTC}=1.4$, $IC_{95\%}=1.1-1.9$) y SG ($HR_{5CTC}=3.2$, $IC_{95\%}=2.2-4.6$) en una cohorte consecutiva retrospectiva de 203 pacientes, también un subanálisis ajustado del valor de las CTC en diferentes subtipos moleculares: luminal A (grado 1/2), luminal B (grado 3) HER2-, luminal B HER2+, no-luminal HER2+, triple negativo (TN; RRHH- y HER2-) (⁵⁷). La presencia de 5 o más CTC/7.5 ml se asociaba con un mayor riesgo de muerte en todos los grupos menos en el de los tumores TN, sin embargo, el número de pacientes en los subgrupos era relativamente pequeño.

En la cohorte retrospectiva de 154 pacientes con CMm de Peeters et al.⁵⁸, las CTC fueron el factor pronóstico más importante para la SLP ($HR=2.6$, $IC_{95\%}=1.7-4.0$) y para la SG ($HR=3.2$, $IC_{95\%}=1.8-5.7$). Por otra parte, los autores encontraron que las CTC no tenían valor pronóstico en las

pacientes con tumores HER2+ (luminal B o no-luminal), tanto para la SG como para la SLP.

Bidard et al.⁵⁹ realizaron un análisis combinado retrospectivo de los datos individuales de 1.944 pacientes con CMm de 17 centros europeos, con los objetivos de valorar el efecto pronóstico de las CTC en diferentes subgrupos y también de valorar este efecto en el contexto de un modelo clínico-patológico completo, incluyendo a los demás biomarcadores séricos (CEA y CA 15-3). La condición de inclusión era que el resultado de la prueba no debía influir en la elección del tratamiento (diseño doble ciego). La presencia de ≥ 5 CTC/7.5 ml antes del inicio de una nueva línea de tratamiento casi duplicaba el riesgo de progresión (HR=1.92, IC_{95%}=1.73-2.14) y casi triplicaba el riesgo de muerte por cualquier causa (HR=2.78, IC_{95%}=2.42-3.19). Los resultados eran parecidos para la determinación de las CTC a las 3-5 y 6-8 semanas de tratamiento. Añadir el número de CTC basal, a las 3-5 y 6-8 semanas al modelo estadístico basado en los factores clínico-patológicos mejoró su índice de concordancia (c de Harrell), a diferencia de los biomarcadores tumorales séricos CEA y CA 15-3. De forma similar al estudio de de Giorgi et al.⁵², un número alto de CTC se asoció con el desarrollo de metástasis óseas. No se confirmó el hallazgo de los estudios estadounidenses que sugería un menor valor pronóstico de las CTC en las pacientes con tumores HER2+.

Un meta-análisis del valor pronóstico de las CTC en el CM fue publicado por **Zhang et al.**⁶⁰ en el año 2012. Aunque se incluyeron estudios que utilizaban diferentes métodos de identificación de las CTC, los autores proporcionaron también un subanálisis de 18 estudios con un total de 2.839 pacientes que utilizaron el sistema CellSearch®. Un trabajo estudió las CTC en el CM localizado⁴⁰ y 17 estudiaron las pacientes con el CMm. La presencia de ≥ 5 CTC/7.5 ml (o ≥ 1 CTC/7.5 ml en el caso de CM localizado) acertaba el período libre de progresión (HR=1.85, IC_{95%}=1.53-2.25) y la supervivencia en global (HR=2.45, IC_{95%}=2.10-2.85). La heterogeneidad de los estudios para la SLP fue alta (I²=56.3%) y para la SG fue moderada (I²=28.8%), pero ambos análisis incluyeron a pacientes en todos los estadios de la enfermedad.

Precisión pronóstica de la determinación de las CTC en el CM

Se encontró un trabajo que estudió la precisión pronóstica de la determinación de las CTC en el CM. **Bidard et al.**⁴⁰ analizaron retrospectivamente un subgrupo de 115 pacientes con CM en estadios II-III del ensayo clínico aleatorizado REMAGUS02. La detección de ≥ 1 CTC/7.5 ml por el sistema CellSearch® antes de un tratamiento neoadyuvante, después del tratamiento y en ambas o una de las dos mediciones alcanzaba un acuerdo global (AG) de 77%, 79% y 74% respectivamente para la predicción de una recurrencia metastásica. En cuanto a los demás factores pronósticos clásicos, en este estu-

dio el grado de diferenciación alcanzaba un AG del 54%, el estadio T 57%, el estadio cN 40%, el estatus TN 76% y la respuesta completa patológica 27%.

Tabla 2. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema CellSearch® en el cáncer de mama metastásico

Autor,Año	N	SLP _m (meses) >5 CTC ¹	≥5 CTC	HR	P	SG _m (meses) >5 CTC	≥5 CTC ¹	HR	P	Nivel de Evidencia
Bidard, 2014 (59)	1944	11.4	6.5	1.92	<0.001	37.1	15.5	2.78	<0.001	3
Cristofanilli, 2004 (5)	177	7.0	2.7	1.76	0.001	>18	10.1	4.26	<0.001	3
Cristofanilli, 2007 (50)	151	ND	ND	ND	ND	29.3	13.5	2.18	0.003	3
Dawood, 2008 (51)	185	ND	ND	ND	ND	28.3	15	3.64	<0.001	2
De Giorgi, 2010 (52)	195	ND	ND	ND	ND	34.8	18.5	1.79	0.029	3
Giordano, 2012 (53)	517	6.3	5.8	1.23	0.036	32.4	18.3	2.08	<0.001	3
Giuliano, 2011 (54)	235	12.0	7.0	1.721	<0.001	40.1	21.9	2.501	<0.001	2
Jiang, 2013 (46)	294	9.0	6.7	1.93	<0.001	>24.6	13.2	3.76	<0.001	3
Martín, 2013 (47) ²	99	9	3	ND	0.0013	39	9	2.47	0.009	2
Müller, 2012 (42)	245	10.9	9.3	ND	>0.053	27.1	18.1	2.7	<0.01	2
Munzone, 2012 (57)	203	ND	ND	1.4	ND (<0.05)	ND	ND	3.2	ND (<0.05)	3
Peeters, 2014 (58)	154	17.6	9.2	2.6	<0.001	NV	26.3	3.2	<0.001	3
Pierga, 2012 (43)	167 164	19.9 ⁴ / 9.6 ⁵	8.2	1.9 ⁶	0.003	ND	ND	2.4 ⁸	0.03	2
Smerage, 2014 (41)	276 319 ^{2,7}	11.1 8.9	ND 4.9	ND 1.94	ND ND (<0.05)	34.8 22.9	ND 13.1	ND 2.13	ND ND (<0.05)	2
Wallwiener, 2013 (45)	445 486	7.60	4.77	1.82	<0.001	NV	18.01	4.79	<0.001	3
Wallwiener, 2014 (49)	393	7.8	4.7	1.55	<0.001	27.2	10.4	2.79	<0.001	3
Zhang, 2012 (60) ⁸	2893	-	-	1.859	ND (<0.05)	-	-	2.45	ND (<0.05)	4

¹ calculado como recíproco; ² CTC medidas después del primer ciclo de QT; ³ prueba log-rank; ⁴ grupo de 0 CTC/7.5 ml; ⁵ grupo de 1-4 CTC/7.5 ml; ⁶ riesgo relativo; ⁷ ≥5 CTC/7.5 ml basal; ⁸ meta-análisis; ⁹ SLE/SLP

CTC: células tumorales circulantes; HR: hazard ratio; ND: no disponible; SLPm: mediana de la supervivencia libre de progresión; SGm: mediana de la supervivencia global; NV: no valorable

Cáncer colorrectal

Se encontraron siete estudios originales y dos meta-análisis que valoraron las CTC como factor pronóstico en el CCR. Dos estudios valoraron el impacto de las CTC en el CCR no metastásico.^{4,22}

Bork et al.⁴ estudiaron un grupo heterogéneo de 287 pacientes con CCR en todos los estadios excepto los tumores inoperables o con metástasis hepáticas. Observaron un peor pronóstico de los pacientes con ≥ 1 CTC/7.5 ml detectables en el conjunto de pacientes del estudio (estadios I-IV; SG: HR=5.6, IC_{95%}=2.6-12.0), además de en el subanálisis de los pacientes en estadios I-III (SG: HR=5.5, IC_{95%}=2.3-13.6).

Un estudio español de 519 pacientes con CCR en estadio III de **Sotelo et al.**²² no encontró una asociación significativa entre las CTC y la supervivencia para ninguno de los umbrales testados ($\geq 1, 2, 3$ y 5 CTC/7.5 ml).

Tabla 3. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema CellSearch® en el cáncer colorrectal no metastásico

Autor, Año	N	Estadio	SLE _m (meses)		HR	P	SG _m (meses)		HR	P	Nivel de Evidencia
			0 CTC	≥ 1 CTC			0 CTC	≥ 1 CTC			
Bork, 2015 (4) ¹	239	I-III	-	-	-	-	49.8	38.4	5.5	<0.001	3
	287	I-IV	-	-	-	-	48.4	33.6	5.6	<0.001	
Sotelo, 2015 (22) ¹	472	III A-B	-	-	-	-	ND	ND	0.96	0.892	2

(1) no se tomaron en cuenta los datos de SLP porque los autores no especifican como siguieron a los pacientes

CTC: células tumorales circulantes; HR: hazard ratio; ND: no disponible; SLE_m: mediana de la supervivencia libre de enfermedad; SG_m: mediana de la supervivencia global

El estudio de **Cohen et al.**⁶ de una cohorte prospectiva de 430 pacientes con CCRm reclutados en 55 centros de Estados Unidos, Países Bajos y Reino Unido validó el punto de corte para el pronóstico no favorable en ≥ 3 CTC/7.5 ml. El impacto negativo de las CTC se mantenía a través de varias mediciones durante el curso del tratamiento. En una publicación posterior con tiempo de seguimiento actualizado, los autores estimaron que los pacientes con CCRm y ≥ 3 CTC/7.5 ml en la medición basal tenían un riesgo 45% mayor de progresión (HR=1.45, IC_{95%}=1.15-1.85) y un riesgo de muerte 122% mayor (HR=2.22, IC_{95%}=1.70-2.89) que los pacientes con menos de

3 CTC/7.5 ml ⁽⁶¹⁾. Las mediciones a las 1-2, 3-5, 6-12 y 13-20 semanas también tenían valor pronóstico, y la magnitud del riesgo aumentaba conforme pasaba el tiempo desde el inicio del tratamiento, siendo el riesgo más alto para el grupo con ≥ 3 CTC/7.5 ml a las 13-20 semanas para la SLP (HR=4.18, IC_{95%}=2.17-8.03) y a las 6-12 semanas para la SG (HR=9.35, IC_{95%}=5.28-16.54). Las CTC no tenían valor pronóstico para la SLP en pacientes tratados con oxaliplatino y bevacizumab, pero sí había diferencias significativas entre el grupo favorable y no favorable para la supervivencia global en estos pacientes ($p < 0.0001$ para ambos tratamientos).⁶¹ Un subanálisis secundario de la cohorte de 217 pacientes con niveles de CEA ≥ 10 ng/ml realizado por **Aggarwal et al.**⁶² demostró que no había correlación entre las CTC y el CEA, pero la combinación de las CTC con el CEA aportaba información pronóstica adicional. A diferencia de las CTC, el CEA basal no se mantuvo como un factor pronóstico independiente en el análisis multivariable. A las 6-12 semanas desde el inicio del tratamiento, solamente las CTC y el CEA > 50 ng/ml o su reducción al 50% o menos eran factores pronósticos independientes de la evolución de la enfermedad.

Sastre et al.⁶³ analizaron un subgrupo de pacientes con CCRm del ensayo clínico aleatorizado de bevacizumab MACRO llevado a cabo por el Grupo Español de Tratamiento de los Tumores Digestivos en el que se había realizado una determinación de las CTC. Los pacientes con ≥ 3 CTC/7.5 ml tuvieron una SLP y SG más corta que los pacientes con < 3 CTC, sin embargo, después de ajustar por el estado funcional, edad, sexo y número de órganos afectados, los niveles de LDH y FFAA y el tratamiento recibido, el efecto tan solo se mantuvo significativo en relación con la SLP (HR=1.63, IC_{95%}=1.05-2.53), pero no con la SG. En el siguiente análisis multivariable con fines predictivos, las CTC se mantuvieron como un predictor independiente de la SG (HR=1.54, IC_{95%}=1.00-2.37) junto con los niveles de LDH y número de órganos afectados, pero no de la progresión de la enfermedad, donde el único predictor independiente era el nivel de LDH anormal.

En un estudio noruego de 194 pacientes con CCRm y metástasis hepáticas referidos a un centro de cirugía hepatopancreatobiliar, **Seeberg et al.**⁶⁴ concluyeron que tener 2 o más CTC era un predictor independiente de progresión (HR=2.32, IC_{95%}=1.26-2.94) y mortalidad (HR=2.48, IC_{95%}=1.40-4.38) junto con tres o más metástasis hepáticas, los márgenes de resección afectados y la presencia de enfermedad extrahepática. El efecto de las CTC sobre la mortalidad fue parecido en los pacientes con enfermedad resecable y no resecable.

Dos meta-análisis de **Huang et al.**^{65,66} estudiaron la relación entre las CTC y el CCR en estadios II-IV. El primero estudió la asociación entre las CTC y la respuesta del tumor a la QT.⁶⁵ El subanálisis de 6 estudios realizados con el sistema CellSearch® con un total de 1.297 pacientes en diferentes

estadios tratados con QT reveló una peor SLE (HR=1.77, IC_{95%}=1.18-2.65, I²=90.2%) y SG (HR=2.45, IC_{95%}=1.48-4.05, I²=89.9%) en los pacientes con CTC detectables, pero existía una heterogeneidad muy alta entre los diferentes estudios incluidos. Los pacientes que pasaron de CTC bajas a CTC altas durante el tratamiento o que mantuvieron el número de CTC elevado tuvieron una enfermedad progresiva no favorable al compararlos con los pacientes en los que el número de CTC descendió (OR=39.00, IC_{95%}=2.93-518.84, n=1 estudio), con peor SLP (HR=2.10, IC_{95%}=1.11-3.70, I²=74%) y SG (HR=3.60, IC_{95%}=2.10-6.20, I²=52.9%), sugiriendo que las CTC podrían ser un predictor temprano de respuesta al tratamiento en pacientes con CCR tratados con QT. Ni la tasa de respuesta ni la tasa de control de la enfermedad eran significativamente más altas en los pacientes con un número de CTC por debajo del umbral establecido (RR=1.33, IC_{95%}=0.94-1.95, I²=22.5%; y RR=1.11, IC_{95%}=0.78-1.57, I²=74.6%, respectivamente). Cuando excluyeron a los pacientes sin enfermedad metastásica, la tasa de control de la enfermedad sí fue más alta en los pacientes con CTC bajos que en pacientes con el número de CTC por encima del umbral (RR=1.29, IC_{95%}=1.01-1.66, I²=42.4%).

El segundo meta-análisis del valor pronóstico de las CTC se centró solamente en los estudios que utilizaron la técnica CellSearch[®].⁶⁶ En total incluyeron 11 estudios con 1.847 pacientes en tratamiento con QT adyuvante en diferentes estadios de la enfermedad. La presencia de las CTC se asociaba tanto con una peor SLP (HR=1.80, IC_{95%}=1.52-2.13, I²=43.9%) como con una peor SG (HR=2.00, IC_{95%}=1.49-2.69, I²=67.1%). Solamente el uso del umbral de ≥ 3 CTC/7.5 ml, no de ≥ 1 o ≥ 2 CTC aportaba resultados estadísticamente significativos. La magnitud del efecto fue mayor para las determinaciones durante la QT que para las mediciones antes del inicio del tratamiento (SLP: HR=2.50, IC_{95%}=2.14-2.92, I²=0.0%; SG: HR=3.02, IC_{95%}=2.07-4.40, I²=61.6%). La heterogeneidad fue menor que en el estudio anterior, pero aun así fue alta. La tasa de respuesta a la QT adyuvante fue significativamente más baja en los pacientes con CTC detectables en el momento de entrada en el estudio (33% vs 39%; RR=0.79, IC_{95%}=0.63-0.99, I²=7.0%) y durante el tratamiento (17% vs 46%; RR=0.41, IC_{95%}=0.22-0.77, I²=0.0), indicando un posible potencial de las CTC como un predictor de la respuesta al tratamiento.

Tabla 4. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema CellSearch® en el cáncer colorrectal metastásico

Autor, Año	N	SLP _m (meses)		HR	P	SG _m (meses)		HR	P	Nivel de Evidencia
		<3 CTC	≥3 CTC			<3 CTC	≥3 CTC			
Aggarwal, 2013 (62)	217	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.5	0.053	3
Cohen, 2009 (61)	397	7.8	4.4	1.45	0.002	20.6	9.4	2.22	<0.001	3
Huang, 2014 (65) ^{1,2}	1297	-	-	1.773	0.006	-	-	2.45	<0.001	4
Huang, 2015 (66) ^{1,2}	1847	-	-	1.79	<0.01	-	-	1.66	<0.01	4
Sastre, 2012 (63)	180	12.0	7.8	1.63	0.030	25.5	17.7	1.52	0.064	2
Seeberg, 2015 (64) ⁴	194	ND	ND	2.93	<0.001	35.5	7.1	2.48	0.002	2

(1) meta-análisis; 2 umbral 1 CTC/7.5 ml; 3 incluye pacientes en estadios II-IV; 4 umbral 2 CTC/7.5 ml
 CTC: células tumorales circulantes; HR: hazard ratio; ND: no disponible; SLP_m: mediana de la supervivencia libre de progresión; SG_m: mediana de la supervivencia global

Cáncer de próstata

Cuatro estudios cumplieron los criterios de inclusión, tres estudios originales en pacientes con el CPHRm^{7,67} y un meta-análisis.⁶⁸

El ensayo multicéntrico IMMC38 de *de Bono et al.*⁷ de 231 pacientes con CPHRm iniciando una nueva línea de tratamiento, fue el primer estudio de gran tamaño que aportó evidencia sobre el papel de las CTC en el CP. Un número de CTC no favorable (≥ 5 CTC/7.5 ml) tanto antes del inicio del tratamiento como después de la QT fue asociado con una SG más corta (HR=1.81, IC_{95%}=1.10-2.97; y HR=4.40, IC_{95%}=2.43-7.97, respectivamente). El pronóstico de los pacientes con un descenso de las CTC mejoró, y empeoró en los pacientes con una conversión del número favorable a ≥ 5 CTC/7.5 ml.

*Scher et al.*⁶⁹ reanalizaron los datos de la cohorte IMMC387 con datos de seguimiento actualizados, buscando la mejor combinación de los predictores de supervivencia en los pacientes con CPHRm progresivo en tratamiento de primera línea. Las CTC eran un predictor de supervivencia independiente (HR=1.34, IC_{95%}=1.17-1.53). El mejor modelo pronóstico, valorado a través del estimador de la probabilidad de concordancia, que es una medida del nivel de concordancia entre el tiempo de supervivencia y el índice pronóstico basado en una combinación lineal de las covariables en el modelo de riesgos proporcionales de Cox (la probabilidad de que, en cualquier pareja de pacientes, el paciente con mejor pronóstico predicho mediante el modelo de regresión de Cox va a tener una supervivencia mayor) donde el valor 0.5 significa una ausencia de relación y el valor 1.0 una concordancia perfecta, incluyó el nivel basal de las CTC, la LDH basal y los llamados fold change de las CTC (el ratio de las CTC post-tratamiento y pre-tratamiento, es decir que indica por cuánto se multiplica el número de las CTC durante el tratamiento) a las 4, 8 y 12 semanas, pero no el PSA.

El estudio de cohortes prospectivo multicéntrico SWOG S0421, llevado a cabo por *Goldkorn et al.*⁶⁷, confirmó el valor de las CTC como factor pronóstico (SG: HR=2.74, IC_{95%}=1.72-4.37) en una población de tamaño y características parecidas a la cohorte de de Bono et al.⁷ y tratada uniformemente con docetaxel como tratamiento de primera línea. Un aumento en el número de las CTC entre el día 0 y 21 de tratamiento se asoció con una mayor mortalidad; una disminución de las CTC no tuvo un efecto estadísticamente significativo. También se encontró una asociación entre las CTC y la respuesta al tratamiento, tanto medida por los cambios en el PSA como por los criterios radiológicos RECIST.⁴⁸ Añadir la variable del número de CTC basal al modelo de regresión de Cox que incluía el PSA o el PSA y otras covariables clínicas aumentó la proporción de variabilidad a lo largo del seguimiento explicada por el modelo por un tercio.

Ma et al.⁶⁸ publicaron en 2014 un meta-análisis sobre el papel pronóstico de las CTC en los pacientes con CP. La presencia de las CTC se asoció con una mayor mortalidad (HR=2.36, IC_{95%}=1.95-2.85) en el subanálisis de 8 estudios con un total de 946 pacientes que utilizaron el sistema CellSearch®. La heterogeneidad fue muy alta, del 91%. También se encontraron diferencias significativas en la tasa de respuesta medida a través del PSA según la dinámica de cambios en el número de las CTC durante el seguimiento (p=0.02). Los autores incluyeron en el meta-análisis estudios con pacientes tanto en estadios localizados como metastásicos, lo que disminuye la validez de sus resultados.

Tabla 5. El papel pronóstico de las CTC determinadas por el sistema CellSearch® en el cáncer de próstata metastásico

Autor, Año	N	SLP _m (meses)		HR	P	SG _m (meses)		HR	P	Nivel de Evidencia
		<5 CTC	≥5 CTC			<5 CTC	≥5 CTC			
de Bono, 2008 (7)	231	ND	ND	ND	ND	21.7	11.5	1.81	0.019	3
Goldkorn, 2014 (67)	238	ND	ND	ND	ND	26	13	2.74	<0.001	2
Ma, 2014 (68) ¹	946	-	-	ND2	ND	-	-	2.36	<0.001	4
Scher 2009, (69) ³	156	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.34	<0.001	3

(1) meta-análisis que incluye también algunos estudios de cáncer de próstata no metastásico

(2) la revisión sistemática encontró un estudio que valoró la SLP bioquímica, pero solo tenía 80 pacientes, con lo que no cumple los criterios de inclusión

(3) actualización del estudio de de Bono et al.

CTC: células tumorales circulantes; HR: hazard ratio; ND: no disponible; SLPm: mediana de la supervivencia libre de progresión; SGm: mediana

Precisión pronóstica de la determinación de las CTC

Se encontraron cuatro estudios que evaluaron la precisión pronóstica de la determinación de las CTC en el CP.

De Bono et al.⁷ compararon la capacidad para predecir la supervivencia a los 12 meses del sistema CellSearch® con la del PSA en pacientes con CPHRm. La precisión pronóstica de la prueba basal fue baja (sensibilidad (Se)=38.9%, IC_{95%}=30.2-48.3; especificidad (Sp)=25.2, IC_{95%}=18.1-34.0; valor predictivo positivo (VPP)=33.6%, IC_{95%}=25.9-42.3, valor predictivo negativo (VPN)=29.8%, IC_{95%}=21.5-39.7; calculado de los datos proporcionados por los autores en el artículo), pero la enumeración de las CTC a las 9-12 semanas después del tratamiento tuvo un poder de predicción superior al del PSA (área bajo la curva, AUC_{CTC}=81.5%, IC_{95%}=74-89%; AUC_{PSA}=67.5%, IC_{95%}=58-77%; p=0.0218).

En un estudio de una población heterogénea de 75 pacientes con CP de **Thalgott et al.**⁷⁰ el umbral de 3 CTC/7.5 ml era el más exacto para la predicción de la supervivencia (Se=87%, Sp=67%, AUC=0.78, IC_{95%}=0.6-0.9).

En un estudio multicéntrico de 238 pacientes con CPHRm de **Gol-dkorn et al.**⁶⁷, la capacidad predictiva de la supervivencia a los dos años de las CTC también resultó mejor que la del PSA (AUC_{CTC}=0.781, AUC_{PSA}=0.655).

Otro estudio de **Thalgott et al.**⁷¹ del año 2015 comparaba la capacidad pronóstica de las CTC, las técnicas de imagen (valoradas según los criterios RECIST⁷²) y los criterios de “respuesta objetiva” (PSA, LDH, FFAA y escáner óseo) en diferentes puntos del tratamiento de pacientes con CPHRm con docetaxel. El descenso de las CTC tenía una mayor capacidad de predicción de la muerte a los 12 meses que la reducción del PSA ≥50% después del primer ciclo de tratamiento (AUC_{CTC}=79.5%, AUC_{PSA}=55.0%) y también que los criterios RECIST y la respuesta clínica después del cuarto ciclo (AUC_{CTC}=76.7%, AUC_{PSA}=37.2%, AUC_{RECIST}=72.2%, AUC_{resp.clin.}=75.0%).

Utilidad clínica de la determinación de las CTC

Cáncer de mama

Un solo estudio valoró la utilidad clínica de la determinación de las CTC. El ya mencionado ensayo clínico aleatorizado SWOG S0500 de **Smerage et al.**⁴¹ empleó la información sobre los cambios en el número de CTC para dirigir el tratamiento. Las pacientes del brazo de alto riesgo (≥5 CTC/7.5 ml antes y después del primer ciclo de QT de primera línea) fueron aleatorizadas para mantener o cambiar el tratamiento de primera línea con la hipótesis de que un cambio de QT basado en una medición temprana de

no respuesta a través de las CTC a las 3-4 semanas en lugar de esperar a la evaluación de la respuesta con técnicas de imagen tradicionales (que suele valorarse como muy pronto a las 8-12 semanas desde el inicio del tratamiento) podría mejorar la supervivencia. Los autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la SG. El tamaño muestral era suficiente para detectar un aumento de SG del 70%, pero no tenía el poder estadístico necesario para detectar un beneficio más modesto o diferencias en la SLP.

Cáncer colorrectal

No se encontraron estudios que valoraran el impacto clínico de la determinación de las CTC en el CCR.

Cáncer de próstata

No se encontraron estudios que valoraran el impacto clínico de la determinación de las CTC en el CP.

Variabilidad interplataformas CellSearch® – IsoFlux™ System

No se encontraron estudios que estudiaran la variabilidad interplataformas entre los sistemas CellSearch® e IsoFlux™ System.

Biopsias líquidas en sangre

Validez analítica de la determinación de las mutaciones en el ADNtp

Higgins et al.⁷³ realizaron un estudio para la determinación de las mutaciones del gen PIK3CA en CMm mediante la técnica BEAMing Digital PCR. En este estudio primero realizaron un análisis retrospectivo de las muestras de sangre y tejido del tumor primario (n=45) o de las biopsias de las lesiones metastásicas (n=4) recogidas el mismo día en 49 pacientes alemanas para ver la concordancia entre la presencia de la mutación en la metástasis (mediante PCR) y en el ADNtp (mediante BEAMing Digital PCR). La concordancia entre las dos técnicas fue del 100% ($\kappa=1.0$). Posteriormente reclutaron de manera prospectiva una serie de 51 mujeres estadounidenses con CM recurrente con evidencia de metástasis a distancia y estudiaron la viabilidad de

la determinación de las mutaciones en el ADNtp en una muestra de sangre recogida en el momento de la entrada en el estudio y su comparación con el tejido tumoral primario recuperado de las láminas archivadas, recogido meses o años antes de la entrada en el estudio. Aquí la concordancia fue peor, hubo 14 resultados discordantes de las 51 comparaciones (27.5%; $\kappa=0.48$, $IC_{95\%}=0.22-0.74$); en todos ellos habían pasado más de 3 años entre la biopsia y la recogida de la muestra de sangre. Los autores decidieron analizar los tejidos tumorales también mediante el BEAMing Digital PCR, y la concordancia con los resultados obtenidos en los tejidos tumorales mediante secuenciación estándar fue del 100% ($\kappa=1.0$).

El mismo equipo de investigación, liderado por *Beaver*⁷⁴, utilizó la técnica de ddPCRTM para determinar la exactitud de la detección del gen PIK3CA en las muestras de sangre recogidas antes y después de la cirugía en comparación con la detección en el tejido tumoral primario fijado en formol y embebido en parafina (FFPE, analizado mediante la secuenciación de Sanger) en un estudio de viabilidad prospectivo de 29 pacientes con CM en estadios I-III. La ddPCRTM en las muestras de sangre prequirúrgicas tuvo una Se del 93.3% ($IC_{95\%}=75.5-93.3\%$), Sp del 100% ($IC_{95\%}=82.2-100.0\%$) y un AG del 96.7% ($IC_{95\%}=78.9-96.7\%$). Cinco de las 10 pacientes con mutaciones en PIK3CA detectadas en las muestras prequirúrgicas y que tuvieron una segunda muestra de sangre tuvieron ADNtp detectable después de la cirugía, y después de 26 meses de seguimiento una de las cinco pacientes había tenido una recurrencia.

*Gevensleben et al.*⁷⁵ utilizaron la técnica de ddPCRTM para la detección de la amplificación del gen HER2 en una serie consecutiva prospectiva con enmascaramiento de pacientes con CMm de progresión reciente tras un tratamiento previo. La prueba de referencia se realizó mediante la prueba Hercept o FISH/SISH en el tejido tumoral procedente de la lesión metastásica o del tumor primario. El equipo desarrolló su propio ensayo para HER2:EFTUD2 que testó en una cohorte de desarrollo de 65 pacientes y validó en una cohorte de 58 pacientes. La prueba tuvo una Se del 64%, Sp del 94%, VPP del 70% y VPN del 92%.

Valor pronóstico de la determinación de las mutaciones en el ADNtp

No se encontraron estudios que evaluaran el valor pronóstico de la determinación de las mutaciones en el ADNtp en el CM, CCR o CP.

Utilidad clínica de la determinación de las mutaciones en el ADNtp

No se encontraron estudios de impacto clínico de la determinación de las mutaciones en el ADNtp en el CM, CCR o CP.

Variabilidad interplataformas BEAMing Digital PCR – Droplet Digital™ PCR System

No se encontraron estudios que estudiarían la variabilidad entre los sistemas BEAMing Digital PCR y ddPCR™.

Discusión

Células tumorales circulantes

La investigación de una nueva prueba pronóstica pasa por varias fases, desde la demostración de una asociación entre el resultado de la prueba y un resultado en salud clínicamente importante y su validación clínica prospectiva, pasando por la demostración del valor pronóstico incremental (¿Qué añade un nuevo factor pronóstico a los factores ya conocidos y utilizados en la práctica clínica?) hasta los estudios de su utilidad clínica en términos de mejora de los resultados en salud y terminando en estudios de coste-efectividad.³⁴ La determinación de las células tumorales circulantes es una prueba relativamente reciente, y la mayoría de los estudios encontrados se centra en la prueba de concepto.

La selección de las técnicas a estudiar en esta revisión sistemática se hizo basándose en las tecnologías que actualmente están disponibles en algunos hospitales españoles, pero todos los estudios incluidos utilizaron el sistema CellSearch®.

Cáncer de mama

Se encontraron numerosos estudios sobre el papel de las CTC en el CM. Debido a las deficiencias metodológicas de los estudios de Franken⁸ y Rack⁹ – ambos incluyeron pacientes en todos los estadios de la enfermedad no metastásica y el seguimiento fue relativamente corto – la literatura científica actualmente no apoya el uso de la prueba CellSearch® en el CM localizado para la estratificación del riesgo. La precisión pronóstica de la prueba CellSearch® para la predicción de una recurrencia metastásica en pacientes con CM en estadios II-III tratadas con QT neoadyuvante tampoco fue satisfactoria: se demostró una Sp y VPN altos, pero la Se y VPP fueron bajos.⁴⁰

Existe sin embargo amplia evidencia, procedente de estudios de cohortes de buena calidad (prospectivos, multicéntricos, enmascarados, con validación tanto interna como externa), sobre la asociación entre la presencia de las CTC detectadas por la técnica CellSearch® y un peor pronóstico en las pacientes con CMm.

El análisis combinado de Bidard et al.⁵⁹ además demostró que, a diferencia de los biomarcadores clásicos CEA y CA 15-3, añadir los resultados

de la prueba CellSearch® en varios puntos del seguimiento al modelo clínico-patológico aportó información pronóstica adicional. Estos resultados sugieren que en el futuro las CTC quizás podrían remplazar a estos biomarcadores. Pierga et al.⁴³ y Bidard et al.⁴⁴ diseñaron una cohorte específicamente para comparar el valor pronóstico de las CTC con los demás biomarcadores séricos clásicos (CEA, CA 15-3, LDH, FFAA, CYFRA 21-1) y no encontraron una superioridad clara de ninguno de ellos. Cristofanilli et al. encontraron una asociación de la SG con las CTC, pero no con el biomarcador sérico CA 27-29.⁵⁰

Varios autores estudiaron la posibilidad de emplear las CTC como un predictor de respuesta al tratamiento mediante la comparación de subgrupos de pacientes con tumores de diferentes características inmunohistoquímicas (RRHH, HER2, etc.) y que recibían diferentes tratamientos. Algunos autores encontraron que las CTC tenían un valor pronóstico reducido en el subgrupo de pacientes con tumores HER2^(5,53,54,58), especialmente en las pacientes tratadas con trastuzumab.⁴⁵ Se especula que las terapias dirigidas anti-HER2 podrían eliminar selectivamente las CTC, probablemente mediante la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, o disminuir la liberación de las CTC, mejorando así la supervivencia. Otros estudios, sin embargo, no confirmaron esta hipótesis.^{46,57,59}

No hay consenso general sobre el mejor momento de realizar la prueba. Mientras la mayoría de los estudios determinaba las CTC antes del inicio de una nueva línea de tratamiento, algunos autores sugirieron que los valores de CTC después de uno o varios ciclos de QT podrían tener mayor valor pronóstico, reflejando en cierto modo la respuesta del organismo al tratamiento.⁴⁷

En cuanto al uso de la técnica CellSearch® en mediciones seriadas durante el seguimiento del paciente, la evidencia sobre su utilidad es contradictoria. El único estudio de la utilidad clínica de la determinación de las CTC no demostró beneficios en términos de mejor supervivencia de un cambio de tratamiento, indicado por la detección temprana de la no respuesta al tratamiento de primera línea mediante la prueba CellSearch®.⁴¹ El estudio ha sido criticado por su baja potencia para detectar diferencias significativas en la SG.⁽⁷⁶⁾

Cáncer colorrectal

No se encontró evidencia científica que apoyase el uso de la determinación de las CTC en el CCR no metastásico: los resultados de Bork et al.⁴ no son fiables por la heterogeneidad de la población incluida (estadios I-IV) y Sotelo et al.²² no encontraron asociación entre las CTC y la supervivencia.

En comparación con la situación en el CMm, la evidencia para el uso de la prueba CellSearch® en el CCRm es relativamente escasa. Se encontraron dos estudios de nivel 2; uno de ellos demostró que las CTC eran un factor predictor independiente de la SG.⁶³ El segundo estudio de Seeberg et al. encontró una asociación entre el número de las CTC y la supervivencia en una cohorte relativamente homogénea de pacientes con CCRm y metástasis hepáticas indicadas para resección quirúrgica.⁶⁴

Los resultados de la cohorte de Cohen et al.⁶⁶¹ apoyan estos hallazgos. Los autores también compararon el comportamiento de las CTC con el biomarcador sérico CEA: en su análisis, solo las CTC se mantuvieron como un predictor pronóstico independiente, pero combinar la información de las CTC con la del CEA aportaba información pronóstica adicional superior a la del uso de cada uno de los marcadores por separado.⁶²

La calidad metodológica de los dos meta-análisis incluidos de Huang et al.^{65,66} fue baja: los autores incluyeron pacientes tanto con la enfermedad metastásica como en estadios localizados, y la heterogeneidad entre los estudios fue en general alta o muy alta.

No se detectaron estudios de utilidad clínica de la determinación de las CTC en el CCR.

Cáncer de próstata

La evidencia sobre la asociación entre los niveles de CTC y la SG fue aportada por dos cohortes de pacientes con CPHRm: IMMC38^{7,69} y SWOG S0421.⁶⁷

Los autores de ambos estudios realizaron también un estudio de la validez incremental de la prueba CellSearch®, y encontraron que añadir la información sobre las CTC al modelo matemático aportaba información pronóstica adicional. Los resultados del análisis de Scher et al.⁶⁹ en la cohorte IMMC38 además sugirieron que las CTC podrían ser una medida más robusta que el PSA como un resultado intermedio de progresión en ensayos clínicos. Los cuatro estudios de precisión pronóstica también demostraron que la capacidad pronóstica de la prueba CellSearch® era superior a la del PSA.^{7,67,70,71}

El meta-análisis de Ma et al.⁶⁸ confirmó la asociación entre las CTC y la supervivencia, pero su fiabilidad es baja dado el amplio espectro de pacientes incluidos (estadios I-IV, sin información sobre la resistencia al tratamiento) y la heterogeneidad muy alta.

Ningún estudio realizó una validación externa de su modelo pronóstico. Tampoco se encontraron estudios sobre la utilidad clínica de la determinación de las CTC en el CP.

Biopsias líquidas en sangre

La información sobre la determinación de las mutaciones en el ADNtp publicada en las revistas científicas es aún escasa. Los estudios incluidos en esta revisión se centraron únicamente en la validez analítica de la prueba, comparando los resultados de la biopsia líquida con la detección de las mutaciones en las muestras del tejido tumoral; los autores no informaron sobre su valor pronóstico ni su utilidad clínica.

El estudio de factibilidad de Higgins et al.⁷³ demostró una excelente concordancia (del 100%) entre los resultados de la prueba BEAMing PCR en sangre para la detección de la mutación del gen PIK3CA en pacientes con CM y la PCR en el tejido tumoral recogido el mismo día, pero había un 28% de discordancias cuando se comparaba la biopsia líquida de las pacientes con CMm con los resultados en las muestras de tejido tumoral primario recogidas años atrás. Este hallazgo demuestra el problema frecuente de la falta de disponibilidad de muestras de tejido del tumor primario de buena calidad para su análisis posterior. El estado mutacional de los tumores, sin embargo, podría haber cambiado en el tiempo entre el diagnóstico primario y la detección de la recurrencia.

La prueba ddPCRTM también tuvo una muy buena validez analítica para la detección de las mutaciones del gen PIK3CA en las muestras de sangre recogidas antes de la extirpación del tumor primario en pacientes con CM en estadios tempranos, con un AG del 97% en comparación con la secuenciación de Sanger del tejido tumoral primario FFPE en el estudio de Beaver et al.⁷⁴ Se trataba sin embargo de un estudio de factibilidad en una muestra pequeña de 29 pacientes. Los resultados de la ddPCRTM fueron peores cuando se comparaba la detección de la amplificación del gen HER2 mediante las biopsias líquidas en muestras de pacientes con CMm de progresión reciente con los resultados encontrados en el tejido tumoral primario, con un VPP del 70% y VPN del 92%.⁷⁵

Conclusiones

Mediante la revisión sistemática se encontraron estudios de moderada calidad sobre el valor pronóstico de la determinación de las CTC en el CMm, CCRm y CPHRm, y de moderada calidad sobre la utilidad clínica de la determinación de las CTC en el CMm mediante el sistema CellSearch®. Se encontraron estudios de baja/moderada calidad sobre la validez analítica de la determinación de las mutaciones en el ADNtp (biopsias líquidas) en el CM mediante los sistemas BEAMing Digital PCR y Droplet Digital™ PCR System.

La evidencia encontrada no permite recomendar el uso de la determinación de las CTC en el CM localizado. Se encontró evidencia de que las CTC tienen valor pronóstico en el CMm. Como sugieren Beije et al.⁷⁷, la prueba podría utilizarse en determinados casos, por ejemplo en pacientes con enfermedad difícilmente evaluable por otros medios, para la valoración de la actividad tumoral o la respuesta al tratamiento; o como un resultado sustitutivo temprano en ensayos clínicos. Sin embargo, no hay evidencia de que el uso de la determinación de las CTC mediante la técnica CellSearch® mejoraría los resultados en las pacientes con CMm. Los datos actualmente disponibles no apoyan el uso de la técnica para guiar las decisiones terapéuticas. Estas conclusiones están en línea con las recomendaciones recientes de las sociedades científicas de oncología.^{19,78} Se necesitan estudios prospectivos y con una potencia estadística suficiente sobre la validez incremental de la prueba, sobre su utilidad clínica y su coste-efectividad.

Se encontró evidencia sobre la asociación de las CTC con la supervivencia en el CCRm y parece que, en combinación con la información sobre los niveles del CEA, la técnica CellSearch® podría aportar información pronóstica adicional en los pacientes con CCRm. Los datos actualmente disponibles, sin embargo, no permiten recomendar su uso para la estratificación de riesgo ni para guiar las decisiones terapéuticas en la práctica clínica ya que no se encontraron estudios de utilidad clínica de la prueba en el CCR. Se necesitan modelos pronósticos validados externamente y estudios prospectivos sobre la validez incremental de la prueba, su utilidad clínica y su coste-efectividad.

Se encontró evidencia de que la determinación de las CTC mediante la prueba CellSearch® en pacientes con CPHRm podría aportar información pronóstica adicional, pero no se encontraron estudios del impacto clínico de la prueba sobre la salud de los pacientes, así que no se puede recomendar su uso para la estratificación de riesgo ni para guiar las decisiones terapéuticas en la práctica clínica. Se necesitan modelos pronósticos validados externamente y estudios prospectivos sobre su utilidad clínica y su coste-efectividad.

Se necesitan estudios prospectivos de la efectividad de las biopsias líquidas de mayor calidad, con un número de participantes elevado. También se necesitan estudios sobre su valor pronóstico, su utilidad clínica y estudios de evaluaciones económicas.

Anexos

Anexo 1. Estrategia de la búsqueda bibliográfica

EMBASE – CIRCULATING TUMOR CELLS		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	'circulating tumor cell'/exp	3922
#2	veridex	565
#3	cellsearch	969
#4	isoflux	15
#5	'circulating endothelial cells'	1121
#6	'breast cancer'/mj	162 981
#7	'prostate cancer'/mj	74 635
#8	'colorectal cancer'/mj	53 180
#9	#1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5	5414
#10	#6 OR #7 OR #8	287 937
#11	#9 AND #10	1363
#12	#11 AND ([conference abstract]/lim OR [conference paper]/lim OR [conference review]/lim OR [editorial]/lim OR [letter]/lim OR [note]/lim OR [short survey]/lim)	714
#13	#11 NOT #12	649
#14	#13 AND [english]/lim AND [humans]/lim AND [2000-2015]/py	608

EMBASE – CIRCULATING TUMOR STEM CELLS		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	'circulating tumor stem cells'	12
#2	'breast cancer'/mj	162 981
#3	'prostate cancer'/mj	74 635
#4	'colorectal cancer'/mj	53 180
#5	#2 OR #3 OR #4	287 937
#6	#1 AND #5	2
#7	#6 AND ([conference abstract]/lim OR [conference paper]/lim OR [conference review]/lim OR [editorial]/lim OR [letter]/lim OR [note]/lim OR [short survey]/lim)	0
#8	#6 NOT #7	2
#9	#8 AND [english]/lim AND [humans]/lim AND [2000-2015]/py	2

EMBASE – LIQUID BIOPSY

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	'liquid biopsy'	292
#2	biorad	3030
#3	'bio-rad'	2850
#4	beaming	155
#5	sysmex	2342
#6	'droplet digital'	258
#7	ddpcr	251
#8	'circulating tumor dna'	269
#9	'free circulating tumor dna'	29
#10	'free circulating dna'	175
#11	cfdna	525
#12	'breast cancer'/mj	162 981
#13	'prostate cancer'/mj	74 635
#14	'colorectal cancer'/mj	53 180
#15	#1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR #11	9375
#16	#12 #13 OR #14	287 661
#17	#15 AND #16	370
#18	#18 AND ((conference abstract)/lim OR [conference paper]/lim OR [conference review]/lim OR [editorial]/lim OR [letter]/lim OR [note]/lim OR [short survey]/lim)	173
#19	#18 NOT #19	197
#20	#20 AND [english]/lim AND [humans]/lim AND [2000-2015]/py	175

PUBMED – CIRCULATING TUMOR CELLS		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	"Neoplastic Cells, Circulating"[Mesh]	7118
#2	veridex	95
#3	cellsearch	343
#4	"cell search"	21
#5	isoflux	11
#6	fluxion	32
#7	"circulating endothelial cells"	8239
#8	"Breast Neoplasms"[Majr]	187 453
#9	"Prostatic Neoplasms"[Majr]	82 575
#10	"Colorectal Neoplasms"[Majr]	126 611
#11	#1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7	15 388
#12	#8 OR #9 OR #10	391 832
#13	#11 AND #12	1853
#14	#13 AND (((("bibliography"[Publication Type]) OR "clinical conference"[Publication Type]) OR "editorial"[Publication Type]) OR "historical article"[Publication Type]) OR "interview"[Publication Type]) OR "legal cases"[Publication Type]) OR (((("legislation"[Publication Type]) OR "letter"[Publication Type]) OR "news"[Publication Type])	119
#15	#13 NOT #14	1734
#16	Animals[Mesh:noexp]	5 418 871
#17	#15 NOT #16	1511
#18	#17 AND ((english[Language]) AND ("2000/05/31"[Date - Publication] : "2015/05/31"[Date - Publication]))	1123

PUBMED – CIRCULATING TUMOR STEM CELLS		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	"circulating tumor stem cells"	1316
#2	"Neoplastic Stem Cells"[Majr]	8096
#3	circulating[Title/Abstract]	152 210
#4	"Breast Neoplasms"[Majr]	187 453
#5	"Prostatic Neoplasms"[Majr]	82 575
#6	"Colorectal Neoplasms"[Majr]	126 611
#7	#1 OR (#2 AND #3)	1316
#8	#4 OR #5 OR #6	391 832
#9	#8 AND #9	203
#10	#9 AND ((((((("bibliography"[Publication Type]) OR "clinical conference"[Publication Type]) OR "editorial"[Publication Type]) OR "historical article"[Publication Type]) OR "interview"[Publication Type]) OR "legal cases"[Publication Type]) OR (((("legislation"[Publication Type]) OR "letter"[Publication Type]) OR "news"[Publication Type])	7
#11	#9 NOT #10	196
#12	Animals[Mesh:noexp]	5 418 871
#13	#11 NOT #12	156
#14	#13 AND ((english[Language]) AND ("2000/05/31"[Date - Publication] : "2015/05/31"[Date - Publication])	117

PUBMED – LIQUID BIOPSY		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	"liquid biopsy"	129
#2	"blood biopsy"	5
#3	biorad OR bio-rad	1548
#4	Droplet Digital	379
#5	ddPCR	148
#6	#4 OR #5	431
#7	sysmex	795
#8	beaming	134
#9	free circulating tumor dna	635
#10	circulating tumor dna	3018
#11	free circulating dna	1336
#12	cfDNA	253
#13	"Breast Neoplasms"[Majr]	188 116
#14	"Prostatic Neoplasms"[Majr]	82 904
#15	"Colorectal Neoplasms"[Majr]	127 081
#16	"Tumor Markers, Biological "[Mesh]	188 055
#17	#1 OR #2 OR #3 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR #11 OR #12	6801
#18	#13 OR #14 OR #15	393 284
#19	#16 AND #17 AND 18	303
#20	#19 AND (((("bibliography"[Publication Type]) OR "clinical conference"[Publication Type]) OR "editorial"[Publication Type]) OR "historical article"[Publication Type]) OR "interview"[Publication Type]) OR "legal cases"[Publication Type]) OR (((("legislation"[Publication Type]) OR "letter"[Publication Type]) OR "news"[Publication Type])	6
#21	#19 NOT #20	297
#22	Animals[Mesh:noexp]	5 429 140
#23	#21 NOT #22	279
#24	#23 AND ((english[Language])	268
#25	#24 AND ("2000/05/31"[Date - Publication] : "2015/05/31"[Date - Publication])	237

BIBLIOTECA COCHRANE PLUS – CIRCULATING TUMOR CELLS

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	circulating tumor cells(ta)	192
#2	Neoplastic Cells, Circulating (Mesh descriptor)	52

BIBLIOTECA COCHRANE PLUS – CIRCULATING TUMOR STEM CELLS

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	circulating tumor stem cells(ta)	7

BIBLIOTECA COCHRANE PLUS – LIQUID BIOPSY

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	liquid biopsy(ta)	72
#2	free circulating dna(ta)	21
#3	circulating tumor dna(ta)	11
#4	free circulating tumor dna(ta)	7
#5	Droplet Digital(ta)	1
#6	BEAMing(ta)	0

**CRD DATABASE (INCLUYE ANTIGUAS BASES DE DATOS DARE Y NHS EED)
– CIRCULATING TUMOR CELLS**

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	circulating tumor cells	17
#2	Neoplastic Cells, Circulating (Mesh descriptor)	24

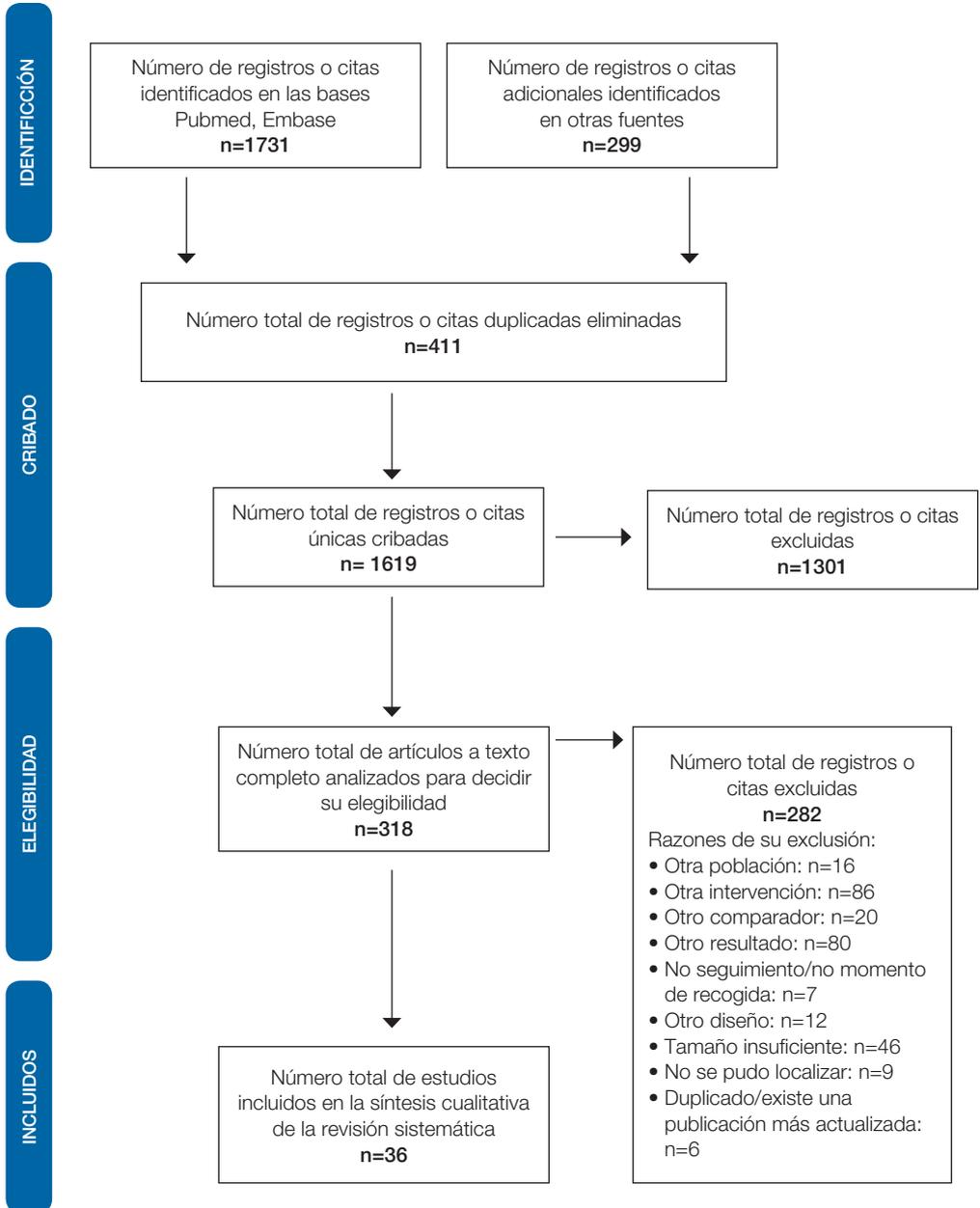
CRD DATABASE – CIRCULATING TUMOR STEM CELLS

Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	circulating tumor stem cells	0

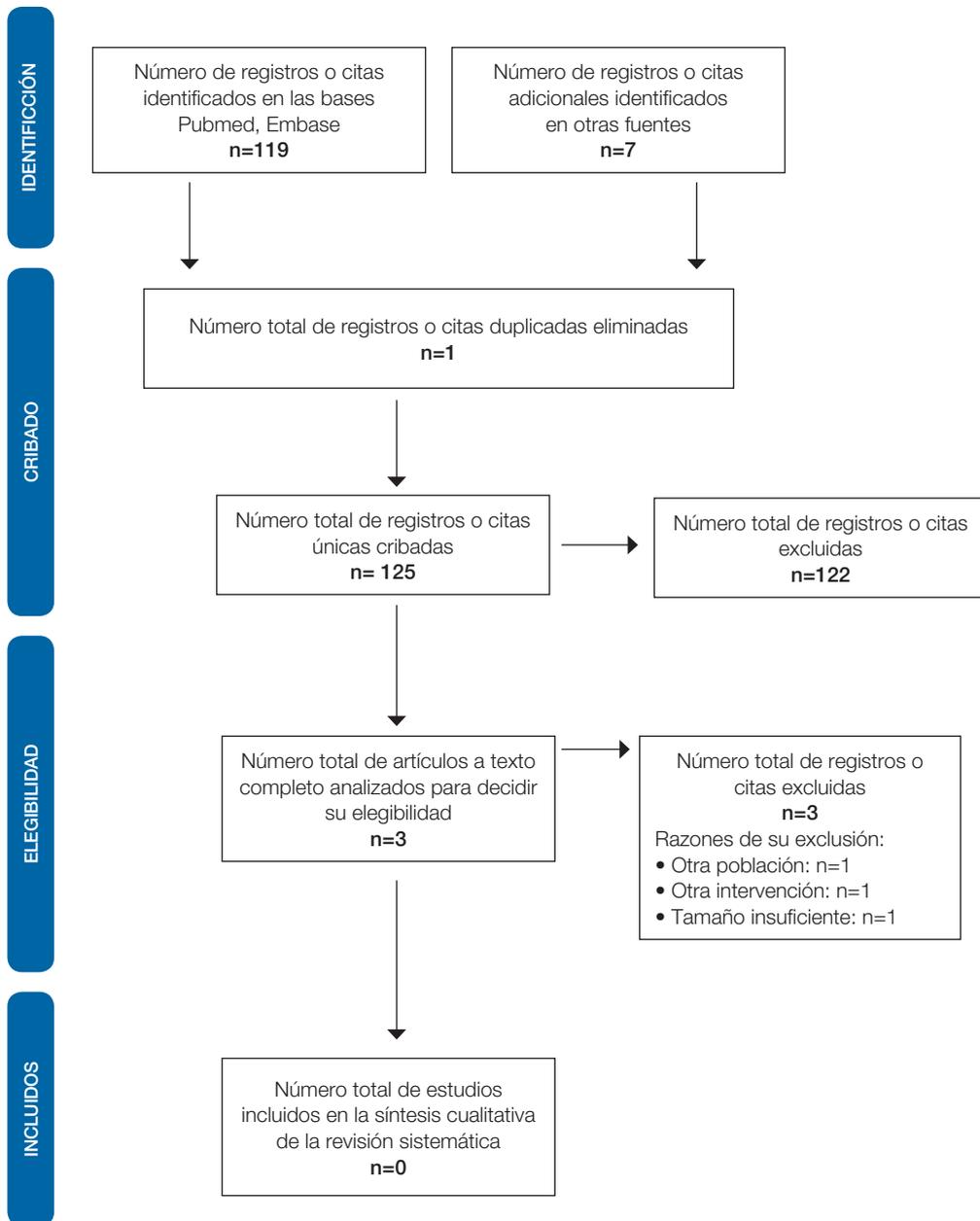
CRD DATABASE – LIQUID BIOPSY		
Búsqueda	Pregunta	Resultado
#1	liquid biopsy(ta)	0
#2	free circulating dna(ta)	0
#3	circulating tumor dna(ta)	0
#4	free circulating tumor dna(ta)	0
#5	Droplet Digital	0

Anexo 2. Diagrama de flujo PRISMA 2009

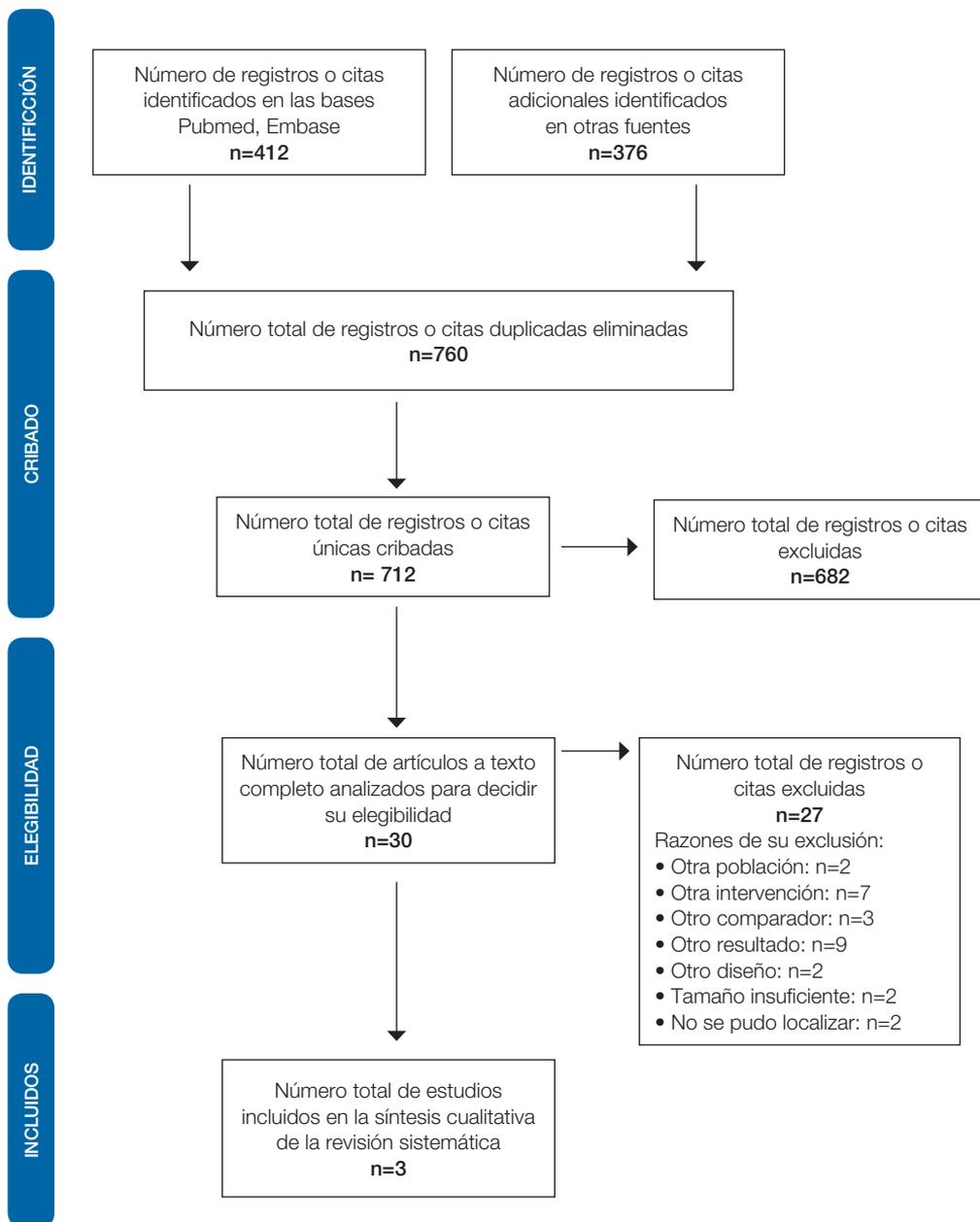
Células tumorales circulantes



Células tumorales stem circulantes



Biopsias líquidas en sangre



Anexo 3. Nivel de calidad de la evidencia científica del Centro de Medicina Basada en Evidencia de Oxford (2011).³⁷

Pregunta	Paso 1 (Nivel 1*)	Paso 2 (Nivel 2*)	Paso 3 (Nivel 3*)	Paso 4 (Nivel 4*)	Paso 5 (Nivel 5*)
¿Cómo de común es el problema?	Encuestas locales y actuales con muestras aleatorias (o censos)	RS de encuestas que coincidan con las circunstancias locales	Muestra local no aleatoria	Serie de casos	ND
¿Es preciso el test diagnóstico o de monitorización? (Diagnóstico)	RS de estudios transversales con estándar de referencia aplicado de forma consistente y con enmascaramiento	Estudios individuales transversales con estándar de referencia aplicado de forma consistente y con enmascaramiento	Estudios no consecutivos, estudios sin un estándar de referencia aplicado de forma consistente	Estudios de casos-contrroles o estándar de referencia pobre o no independiente	Opinión de expertos o mecanismos de consenso
¿Qué pasaría si no se añade un tratamiento? (Pronóstico)	RS de estudios de cohortes de inicio	Estudios de cohortes de inicio	Estudios de cohortes o el brazo control de un ECA	Estudios de casos-contrroles o estudios de cohortes pronósticos de pobre calidad	ND
Ayuda esta intervención? (Beneficios del tratamiento)	RS de ECA o ensayos n-de-1	ECA o estudios observacionales con un efecto importante	Estudios de cohortes con seguimiento controlado sin asignación aleatoria	Serie de casos, estudios de casos-contrroles, o estudios retrospectivos controlados	Opinión de expertos o mecanismos de consenso
¿Cuáles son los efectos adversos comunes? (Efectos adversos del tratamiento)	RS de ECA, RS de estudios de casos-contrroles anidados, ensayos n-de-1 con el paciente sobre el que está planteando la pregunta, o estudio observacional con un efecto dramático	ECA individual o (excepcionalmente) estudios observacionales con un efecto importante	Estudios de cohortes controlados (post-comercialización) con un tamaño muestral suficiente para descartar un efecto adverso común. (Para los daños a largo plazo, la duración del seguimiento debe ser suficiente)	Serie de casos, estudios de casos-contrroles, o estudios retrospectivos controlados	Opinión de expertos o mecanismos de consenso
¿Cuáles son los efectos adversos raros? (Efectos adversos del tratamiento)	RS de ECA o ensayo n-de-1	ECA o (excepcionalmente) estudios observacionales con un efecto importante			
¿Es útil esta prueba de detección temprana? (Cribado)	RS de ECA	ECA	Estudios de cohortes con seguimiento controlado		Opinión de expertos o mecanismos de consenso

(1) *El nivel de evidencia podrá bajarse en base a la calidad del estudio, de las imprecisiones, del carácter indirecto de la evidencia, inconsistencia entre los estudios, o porque el tamaño del efecto absoluto es muy pequeño; y el nivel de evidencia podrá aumentarse si hay un tamaño de efecto grande o muy grande.
ECA - ensayo clínico aleatorizado, ND – no disponible, RS – revisión sistemática

Anexo 4. Tablas de evidencia científica: Características de los estudios incluidos

Células tumorales circulantes

Cáncer de mama

Estudio	Bidard, 2010 ⁴⁰
Diseño del estudio	Diseño: ECA, multicéntrico (estudio REMAGUS 02) Doble ciego Aleatorizado para recibir tratamiento Localización geográfica: Francia Nº pacientes: 115 Técnica: CellSearch® Comparador: Radiodiagnóstico (criterios de Le Chevallier ⁷²) Momento determinación CTC: Antes y después de la QT neoadyuvante
Objetivos del estudio	Estudiar si la detección de CTC tiene un impacto pronóstico en las pacientes en tratamiento con QT neoadyuvante y determinar las características de la prueba de detección de CTC para la predicción del resultado metastásico a nivel individual
Características de los pacientes	Edad: 36% > 50 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: Estadio II-III, mujer, ≥18 y <65 años, QT neoadyuvante, no candidatas para cirugía conservadora Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: 4 ciclos epirubicina + ciclofosfamida cada 3 semanas, después aleatorización para recibir 4 ciclos de docetaxel con o sin trastuzumab. Cirugía. RT local y regional adyuvante si indicada. Todas las pacientes HER2+ recibieron trastuzumab durante 1 año, todas las pacientes con tumores RRHH+ recibieron tamoxifeno adyuvante o inhibidores de aromatasas. Tiempo de seguimiento: Mediana 36.4 meses Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	Precisión pronóstica (recurrencia metastásica): <u>≥1 CTC/7.5 ml pre-QT:</u> Se=55%, Sp=81%, VPP=27%, VP=91%, AG=77%. <u>≥1 CTC/7.5 ml post-QT:</u> Se=36%, Sp=85%, VPP=26%, VP=90%, AG=79%. <u>≥1 CTC/7.5 ml pre- y/o post-QT:</u> Se=40%, Sp=93%, VPP=25%, VP=93%, AG=74%.
Calidad del estudio	Nivel 3

Estudio	Bidard, 2014 ⁵⁹	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte retrospectiva, multicéntrico (análisis combinado) Doble ciego Localización geográfica: Europa Nº pacientes: 1944 (publicados en unos 20 estudios) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Basal, a las 3-5, 6-8 y 13-20 semanas del inicio del tratamiento	
Objetivos del estudio	Determinar la contribución de las CTC al modelo pronóstico basado en los factores pronósticos clínico-patológicos y biomarcadores séricos	
Características de los pacientes	Edad: 34.8% ≥65 años Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm, empezando nueva línea de tratamiento, disponibilidad de datos de SLP o SG, aprobado por el comité de ética, cuantificación a través de CellSearch®, reclutamiento desde 01/2003, estudio terminado antes de 07/2012 Criterios exclusión: Información sobre las CTC conocida por los médicos (para que no influyera en la selección del tratamiento) Tratamiento recibido: Elegido por los médicos (QT 80.0%, tratamiento hormonal 14.1%, tratamiento dirigido anti-HER2 19.5%, bevacizumab 20.6%, otro tratamiento dirigido 2.2%, desconocido 4.5%) Tiempo de seguimiento: Mediana 23 meses (IQR: 13-42) Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SLP: <u>CTC basal:</u> SLPm 6.5 (IC _{95%} =5.9-7.0) meses vs 11.4 (IC _{95%} =10.6-12.1) meses HR=1.92 (IC _{95%} =1.73-2.14), p<0.0001 <u>CTC a 3-5 semanas (n=672):</u> HR=1.85 (IC _{95%} =1.48-2.32), p<0.0001 <u>CTC a 6-8 semanas (n=432):</u> HR=2.20 (IC _{95%} =1.66-2.90), p<0.0001 <u>Cambios CTC basal → 3-5 semanas:</u> <5 → <5 CTC: SLPm 10.7 (IC _{95%} =9.7-12.7) meses ≥5 → <5 CTC: SLPm 9.6 (IC _{95%} =8.2-11.1) meses <5 → ≥5 CTC: SLPm 6.7 (IC _{95%} =1.8-no valorable) meses ≥5 → ≥5 CTC: SLPm 4.8 (IC _{95%} =3.7-6.5) meses	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), subtipo histológico, grado de diferenciación, nº líneas de QT y tratamientos hormonales previos para tratar la enfermedad metastásica, estado funcional, metástasis hepáticas o viscerales, metástasis sincrónicas (CMm de novo)
	SG: <u>CTC basal:</u> SGm 15.5 (IC _{95%} =13.5-16.8) meses vs 37.1 (IC _{95%} =32.8-41.9) meses HR=2.78 (IC _{95%} =2.42-3.19), p<0.0001 <u>CTC a 3-5 semanas (n=672):</u> HR=2.26 (IC _{95%} =1.68-3.03), p<0.0001 <u>CTC a 6-8 semanas (n=432):</u> HR=2.91 (IC _{95%} =2.01-4.23), p<0.0001 <u>Cambios CTC basal → 3-5 semanas:</u> <5 → <5 CTC: SGm 41.5 (IC _{95%} =36.8-52.7) meses ≥5 → <5 CTC-: SGm 27.0 (IC _{95%} =21.7-31.5) meses <5 → ≥5 CTC: SGm 22.4 (IC _{95%} =11.9-no valorable) meses ≥5 → ≥5 CTC-: SG _m 13.1 (IC _{95%} =9.4-16.4) meses	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), subtipo histológico, nº de tratamientos hormonales previos, estado funcional, metástasis hepáticas

Estudio	Bidard, 2014 ⁵⁹
Calidad del estudio	Nivel 3
Comentarios	Añadir al modelo clínico-patológico el número de las CTC basal, a las 3-5 y 6-8 semanas añadió información significativa a dicho modelo (medido a través del índice c de Harrell). No fue así con el CEA y CA 15-3.

Estudio	Cristofanilli, 2004 ⁵
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Doble ciego Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 177 (grupo de estimación del punto de corte de CTC n=102, grupo de validación n=75) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Al inicio de nueva línea de tratamiento y en 1ª visita de seguimiento (n=163)
Objetivos del estudio	Determinar el significado clínico de los niveles de CTC en pacientes con CMm medible empezando nueva línea de tratamiento sistémico
Características de los pacientes	Edad: Media 58.0±13.4 años, mediana 58 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, enfermedad progresiva medible, empezando nuevo tratamiento sistémico Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Elegido por los médicos Tiempo de seguimiento: Mínimo 38.7 semanas Frecuencia de seguimiento: Cada 9-12 semanas. Criterios Organización Mundial de la Salud.79

Estudio	Cristofanilli, 2004 ⁹	
Resultados	<p>SLP: <u>CTC basal:</u> SLP_m 2.7 (IC_{95%}=2.1-4.4) meses vs 7.0 (IC_{95%}=5.8-8.9) meses, p<0.001 HR=1.76, p=0.001 <u>CTC en 1ª visita de seguimiento (n=163):</u> SLP_m 2.1 (IC_{95%}=1.8-2.5) meses vs 7.0 (IC_{95%}=5.8-8.4) meses, p<0.001 HR=2.52, p<0.001 <u>Cambios CTC basal → 1ª visita:</u> ≥5 → <5 CTC vs <5 → <5 CTC-: SLP_m 7.6 vs 7.0 meses, p=0.60 <5 → ≥5 CTC vs ≥5 → ≥5 CTC-: SLP_m 2.3 vs 2.0 meses, p=0.99 ≥5 → <5 CTC vs ≥5 → descenso, pero ≥5 CTC-: SLP_m 7.6 vs 2.1 meses, p=0.002</p>	<p><u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1ª, 2ª/ subsiguiente), tratamiento (QT, HT/IT/ambas) <u>Covariables 1ª visita:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1ª, ≥2ª)</p>
	<p>SG: <u>CTC basal:</u> SG_m 10.1 (IC_{95%}=6.3-14.6) meses vs >18 meses, p<0.001 HR=4.26, p<0.001 <u>CTC en 1ª visita de seguimiento (n=163):</u> SG_m 8.2 (IC_{95%}=5.6-11.1) meses vs >18 meses, p<0.001 HR=6.49, p<0.001 <u>Cambios CTC basal → 1ª visita:</u> ≥5 → <5 CTC vs <5 → <5 CTC-: SG_m 14.6 vs >18 meses, p=0.07 <5 → ≥5 CTC vs ≥5 → ≥5 CTC-: SG_m 7.1 vs 8.2 meses, p=0.89 ≥5 → <5 CTC vs ≥5 → descenso, pero ≥5 CTC-: SG_m 14.6 vs 9.2 meses, p=0.006</p>	<p><u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1ª, ≥2ª), tratamiento (QT, HT/IT/ambas), ECOG (0, 1, 2), tiempo hasta metástasis <u>Covariables 1ª visita:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), RRHH (RE/RP -, +), línea de tratamiento (1ª, ≥2ª), ECOG (0, 1, 2) áticas</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Cristofanilli, 2007 ⁹⁰
Diseño del estudio	<p>Diseño: Cohorte retrospectiva Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 151 (32 casos publicados anteriormente)¹¹ Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: En el momento de estadiaje, antes del inicio de nuevo tratamiento</p>
Objetivos del estudio	<p>Evaluar el significado pronóstico de las CTC en comparación con medidas de carga tumoral y pronóstico habituales (escala de Swenerton, CA 27-29, RRHH) y con el subtipo de enfermedad (basal vs luminal)</p>

Estudio	Cristofanilli, 2007 ⁹⁰	
Características de los pacientes	<p>Edad: Mediana 53 años (rango 24-88)</p> <p>Sexo (mujer): 100%</p> <p>Criterios inclusión: CMm, enfermedad medible o no medible, empezando nueva línea de tratamiento, determinación CTC antes del inicio de nueva línea de tratamiento, medición CA 27-29 concomitante</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: QT en monoterapia 51.7%, trastuzumab 14.6%, tratamiento hormonal 23.2%, ninguno/solo RT 7.9%, desconocido 2.6%</p> <p>Tiempo de seguimiento: Mediana 12.7 meses (rango 0.2-66.3)</p> <p>Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST 1.0 (48).</p>	
Resultados	<p>SG:</p> <p>SG_m 13.5 vs 29.3 meses, p<0.0001</p> <p>SG a 6 meses: 75.1% (IC_{95%}=65.3-86.5%) vs 92.6% (IC_{95%}=87.1-98.5%)</p> <p>SG a 12 meses: 60% (IC_{95%}=49-73.6%) vs 81.9% (IC_{95%}=73.8-91%), p<0.001</p> <p>Modelo 1: HR=2.18 (IC_{95%}=1.31-3.64), p=0.003</p> <p>Modelo 2: HR=2.19 (IC_{95%}=1.31-3.66), p=0.003</p>	<p><u>Covariables modelo 1:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), extensión de la enfermedad metastásica (escala de Swenerton, continua), RRHH (+, -), HER2 (sobrexpresión, negativo), CA27-29 (<38.6 U/ml, ≥38.6 U/ml), tratamiento (trastuzumab, QT), tratamiento (hormonal, QT)</p> <p><u>Covariables modelo 2:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), extensión de la enfermedad metastásica (escala de Swenerton, continua), RRHH (TN, RRHH+/HER2-), HER2 (sobrexpresión, negativo), CA27-29 (<38.6 U/ml, ≥38.6 U/ml), tratamiento (trastuzumab, QT), tratamiento (hormonal, QT)</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Dawood, 2008 ⁵¹	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte retrospectiva Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 185 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: En el momento de estadiaje, antes del inicio de nuevo tratamiento	
Objetivos del estudio	Evaluar el significado pronóstico de las CTC en el momento de estadiaje en pacientes con CMm de diagnóstico reciente (recurrencia o CMm de <i>novo</i>)	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 49 años (rango 25-81) en el grupo <5 CTC, 48.5 años (rango 23-84) en el grupo ≥5 CTC Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm, enfermedad de diagnóstico reciente, evidencia clínica y radiológica de enfermedad metastásica medible o evaluable, empezando nuevo tratamiento, no tratamiento previo de enfermedad metastásica Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: cirugía conservadora 29.7%, mastectomía 70.3% Tiempo de seguimiento: Mediana 9.2 meses (rango 0-41.7) Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SG: SG _m 15 (IC _{95%} =12.7-18.2) meses vs 28.3 (IC _{95%} =27.7-36.8) meses, p<0.0001 Diferencia absoluta en supervivencia a 1 año: 23.9%, p<0.001 HR=3.64 (IC _{95%} =2.11-6.30), p<0.0001	Covariables: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), metástasis (viscerales, otras), RRHH (-, +), HER2 (-, +)
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	De Giorgi, 2010 ⁹²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte retrospectiva Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 195 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: En el momento de diagnóstico de la recurrencia/progresión	
Objetivos del estudio	Estudiar si el número de CTC elevado está relacionado con metástasis detectadas por PET-TC en pacientes con CMm recurrente o progresivo	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 54 años (rango 24-84) Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm, disponibilidad de resultados de la prueba PET-TC Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: QT 41%, tratamiento hormonal ± QT 45%, tratamientos dirigidos anti-HER2 ± QT ± tratamiento hormonal 14% Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios malignidad en el PET-TC: SUV >2.5	
Resultados	SG: SG _m 18.5 (IC _{95%} =13.6-25.0) meses vs 34.8 (IC _{95%} =23.5-no valorable) meses, p=0.0007 HR=1.79 (IC _{95%} =1.06-3.00), p=0.029	Covariables: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), HER2 (0-2+, 3+/- FISH+), línea de tratamiento (cont.), nº metástasis pulmonares/ pleurales (cont.), nº metástasis hepáticas (cont.), nº otras metástasis abdominales, nº metástasis SNC (cont.), nº metástasis óseas (cont.)
Calidad del estudio	Nivel 3	

SUV - valor de captación estándar

Estudio	Giordano, 2012⁹³	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte retrospectiva Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 517 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: <30 días antes del inicio de tratamiento	
Objetivos del estudio	Confirmar la diferencia en el comportamiento clínico de los diferentes subtipos del CM y definir el papel pronóstico de las CTC en los diferentes subtipos	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 49 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, determinación CTC <30 días antes del inicio de nueva línea de tratamiento Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: QT 48%, QT + bevacizumab 13%, trastuzumab en combinación 15%, tratamiento hormonal 19%, tratamiento experimental 5% Tiempo de seguimiento: Mediana 24.6 meses Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST 1.1 ⁷² .	
Resultados	SLP: SLP _m 5.8 (IC _{95%} =5.0-6.7) meses vs 6.3 (IC _{95%} =5.3-7.3) meses, p=0.006 HR=1.23 (IC _{95%} =1.01-1.48), p=0.036 SG: SGm 18.3 (IC _{95%} =15.5-21.1) meses vs 32.4 (IC _{95%} =25.3-39.5) meses, p<0.001 HR=2.08 (IC _{95%} =1.64-2.66), p<0.001	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), RRHH (-, +), HER2 (-, +), metástasis viscerales (no, sí), nº lugares metastásicos (1, 2, ≥3)
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Franken, 2012^a	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva Ciego Localización geográfica: Países Bajos Nº pacientes: 404 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes de la cirugía	
Objetivos del estudio	Examinar la frecuencia de la presencia de CTC en el CM no metastásico y determinar su asociación con un incremento de la tasa de recurrencia o de la SEE	
Características de los pacientes	Edad: Media y mediana 59 años (rango 29-90) Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CM estadio clínico I-III, ≥18 años, ECOG 0-1 Criterios exclusión: carcinoma ductal in situ, enfermedad maligna en los 5 años previos (excepto cáncer de piel no melanoma y cáncer de cuello de útero in situ), estadio IV, sexo masculino Tratamiento recibido: Según la guía nacional holandesa: QT adyuvante 37.1%, RT adyuvante 73.0%, tratamiento hormonal adyuvante 47.5% Tiempo de seguimiento: Media 48.6 meses, mediana 48 meses (rango 6-90) Frecuencia de seguimiento: 1er año: cada 3 meses, 2º año: cada 6 meses, años 3-5: anualmente, después anualmente si <60 años o cada 2 años si >60 años. Mamografía a los 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60 meses.	
Resultados	SLE: SLE a 4 años: 78.9% vs 88.4%, p=0.038 HR=1.63 (IC _{95%} =0.83-3.19), p=0.155	<u>Covariables:</u> CTC (0, ≥1 CTC/30 ml), estadio T (T1, T2, T3/T4), grado histológico (G1, G2, G3)
	SLEM: HR=2.56 (IC _{95%} =1.20-5.46), p=0.015	<u>Covariables:</u> CTC (0, ≥1 CTC/30 ml), estadio T (T1, T2, T3/T4), estadio N (N0, N1, N2/3), RE (-, +)
	SEE: SEE a 4 años: 85.5% vs 95.7%, p=0.001 HR=3.47 (1.36-8.83)	<u>Covariables:</u> CTC (0, ≥1 CTC/30 ml), estadio N (N0, N1, N2/3), RP (-, +)
Nivel de evidencia	Nivel 3	

(1). Los HR reportados en el estudio se referían al brazo con <5 CTC/7.5 ml. Los datos fueron recalculados como un recíproco de los HR reportados para mantener consistencia de la presentación de los resultados con otros estudios. Datos originales: SLP: HR_{orig}=0.58 (0.43-0.79), SG: HR_{orig}=0.40 (0.26-0.62)

Estudio	Jiang, 2013 ⁴⁶	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Doble ciego Localización geográfica: China Nº pacientes: 1ª determinación CTC n=227, 2ª determinación n=233 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Al inicio y en la 1ª y 2ª visita de seguimiento	
Objetivos del estudio	Estudiar si ≥ 5 CTC/7.5 ml tiene valor pronóstico en términos de SLP y SG en mujeres chinas. Evaluar la correlación entre el número de CTC y la respuesta radiográfica al tratamiento sistémico. Estudiar el valor pronóstico de las CTC en diferentes subgrupos de pacientes con CMm.	
Características de los pacientes	Edad: Media 49.4 \pm 9.4 años, mediana 50 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, enfermedad medible, empezando nueva línea de tratamiento sistémico, ECOG 0-2 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST 1.0 (48).	
Resultados	<p>SLP: <u>CTC basal:</u> SLPm 6.7 (IC_{95%} =4.7-7.9) meses vs 9.0 (IC_{95%} =7.3-11.3) meses, p<0.001 HR=1.93 (IC_{95%} =1.39-2.69), p<0.001 <u>CTC en la 1ª visita de seguimiento</u> (n=227): SLPm 5.9 vs 8.2 meses, p=0.012 HR=1.54 (IC_{95%} =1.00-2.36), p=0.049 <u>CTC en la 2ª visita de seguimiento</u> (n=233): SLPm 2.0 vs 7.6 meses, p<0.001 HR=3.24 (IC_{95%} =2.00-5.25), p<0.001</p>	<p><u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), RRHH (RE+/RP+, RRHH-), línea de tratamiento (1ª, ≥ 2ª), tratamiento (otro, hormonal) <u>Covariables 1ª visita:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml) <u>Covariables 2ª visita:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1ª, ≥ 2ª)</p>
	<p>SG: <u>CTC basal:</u> SGm 13.2 (IC_{95%} =10.6-15.9) meses vs >24.6 meses, p<0.001 HR=3.76 (IC_{95%} =2.35-6.01), p<0.001 <u>CTC en la 1ª visita de seguimiento</u> (n=227): SGm 12.4 vs 20.1 meses, p<0.001 HR=2.96 (IC_{95%} =1.67-5.25), p<0.001 <u>CTC en la 2ª visita de seguimiento</u> (n=233): SGm 9.5 vs 23.2 meses, p<0.001 HR=5.14 (IC_{95%} =2.64-10.01), p<0.001</p>	<p><u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), RRHH (RE+/RP+, RRHH-), línea de tratamiento (1ª, ≥ 2ª), ECOG (0, 1/2) <u>Covariables 1ª visita:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), RRHH (RE+/RP+, RRHH-), línea de tratamiento (1ª, ≥ 2ª), ECOG (0, 1/2) <u>Covariables 2ª visita:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), RRHH (RE+/RP+, RRHH-), línea de tratamiento (1ª, ≥ 2ª)</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Martín, 2013 ⁴⁷	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva consecutiva Ciego Localización geográfica: España Nº pacientes: 99 (tamaño justificado) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio del tratamiento (día 0) y antes del inicio del 2º ciclo (día 21)	
Objetivos del estudio	Determinar el valor pronóstico de la determinación de las CTC basal y después del 1er ciclo de QT (día 21)	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 61 años (rango 33-88) Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm con indicación de tratamiento con QT paliativa, ECOG 0-1, esperanza de vida > 3 meses, no contraindicación para la QT, no más de 2 líneas de QT para la enfermedad metastásica previa, función renal, hepática y medular adecuada, ausencia de afectación del SNC. Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: QT en combinación con taxanos 26%, QT en combinación con antraciclina 13%, QT en combinación con capecitabina 40%, otra QT 20% Tiempo de seguimiento: Mediana 35 meses (en los vivos) Frecuencia de seguimiento: Cada 3 semanas (antes de cada ciclo de QT) examen clínico, TC cada 11-12 semanas. Criterios RECIST 1.0 (48).	
Resultados	<p>SLP: <u>CTC basal:</u> SLP_m 3.5 (IC_{95%}=0-7) meses vs 9 (IC_{95%}=8-11) meses, p=0.045 HR: no signif. <u>CTC día 21:</u> SLP_m 3 (IC_{95%}=2-4) meses vs 9 (IC_{95%}=8-11) meses, p=0.001 HR: No consta, p=0.047</p> <p>SG: <u>CTC basal:</u> SGm 18 (IC_{95%}=11-25) meses vs 33 (IC_{95%}=22-45) meses, p=0.105 HR=0.985 (IC_{95%}=0.512-1.898), p=0.965 <u>CTC día 21:</u> SGm 9 (IC_{95%}=6-11) meses vs 39 (IC_{95%}=26-50) meses, p<0.001 HR=2.471 (IC_{95%}=1.248-4.892), p=0.009</p>	<u>Covariables:</u> CTC día 21 (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), CTC basal (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), edad (continua), HER2 (-, +), RE (-, +), nº lugares metastásicos, enfermedad visceral (no, sí), nº líneas de QT previas (0, 1, 2)
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Müller, 2012 ⁴²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico (estudio DETECT) Doble ciego Localización geográfica: Alemania Nº pacientes: 245 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de tratamiento	
Objetivos del estudio	Comparar el impacto de determinación de las CTC mediante dos ensayos: CellSearch® vs AdnaTest Breast Cancer™	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 57 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm epitelial, diagnóstico de enfermedad metastásica reciente (progresión o de novo), empezando tratamiento de 1ª línea, ≥18 años, información sobre RRHH y HER2 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: 1ª línea tratamiento de enfermedad metastásica 38%, 2º línea 26%, ≥3ª línea 36% Tiempo de seguimiento: Mediana 11 meses (rango 0-24) Frecuencia de seguimiento: TC cada 8-12 semanas	
Resultados	<p>SLP: Umbral ≥5 CTC/7.5 ml: SLPm 9.3 (IC_{95%} =7.8-10.9) meses vs 10.9 (IC_{95%} =9.3-12.5) meses, no signif. Umbral ≥1 CTC/7.5 ml: SLPm 9.8 (IC_{95%} =8.5-11.0) meses vs 10.9 (IC_{95%} =8.8-12.9) meses, no signif.</p> <p>SG: Umbral ≥5 CTC/7.5 ml: SGm 18.1 (IC_{95%} =15.1-22.1) meses vs 27.1 (IC_{95%} =23.5-30.7) meses, p<0.01 HR=2.7 (IC_{95%} =1.6-4.2), p<0.01 Umbral ≥1 CTC/7.5 ml: SGm 19.6 (IC_{95%} =17.1-22.2) meses vs 30.1 (IC_{95%} =26.3-33.9) meses, p<0.01 HR=2.06 (IC_{95%} =1.16-3.68), p<0.05</p>	Covariables: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), lugar metastásico (viscerales, óseas o ambas), subtipo histológico (luminal, HER2+, TN
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Munzone, 2012 ⁵⁷	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte consecutiva retrospectiva Localización geográfica: Italia Nº pacientes: 203 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de nuevo tratamiento	
Objetivos del estudio	Determinar el valor pronóstico de las CTC en diferentes subtipos de CM	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 57 años (rango 31-78) Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm, enfermedad medible o evaluable, empezando nuevo tratamiento, determinación CTC entre 03/2005-07/2011 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: Mediana 42 meses (rango 2-71) Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SLP: <u>Umbral ≥ 5 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.4 (IC _{95%} =1.1-1.9) <u>Umbral ≥ 1 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.6 (IC _{95%} =1.1-2.3)	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), edad, metástasis óseas, metástasis viscerales
	SG: <u>Umbral ≥ 5 CTC/7.5 ml:</u> HR=3.2 (IC _{95%} =2.2-4.6) <u>Umbral ≥ 1 CTC/7.5 ml:</u> HR=2.7 (IC _{95%} =1.7-4.3)	
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Peeters, 2014 ⁵²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte retrospectiva Doble ciego Localización geográfica: Países Bajos Nº pacientes: 154 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de tratamiento	
Objetivos del estudio	Determinar el significado pronóstico de las CTC en diferentes subtipos de CM	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 62.1 años (rango 32.9-90.8) Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: CMm, empezando tratamiento de 1ª línea entre 11/2007-08/2012 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: QT citotóxica 51.3%, tratamiento hormonal 46.8%. Pacientes HER2+: trastuzumab 89.8%, bevacizumab 5.8% Tiempo de seguimiento: Mediana 29.1 meses Frecuencia de seguimiento: Cada 6-8 semanas	
Resultados	SLP: SLP _m 9.2 (IC _{95%} =5.8-12.6) meses vs 17.6 (IC _{95%} =14.7-20.5) meses, p<0.001 HR=2.6 (IC _{95%} =1.7-4.0), p<0.001	Covariables: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), edad, metástasis óseas, metástasis viscerales
	SG: SG _m 26.3 (IC _{95%} =16.7-35.9) vs no valorable, p<0.001 HR=3.2 (IC _{95%} =1.8-5.7), p<0.001	Covariables: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), edad (<mediana, ≥mediana), tiempo hasta metástasis (<5, ≥5 años desde el diagnóstico de CM), metástasis viscerales (no, si)
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Pi erga, 2012 ⁵³	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico (estudio IC 2006-04) Doble ciego Localización geográfica: Francia Nº pacientes: 267 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de tratamiento, antes del ciclo 2, 3/4 (semanas 6-9) y al diagnosticar la recurrencia	
Objetivos del estudio	Evaluar las CTC como predictor del resultado en pacientes con CMm tratados con QT de 1ª línea	
Características de los pacientes	Edad: No consta Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, enfermedad medible o evaluable, empezando tratamiento de 1ª línea (tratamiento hormonal previo permitido), esperanza de vida ≥ 3 meses Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Taxanos 81%, antraciclinas 11%, 5-fluorouracilo 9%, vinorelbina 3%, trastuzumab 17%, bevacizumab 47% (48% pacientes TN, 62% pacientes HER2+) Tiempo de seguimiento: Mediana 14.9 meses (rango: 6 semanas–33 meses) Frecuencia de seguimiento: Examen clínico antes del inicio de tratamiento, antes del ciclo 2 y 3/4 (semanas 6-9). TC antes del inicio y antes del ciclo 3/4. Criterios RECIST 1.1 ⁷²	
Resultados	SLP (n=168): <u>Umbral ≥ 5 CTC/7.5 ml:</u> SLP _m 8.2 meses (CTC ≥ 5) vs 9.6 meses (CTC=1-4) vs 19.9 meses (CTC=0) , $p < 0.0001$ RR=1.9 (IC _{95%} =1.2-2.8), $p=0.003$ <u>Umbral ≥ 1 CTC/7.5 ml:</u> RR=1.9 (IC _{95%} =1.1-3.0), $p=0.006$ Cambios CTC: $\geq 5 \rightarrow \geq 5$ CTC-: SLPm 6.9 meses, SLP6m=63% $\geq 5 \rightarrow < 5$ CTC-: SLPm 12 meses, SLP6m=83% $< 5 \rightarrow < 5$ CTC: SLPm 18 meses, SLP6m=90%, $p < 0.0001$	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), CEA, estado funcional según la OMS (0, >0), estatus molecular (otros, TN)
	SG (n=164): <u>Umbral ≥ 5 CTC/7.5 ml:</u> SG _m $p=0.0002$ RR=2.4 (IC _{95%} =1.1-5.4), $p=0.03$ <u>Umbral ≥ 1 CTC/7.5 ml:</u> no signif.	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), estado funcional según la OMS (0, >0), estatus molecular (otros, TN)
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Rack, 2014 ^a
Diseño del estudio	<p>Diseño: ECA prospectivo multicéntrico (estudio SUCCESS)</p> <p>Localización geográfica: Alemania</p> <p>Nº pacientes: 2026 determinación basal/1493 determinación basal y después de la QT</p> <p>Técnica: CellSearch®</p> <p>Momento determinación CTC: Basal (después del tratamiento quirúrgico y antes del inicio de la QT) y después de la QT</p>
Objetivos del estudio	Determinar la relevancia pronóstica (SLE, SLEM, SEE, SG) de las CTC antes y después de la QT adyuvante
Características de los pacientes	<p>Edad: Media 53.2±10.5 años en el grupo 0 CTC, 53.8±10.3 años en el grupo ≥1 CTC</p> <p>Sexo (mujer): 100%</p> <p>Criterios inclusión: CM estadio pT1-4 pN0-3 M0</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: Aleatorización para recibir 3 ciclos de FEC (500/100/500 mg/m²) seguidos de 3 ciclos de docetaxel (100 mg/m²) cada 3 semanas vs 3 ciclos de FEC seguidos de 3 ciclos de gemcitabina (1000 mg/m² d1,8)-docetaxel (75 mg/m²) cada 3 semanas. Después, aleatorización para recibir 2 años de zolendronato vs 5 años de zolendronato.</p> <p>Tiempo de seguimiento: Mediana 35 meses (rango 0-54)</p> <p>Frecuencia de seguimiento: Durante los primeros 3 años cada 3 meses en el centro de investigación, después cada 6 meses. Examen clínico (cada visita), mamografía (cada 6 meses); otros según necesidad.</p>

Estudio	Rack, 2014 ⁹	
Resultados	<p>SLE: <u>Umbral ≥ 1 CTC/30 ml:</u> SLE a 3 años: 88.1% vs 93.7%, $p < 0.0001$ HR=2.107 (IC_{95%}=1.487-2.986), $p < 0.0001$ <u>Umbral ≥ 2 CTC/30 ml:</u> HR=3.19 (IC_{95%}=2.141-4.763) <u>Umbral ≥ 5 CTC/30 ml:</u> SLE a 3 años: 71.9% vs 92.9%, $p < 0.0001$ HR=4.51 (IC_{95%}=2.586-7.684) <u>Cambios CTC antes \rightarrow después de la QT</u> (n=1493): SLE a 3 años: 0 \rightarrow 0 CTC: 94.9% $\geq 1 \rightarrow$ 0 CTC-: 93.9% 0 \rightarrow ≥ 1 CTC: 91.1% $\geq 1 \rightarrow$ ≥ 1 CTC-: 85.9%, $p=0.005$ CTC persistentemente ≥ 1: HR=1.124 (IC_{95%}=1.02-1.25), $p=0.02$</p> <p>SLEM: <u>Umbral ≥ 1 CTC/30 ml:</u> SLEM a 3 años: 87.9% vs 94.2%, $p < 0.0001$</p> <p>SEE: <u>Umbral ≥ 1 CTC/30 ml:</u> SEE a 3 años: 94.4% vs 97.5%, $p=0.008$ SG: <u>Umbral ≥ 1 CTC/30 ml:</u> SG a 3 años: 93.2% vs 97.3% , $p=0.0002$ HR=2.177 (IC_{95%}=1.320-3.588), $p=0.002$ <u>Umbral ≥ 2 CTC/30 ml:</u> HR=2.57 (IC_{95%}=1.416-4.659) <u>Umbral ≥ 5 CTC/30 ml:</u> SG a 3 años: 95.7% vs 96.6%, $p < 0.0001$ HR=3.60 (IC_{95%}=1.564-8.445) <u>Cambios CTC antes \rightarrow después de la QT</u> (n=1493): SG a 3 años: 0 \rightarrow 0 CTC: 97.6% $\geq 1 \rightarrow$ ≥ 1 CTC-: 92.8%, $p=0.10$ CTC persistentemente ≥ 1: HR=1.162 (IC_{95%}=0.99-1.37), $p=0.06$</p>	<u>Covariables:</u> CTC (0, ≥ 1 CTC/30 ml), RRRH (-,+), estadio N (N0, N1-3), grado histológico (G1, G2-G3), estadio T (T1, T2-4), menopausia (pre-, post menopausia), histología (lobular/ mixto, ductal)
Calidad del estudio	Nivel 3	

FEC – fluorouracilo-epirubicina-ciclofosfamida

Estudio	Smerage, 2014 ³¹	
Diseño del estudio	<p>Diseño: ECA (estudio SWOG S0500) Aleatorizado (si ≥ 5 CTC día 0 y día 21, aleatorizados para seguir con el mismo tratamiento (brazo C1) o cambiar a otro tratamiento según la elección del médico (C2)), asignación 1:1 con estratificación según tipo de enfermedad (metástasis óseas medibles o solo evaluables) y estatus HER2 Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 595 Brazo A (<5 CTC día 0): n=276 Brazo B (≥ 5 CTC día 0 y <5 CTC día 21): n=165 Brazo C1 (≥ 5 CTC día 0 y 21, no cambio de tratamiento): n=64 Brazo C2 (≥ 5 CTC día 0 y 21, cambio de tratamiento): n=59 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio del tratamiento (día 0) y antes del inicio del 2º ciclo (día 21)</p>	
Objetivos del estudio	<p>Estudiar el beneficio de cambio a otra línea de tratamiento en pacientes en las que después del 1er ciclo de QT los niveles de CTC no bajan por debajo de 5 CTC/7.5 ml</p>	
Características de los pacientes	<p>Edad: 59% ≥ 55 años Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, no metástasis leptomeningeales, no QT de metástasis previa (tratamiento hormonal, bisfosfonatos, trastuzumab o bevacizumab permitidos), ECOG 0-2 Criterios exclusión: No elegible para tratamiento en monoterapia Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: Hasta progresión Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST.</p>	
Resultados	<p>SLP: SLPm 11.1 meses (A) vs 8.9 meses (B) vs 4.9 meses (C), $p < 0.001$ SLPm 3.5 (C2) vs 4.6 meses (C1), $p = 0.64$ C vs B: HR=1.94 (IC_{95%}=1.52-2.47) C2 vs C1: HR_{crudo}=0.92 (IC_{95%}=0.64-1.32)</p> <p>SG: SGm 34.8 meses (A) vs 22.9 meses (B) vs 13.1 meses (C), $p < 0.001$ SGm 10.7 meses (C2) vs 12.5 meses (C1), $p = 0.98$ C vs B: HR=2.13 (IC_{95%}=1.63-2.79) C2 vs C1: HR_{crudo}=1.00 (IC_{95%}=0.69-1.47)</p>	<p><u>Covariables: (brazo C vs B):</u> CTC (<5, ≥ 5 CTC/7.5 ml), RRHH, HER2</p>
Calidad del estudio	<p>Nivel 2</p>	

Estudio	Wallwiener, 2013 ⁴⁵	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Localización geográfica: Alemania Nº pacientes: 486 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de nueva línea de tratamiento	
Objetivos del estudio	Evaluar el impacto pronóstico de las CTC en subgrupos de CMm predefinidos, determinados por la tinción inmunohistoquímica del tumor primario	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 55 años (rango 23-91) Sexo (mujer): 100% Criterios inclusión: CMm, enfermedad radiológicamente medible o clínicamente evaluable, empezando nueva línea de tratamiento entre 12/2007-06/2011 Criterios exclusión: Presencia de otros tumores malignos Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: 11.13 meses para SG Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST 1.1 (72).	
Resultados	SLP (n=445): SLP _m 4.77 (IC _{95%} =3.92-5.61) meses vs 7.60 (IC _{95%} =5.93-9.27) meses, p<0.001 HR=1.82 (IC _{95%} =1.41-2.34), p<0.001 SG: SG _m 18.01 meses vs no valorable, p<0.001 HR=4.79 (IC _{95%} =2.95-7.79), p<0.001	<u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), lugar metastásico (metástasis óseas, viscerales, ambas), línea de tratamiento (1ª, 2ª, ≥3ª), RRHH (RRHH+/HER2-, HER2+, RRHH-/HER2-)
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Wallwiener, 2014 ³²
Diseño del estudio	<p>Diseño: Cohorte prospectiva consecutiva</p> <p>Triple ciego</p> <p>Localización geográfica: Alemania</p> <p>Nº pacientes: 393/ 201 con 2 mediciones de CTC</p> <p>Técnica: CellSearch®</p> <p>Momento determinación CTC: Antes del inicio de una nueva línea de tratamiento y después del 1er ciclo (n=201)</p>
Objetivos del estudio	<p>Valorar si la determinación de CTC basal, después de 1er ciclo de tratamiento y su variación son predictores tempranos de la eficacia en términos de respuesta al tratamiento, SLP y SG</p>
Características de los pacientes	<p>Edad: Mediana 59 años (rango 29-89)</p> <p>Sexo (mujer): 100%</p> <p>Criterios inclusión: CMm progresivo, evidencia radiológica y clínica de enfermedad metastásica medible o evaluable según los criterios RECIST, empezando nueva línea de tratamiento, ≥18 años, determinación de CTC basal</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: QT en monoterapia 20.6%, QT combinada 27.7%, QT + bevacizumab 23.7%, otra QT 10.4%, no QT 15.8%, desconocido 0.3%</p> <p>Tiempo de seguimiento: Mediana 26.0 meses (IC_{95%}=23.7-28.5)</p> <p>Frecuencia de seguimiento: Cada 2-3 meses hasta progresión. Criterios RECIST 1.1 (72).</p>

Estudio	Wallwiener, 2014 ³²	
Resultados	<p>SLP</p> <p><u>CTC basal:</u> SLPm 4.7 (IC_{95%}=3.7-6.1) meses vs 7.8 (IC_{95%}=6.4-9.2) meses, p=0.001 HR=1.55 (IC_{95%}=1.19-2.01), p=0.001</p> <p><u>CTC después de 1er ciclo de QT:</u> SLPm 4.3 (IC_{95%}=3.6-6.0) meses vs 8.5 (IC_{95%}=6.6-10.4) meses (p<0.001)</p> <p><u>Cambios CTC antes → después de 1er ciclo:</u> <5 → <5 CTC: SLPm=8.7 (IC_{95%}=6.6-11.5) meses ≥5 → <5 CTC: SLPm=8.0 (IC_{95%}=5.5-12.1) meses HR=1.01 (IC_{95%}=0.62-1.64), p=0.981 ≥5 → ≥5 CTC: SLPm=4.3 (IC_{95%}=3.6-6.1) meses HR=2.17 (IC_{95%}=1.39-3.37), p<0.001 <5 → ≥5 CTC: SLPm=3.7 (IC_{95%}=2.5-no valorable) meses HR=2.17 (IC_{95%}=0.91-5.14), p=0.079</p> <p>SG:</p> <p><u>CTC basal:</u> SGm 10.4 (IC_{95%}=7.9-15.0) meses vs 27.2 (IC_{95%}=22.3-29.9) meses, p<0.001 HR=2.79 (IC_{95%}=2.04-5.63), p<0.001</p> <p><u>CTC después de 1er ciclo de QT:</u> SGm 7.7 (IC_{95%}=6.4-13.9) meses vs 30.6 (IC_{95%}=22.6-no valorable) meses (p<0.001)</p> <p><u>Cambios CTC antes → después de 1er ciclo:</u> <5 → <5 CTC: SGm=30.6 (IC_{95%}=27.4-no valorable) meses ≥5 → <5 CTC: SGm=16.7 (IC_{95%}=13.6-no valorable) meses HR=1.68 (IC_{95%}=0.85-3.32), p=0.135 ≥5 → ≥5 CTC: SGm=7.7 (IC_{95%}=6.1-13.1) meses HR=5.58 (IC_{95%}=3.06-10.15), p<0.001 <5 → ≥5 CTC: SGm=14.0 (IC_{95%}=5.7-no valorable) meses HR=2.56 (IC_{95%}=0.76-8.00), p=0.134</p>	<p><u>Covariables:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), edad basal (cont.), subtipo molecular (RRHH+/HER2-, HER2+, TN), lugar de metástasis (óseas, locales/viscerales, ambas), nº sitios metastásicos (1, ≥2), línea de tratamiento (1ª, 2ª, ≥3ª)</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Zhang, 2012 ³³	
Diseño del estudio	Diseño: Meta-análisis Localización geográfica: Nº pacientes: 2893 (18 estudios: estadio M0 1 estudio, M1 17 estudios) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: No consta	
Objetivos del estudio	Evaluar el valor pronóstico de las CTC en la SLE y SG en CM no metastásico (estadios M0) y SLP y SG en CM metastásico (estadio M1)	
Características de los pacientes	Edad: No consta Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: M0 o M1, n>30 Criterios exclusión: CM inflamatorio o sarcoma Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SLE/SLP: HR=1.85 (IC _{95%} =1.53-2.25), I ² =56.3% SG: HR=2.45 (IC _{95%} =2.10-2.85), I ² =28.8%	No aplicable
Calidad del estudio	Nivel 4	

Cáncer colorrectal

Estudio	Aggarwal, 2013 ⁶²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico *Subanálisis de Cohen, 2008 (6) Localización geográfica: Estados Unidos, Países Bajos, Reino Unido Nº pacientes: 217 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio del tratamiento y 1-2, 3-5, 6-12 y 13-20 semanas después del inicio del tratamiento	
Objetivos del estudio	Examinar la relación entre las CTC y el CEA	
Características de los pacientes	Edad: Media 63.0±12.3 años, mediana 63 años (rango 22-90) Sexo (mujer): 44% Criterios inclusión: CCRm, enfermedad medible, empezando tratamiento sistémico de 1ª o 2ª línea o de 3ª línea con inhibidor de EGFR, ECOG 0-2, Hb >8 g/dL, CEA ≥10 ng/ml Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: régimen con bevacizumab 56%, con irinotecan 24%, con oxaliplatino 59% Tiempo de seguimiento: Hasta 2 años desde la progresión. Mediana 11.0 meses (rango 0.8-30.0) en los vivos. Actualizado (61): Mediana 25.8 meses (rango 0.9-39.1) en los vivos. Frecuencia de seguimiento: Cada 6-12 semanas hasta progresión, después cada 6 meses hasta 2 años. Criterios RECIST 1.0 (48).	
Resultados	SG: <u>CTC basal:</u> HR=1.5 (IC _{95%} =1.0-2.1), p=0.053	<u>Covariables:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), CEA basal (<50, ≥50 ng/ml), edad a la entrada en el estudio (<65, ≥65 años), ECOG (0, 1, 2)
Calidad del estudio	Nivel 3	
Comentarios	En el grupo de CEA basal ≥25 ng/ml había diferencia significativa en la supervivencia de pacientes con ≥3 y <3 CTC: SG _m 20.8 meses vs 11.7 meses, p=0.012	

Estudio	Bork, 2015 ²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva Localización geográfica: Alemania Nº pacientes: 287 (239 estadio I-III y 48 estadio IV) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Inmediatamente antes de la incisión quirúrgica y días 3 y 7 postoperatorios	
Objetivos del estudio	Evaluar el valor pronóstico de las CTC en pacientes con CCR potencialmente curable	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 64 años (rango 27-69) Sexo (mujer): 35.2% Criterios inclusión: CCR estadio I-III (UICC) o estadio IV con metástasis limitadas sincrónicas (no en el hígado) aptas para un tratamiento quirúrgico con intención curativa Criterios exclusión: Enfermedad no resecable, historia de otra enfermedad maligna en los últimos 5 años Tratamiento recibido: Tratamiento neoadyuvante 33.1%, RT neoadyuvante 30.0%, tratamiento adyuvante 43.7% Tiempo de seguimiento: Media 28 meses (rango 0-53) Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SG:² <u>Estadios I-III:</u> SG _m 38.4 (IC _{95%} =29.4-47.4) meses vs 49.8 (IC _{95%} =48.3-51.4) meses, p<0.001 HR=5.5 (IC _{95%} =2.3-13.6), p<0.001 <u>Estadios I-V:</u> SG _m 33.6 (IC _{95%} =26.3-41.0) meses vs 48.4 (IC _{95%} =46.7-50.0) meses, p<0.001 HR=5.6 (IC _{95%} =2.6-12.0), p<0.001	<u>Covariables: estadios I-III:</u> CTC (0, ≥1 CTC/7.5 ml), edad (<65, ≥65 años) <u>Covariables estadios I-IV:</u> CTC (0, ≥1 0 CTC/30 ml), edad (<65, ≥65 años), estadio N (N0, N1, N2), estadio UICC (III, IV), CEA (<2.5, ≥2.5 µg/l), CA 19-9 (<37, ≥37 µg/l)
Calidad del estudio	Nivel 3	

(2). No se han incluido los datos de SLE en la revisión ya que los autores no especificaron el modo de seguimiento.

Estudio	Cohen, 2008 ⁶ & Cohen, 2009 ⁶¹
Diseño del estudio	<p>Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico</p> <p>Localización geográfica: Estados Unidos, Países Bajos, Reino Unido</p> <p>Nº pacientes: 430</p> <p>Técnica: CellSearch®</p> <p>Momento determinación CTC: Antes del inicio del tratamiento y 1-2, 3-5, 6-12 y 13-20 semanas después del inicio del tratamiento</p>
Objetivos del estudio	<p>Evaluar el valor pronóstico y predictivo de las CTC en pacientes con CCRm</p>
Características de los pacientes	<p>Edad: Mediana 64 años (rango 22-92)</p> <p>Sexo (mujer): 45%</p> <p>Criterios inclusión: CCRm, enfermedad medible, empezando tratamiento sistémico de 1ª o 2ª línea o de 3ª línea con inhibidor de EGFR, ECOG 0-2, Hb >8 g/dL</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: régimen con bevacizumab 56%, con irinotecan 24%, con oxaliplatino 59%</p> <p>Tiempo de seguimiento: Hasta 2 años desde la progresión. Mediana 11.0 meses (rango 0.8-30.0) en los vivos. Actualizado (61): Mediana 25.8 meses (rango 0.9-39.1) en los vivos.</p> <p>Frecuencia de seguimiento: Cada 6-12 semanas hasta progresión, después cada 6 meses hasta 2 años. Criterios RECIST 1.0 (48)</p>

Estudio	Cohen, 2008 ⁶ & Cohen, 2009 ⁶¹	
Resultados	<p><u>CTC basal (n=373):</u> SLP_m 4.5 (IC_{95%}=3.7-6.3) meses vs 7.9 (IC_{95%}=7.0-8.6) meses, p=0.0002 HR=1.74 (IC_{95%}=1.33-2.26), p=0.000</p> <p><u>CTC basal (n=397), actualizado (61):</u> SLP_m 4.4 (IC_{95%}=3.7-6.1) meses vs 7.8 (IC_{95%}=7.0-8.5) meses, p=0.004 HR=1.45 (IC_{95%}=1.15-1.85), p=0.002</p> <p><u>CTC a 1-2 semanas (n=320):</u> HR=1.85 (IC_{95%}=1.28-2.68), p=0.001</p> <p><u>CTC a 3-5 semanas (n=297):</u> HR=2.30 (IC_{95%}=1.56-3.38), p=0.000</p> <p><u>CTC a 6-12 semanas (n=263):</u> HR=3.64 (IC_{95%}=2.10-6.30), p=0.000</p> <p><u>CTC a 13-20 semanas (n=170):</u> HR=4.18 (IC_{95%}=2.17-8.03), p=0.000</p> <p><u>CTC basal (n=373):</u> SG_m 9.4 (IC_{95%}=7.5-11.6) meses vs 18.5 (IC_{95%}=15.5-21.2) meses, p<0.0001 HR=2.45 (IC_{95%}=1.77-3.39), p=0.000</p> <p><u>CTC basal (n=397), actualizado (61):</u> SG_m 9.4 (IC_{95%}=7.5-11.6) meses vs 20.6 (IC_{95%}=18.5-23.1) meses, p<0.0001 HR=2.22 (IC_{95%}=1.70-2.89), p=0.000</p> <p><u>CTC a 1-2 semanas (n=321):</u> HR=2.90 (IC_{95%}=1.92-4.36), p=0.000</p> <p><u>CTC a 3-5 semanas (n=301):</u> HR=4.78 (IC_{95%}=3.11-7.34), p=0.000</p> <p><u>CTC a 6-12 semanas (n=279):</u> HR=9.35 (IC_{95%}=5.28-16.54), p=0.000</p> <p><u>CTC a 13-20 semanas (n=193):</u> HR=4.01 (IC_{95%}=2.11-7.62), p=0.000</p>	<p><u>Covariantes basal, 1-2, 3-5 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad a la entrada en el estudio (<65, ≥65 años), ECOG (0, 1, 2), bevacizumab (no, sí), irinotecan (no, sí), oxaliplatino (no, sí)</p> <p><u>Covariantes 6-12 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad al empezar el estudio (<65, ≥65 años), bevacizumab (no, sí), irinotecan (no, sí), oxaliplatino (no, sí)</p> <p><u>Covariantes 13-20 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad al entrar en el estudio (<65, ≥65 años), bevacizumab (no, sí), oxaliplatino (no, sí)</p> <p><u>Covariantes basal, 1-2 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad a la entrada en el estudio (<65, ≥65 años), ECOG (0, 1, 2), bevacizumab (no, sí), irinotecan (no, sí), oxaliplatino (no, sí)</p> <p><u>Covariantes 3-5 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad a la entrada en el estudio (<65, ≥65 años), ECOG (0, 1, 2), bevacizumab (no, sí), oxaliplatino (no, sí)</p> <p><u>Covariantes 6-12 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a), edad a la entrada en el estudio (<65, ≥65 años), ECOG (0, 1, 2), bevacizumab (no, sí)</p> <p><u>Covariantes 13-20 semanas:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), línea de tratamiento (1^a, 2^a/3^a)</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

Estudio	Huang, 2014 ³⁷
Diseño del estudio	Diseño: Meta-análisis Localización geográfica: No procede Nº pacientes: 1297 (6 estudios) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: No consta
Objetivos del estudio	Evaluar el significado pronóstico y predictivo de las CTC en la evaluación de la respuesta a la QT en pacientes con CCR
Características de los pacientes	Edad: No consta Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: Estadios II-IV, tratamiento QT, evaluación de respuesta al tratamiento según los criterios RECIST, muestra de sangre periférica, n>20. Hasta 04/2014 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	SLP: <u>Estadios II-IV:</u> HR=1.769 (IC _{95%} =1.180-2.651), I ² =90.2% <u>Pacientes tratados quirúrgicamente (CCRm; n=1 estudio):</u> HR=1.981 (IC _{95%} =1.478-2.654) <u>Cambios de CTC a lo largo del seguimiento (CCRm; de bajo/alto a alto vs de alto a bajo):</u> HR=2.095 (IC _{95%} =1.105-3.969), I ² =74% SG: HR=2.452 (1.484-4.050), I ² =89.9% <u>Pacientes tratados quirúrgicamente (CCRm; n=1 estudio):</u> HR=1.738 (IC _{95%} =1.296-2.332) <u>Cambios de CTC a lo largo del seguimiento (CCRm; de bajo/alto a alto vs de alto a bajo):</u> HR=3.604 (IC _{95%} =2.096-6.197), I ² =52.9%
Calidad del estudio	Nivel 3
Comentarios	Otros resultados de interés: Tasa de control de la enfermedad: <u>Estadios II-IV:</u> RR=1.110 (IC _{95%} =0.784-1.571), I ² =74.6% <u>CCRm:</u> RR=1.292 (IC _{95%} =1.005-1.660), I ² =42.4% <u>Cambios de CTC a lo largo del seguimiento (estadios II-IV; aumento vs disminución de CTC, n=1 estudio):</u> OR=39.00 (IC _{95%} =2.932-518.841) Respuesta a la QT: RR=1.326 (IC _{95%} =0.904-1.946), I ² =22.5%

Estudio	Huang, 2015 ³⁸
Diseño del estudio	Diseño: Meta-análisis Localización geográfica: No procede Nº pacientes: 1847 (11 estudios) Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: No consta
Objetivos del estudio	Evaluar el significado pronóstico de las CTC en pacientes con CCR
Características de los pacientes	Edad: No consta Sexo (mujer): No consta Criterios inclusión: Varios estadios, tratamiento QT adyuvante, evaluación de respuesta al tratamiento según los criterios RECIST, muestra de sangre periférica. Hasta 12/2014 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	SLP: <u>CTC+ vs CTC-:</u> HR=1.80 (IC _{95%} =1.52-2.13), p<0.01, I ² =43.9% <u>Umbral ≥1 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.46 (IC _{95%} =0.92-2.31), p=0.11 <u>Umbral ≥1 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.53 (IC _{95%} =0.72-3.25), p=0.27 <u>Umbral ≥3 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.79 (IC _{95%} =1.52-2.11), p<0.01 <u>CTC basal:</u> HR=1.55 (IC _{95%} =1.35-1.77), p<0.01, I ² =4.0% <u>CTC durante la QT:</u> HR=2.50 (IC _{95%} =2.14-2.92), p<0.01, I ² =0.0% SG: <u>CTC+ vs CTC-:</u> HR=2.00 (IC _{95%} =1.49-2.69), p<0.01, I ² =67.1% <u>Umbral ≥1 CTC/7.5 ml:</u> HR=2.94 (IC _{95%} =0.51-17.01), p=0.23 <u>Umbral ≥1 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.67 (IC _{95%} =0.84-3.31), p=0.27 <u>Umbral ≥3 CTC/7.5 ml:</u> HR=1.66 (IC _{95%} =1.14-2.42), p<0.01 <u>CTC basal:</u> HR=1.78 (IC _{95%} =1.34-2.37), p<0.01, I ² =54.3% <u>CTC durante la QT:</u> HR=3.02 (IC _{95%} =2.07-4.40), p=0.01, I ² =61.6%
Calidad del estudio	Nivel 4
Comentarios	Otros resultados de interés: Respuesta a la QT adyuvante: <u>CTC basal:</u> CTC+ vs CTC-: 33% (IC _{95%} =27-39%) vs 39% (IC _{95%} =34-44%), RR=0.79 (IC _{95%} =0.63-0.99), p=0.04, I ² =7.0% <u>CTC durante la QT:</u> CTC+ vs CTC-: 17% (IC _{95%} =6-28%) vs 46% (IC _{95%} =33-59%), RR=0.41 (IC _{95%} =0.22-0.77), p=0.01, I ² =0.0%

Estudio	Sastre, 2012 ³⁹
Diseño del estudio	<p>Diseño: ECA, multicéntrico (estudio MACRO)</p> <p>Aleatorizado para recibir tratamiento</p> <p>Localización geográfica: España</p> <p>Nº pacientes: 180</p> <p>Técnica: CellSearch®</p> <p>Momento determinación CTC: Basal, después del ciclo 3 y a la progresión</p>
Objetivos del estudio	<p>Evaluar el valor pronóstico y predictivo de las CTC</p>
Características de los pacientes	<p>Edad: Mediana 65 años (rango 40-82)</p> <p>Sexo (mujer): 34.4%</p> <p>Criterios inclusión: CCRm, enfermedad medible, tratamiento de 1ª línea de la enfermedad metastásica, no QT previa para enfermedad metastásica, no contraindicación para bevacizumab, ≥18 años, ECOG ≤2, función hepática y renal adecuada</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: 6 ciclos de XELOX + bevacizumab → aleatorizado para recibir XELOX o XELOX + bevacizumab</p> <p>Tiempo de seguimiento: No consta</p> <p>Frecuencia de seguimiento: TC al final de ciclo 3 y 6 y después cada 9 semanas.</p> <p>Criterios RECIST 1.0 (48).</p>

Estudio	Sastre, 2012 ³⁹	
Resultados	<p>SLP: <u>CTC basal:</u> SLP_m 7.81 (IC_{95%}=6.69-9.85) meses vs 12.00 (IC_{95%}=10.17-14.24) meses, p=0.0002 Modelo 1: HR=1.630 (IC_{95%}=1.050-2.531), p=0.0296 Modelo 2: HR=1.469 (IC_{95%}=0.975-2.215), p=0.0695 <u>CTC después de 3er ciclo de QT:</u> SLP_m 7.5 (IC_{95%}=4.1-10.0) meses vs 10.8 (IC_{95%}=9.7-12.6) meses, p=0.005 <u>Cambios CTC basal – 3er ciclo:</u> <3 → <3 CTC: SLPm 12.4 (IC_{95%}=10.2-15.1) meses ≥3 → <3 CTC: SLPm 9.2 (IC_{95%}=7.1-10.6) meses <3 o ≥3 → ≥3 CTC: SLPm 7.5 (IC_{95%}=4.1-10.0) meses, p=0.0011</p>	<p><u>Covariables modelo 1:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), ECOG (0/1, 2), edad (<70, ≥70años), nº órganos afectados (1, ≥2), LDH (normal, anormal), FFAA (normal, anormal), sexo, tratamiento (XELOX+bevacizumab, bevacizumab solo) <u>Covariables modelo 2:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), LDH (normal, anormal)</p>
	<p>SG: <u>CTC basal:</u> SGm 17.7 (IC_{95%}=12.6-23.1) meses vs 25.09 (IC_{95%}=21.03-28.88) meses, p=0.0059 Modelo 1: HR=1.520 (IC_{95%}=0.976-2.368), p=0.0637 Modelo 2: HR=1.539 (IC_{95%}=1.001-2.369), p=0.0497 <u>CTC después de 3er ciclo de QT:</u> SGm 16.2 (IC_{95%}=9.3-26.0) meses vs 25.1 (IC_{95%}=20.0-28.4) meses, p=0.0095 <u>Cambios CTC basal – 3er ciclo:</u> <3 → <3 CTC: SGm 26.7 (IC_{95%}=21.9-29.0) meses ≥3 → <3 CTC: SGm 20.0 (IC_{95%}=13.7-29.0) meses <3 o ≥3 → ≥3 CTC: SGm 16.2 (IC_{95%}=9.3-26.0) meses, p=0.0122</p>	<p><u>Covariables modelo 1:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), ECOG (0/1, 2), edad (<70, ≥70años), número de órganos afectados (1, ≥2), LDH (normal, anormal), FFAA (normal, anormal), sexo, tratamiento (XELOX+bevacizumab, bevacizumab solo) <u>Covariables modelo 2:</u> CTC (<3, ≥3 CTC/7.5 ml), número órganos afectados (1, ≥2), LDH (normal, anormal)</p>
Calidad del estudio	Nivel 2	
Comentarios	<p>Otros resultados de interés: Tasa de respuesta: <u>CTC basal (≥3 CTC vs <3 CTC):</u> 40.0% vs 48.4%; OR=1.4 (IC_{95%}=0.78-2.55), p=0.2563 <u>CTC después de 3er ciclo de QT:</u> 26.1% vs 53.2%, OR=3.22 (IC_{95%}=1.25-9.43), p=0.0168</p>	

Estudio	Seeberg, 2015 ⁶²	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva Localización geográfica: Noruega Nº pacientes: 194 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes de la cirugía u otro tratamiento si no resecable (n=22)	
Objetivos del estudio	Estudiar el valor pronóstico y predictivo de las CTC y DTC en relación a la resecabilidad y supervivencia en pacientes con CCRm referidos para extirpación quirúrgica de metástasis hepáticas	
Características de los pacientes	Edad: Media 65 años (rango 31-93) Sexo (mujer): 45.9% Criterios inclusión: CCRm, metástasis hepáticas Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Resección quirúrgica 78.9%, QT neoadyuvante 63.4%, QT adyuvante 64.4% Tiempo de seguimiento: Mediana 8 meses Frecuencia de seguimiento: Revisión clínica y TC cada 4 meses	
Resultados	SLE/SLP: HR=2.32 (IC _{95%} =1.26-4.27), p=0.007 <u>Tumores resecables (SLE):</u> SLE a 3 meses: 88% SLE a 1 año: 48.5% SLE a 2 años: 30.5% SLE a 4 años: 19.9%, p<0.001 HR=2.93 (IC _{95%} =1.53-5.66), p=0.001 <u>Tumores no resecables (SLP):</u> no signif	<u>Covariables:</u> CTC (<2, ≥2 CTC/7.5 ml), nº metástasis hepáticas, enfermedad extrahepática no resecable (no, sí), márgenes de resección (R0, R1)
	SG: SG _m 7.1±6.9 meses vs 35.5±4.4 meses, p<0.001 HR=2.48 (IC _{95%} =1.40-4.38), p=0.002 <u>Tumores resecables:</u> SG a 3 meses: 98.7% SG a 1 año: 91.6%, SG a 2 años: 85.4% SG a 4 años: 59.2%, p=0.037 HR=2.78 (IC _{95%} =1.10-7.02),p=0.030 <u>Tumores no resecables:</u> HR=2.86 (IC _{95%} =1.36-6.01), p=0.006	<u>Covariables:</u> CTC (<2, ≥2 CTC/7.5 ml), CEA (<60, >60 ng/ml), inoperabilidad (no, sí) <u>Covariables tumores resecables:</u> CTC (<2, ≥2 CTC/7.5 ml), nº metástasis hepáticas <u>Covariables tumores no resecables:</u> CTC (<2, ≥2 CTC/7.5 ml), CEA (<60, >60 ng/ml), ECOG (0, ≥1)
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Sotelo, 2015 ⁴⁰	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Localización geográfica: España Nº pacientes: 472 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de tratamiento adyuvante (4-8 semanas después de la cirugía)	
Objetivos del estudio	Estudiar la correlación entre las CTC, SLP y SG para identificar subgrupos pronósticos en CCR estadio III	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 66 años (rango 31-87) Sexo (mujer): 46.2% Criterios inclusión: Cáncer de colon o parte superior del recto, adenocarcinoma, estadios III A, B y C, ≥18 años Criterios exclusión: Diagnóstico previo de enfermedad maligna (incluidos los carcinomas in situ), evidencia de enfermedad residual o metastásica Tratamiento recibido: 5-fluorouracilo/capecitabina 19.9%, FOLFOX 39.4%, XELOX 32.2%, otro 2.3%, desconocido 6.1% Tiempo de seguimiento: Mediana 40 meses Frecuencia de seguimiento: No consta	
Resultados	SG: ⁹ No diferencias significativas ni en el tiempo de supervivencia ni en la supervivencia a los 3 años HR=0.96 (IC _{95%} =0.56-1.65), p=0.892	<u>Covariables:</u> CTC (0, ≥1 CTC/7.5 ml), tratamiento adyuvante (no, sí), estadio T (T1-3, T4), estadio N (N1, N2), invasión de vasos linfáticos (no, sí), invasión vascular (no, sí)
Calidad del estudio	Nivel 2	

FOLFOX – 5-fluorouracilo + leucovorin + oxaliplatino; XELOX - capecitabina + oxaliplatino

(3) No se han incluido los datos de SLE en la revisión ya que los autores no especificaron el modo de seguimiento.

Cáncer de próstata

Estudio	de Bono, 2008 ⁸
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Doble ciego Localización geográfica: Estados Unidos y Reino Unido Nº pacientes: 231 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de nueva QT y antes de cada ciclo (2-5, 6-8, 9-12, 13-20 semanas desde el inicio) hasta 18 meses o recurrencia
Objetivos del estudio	Valorar si los cambios en el número de CTC a las 2-5 semanas desde el inicio de nuevo tratamiento tiene valor pronóstico para la supervivencia global
Características de los pacientes	Edad: Media 70±9 años, mediana 70 (rango 45-92) Criterios inclusión: CPHRm, enfermedad progresiva (aumento del PSA, nuevas lesiones óseas o metástasis de tejido blando en crecimiento), 4-6 semanas de período de lavado desde la finalización del tratamiento antiandrogénico, no RT o tratamiento con radionúclidos en los últimos 30 días, testosterona <50 ng/mL, PSA >5 ng/mL, ECOG 0-2 Criterios exclusión: Metástasis cerebrales, historia de otra enfermedad maligna en los últimos 5 años Tratamiento recibido: Taxotere 70% Tiempo de seguimiento: Media 16.1±4.9 meses (rango 1.9-25.7) en los vivos Frecuencia de seguimiento: No consta

Estudio	de Bono, 2008 ⁸	
Resultados	<p>SG:</p> <p><u>CTC basal:</u> SG_m 11.5 (IC_{95%}=9.3-13.7) meses vs 21.7 (IC_{95%}=21.3-no valorable) meses, p<0.0001 HR=1.81 (IC_{95%}=1.10-2.97), p=0.019</p> <p><u>CTC a 2-5 semanas:</u> SG_m 9.5 (IC_{95%}=5.8-10.7) meses vs 20.7 (IC_{95%}=20.5-no valorable) meses, p<0.0001</p> <p><u>CTC a 6-8 semanas:</u> SG_m 8.5 meses vs 19.9 meses, p<0.0001</p> <p><u>CTC a 9-12 semanas:</u> SG_m 7.6 (IC_{95%}=6.2-8.6) meses vs 19.6 (IC_{95%}=18.5-no valorable) meses, p<0.0001 HR=4.40 (IC_{95%}=2.43-7.97), p<0.001</p> <p><u>CTC a 13-20 semanas:</u> SG_m 6.7 meses vs 19.8 meses, p<0.0001</p> <p><u>Cambios CTC basal – final:</u> ≥5 → ≥5 CTC (n=71) vs ≥5 → <5 CTC (n=45): SG_m 6.8 (IC_{95%}=5.8-10.3) meses vs 21.3 (IC_{95%}=18.4-no valorable) meses, p<0.0001 ≥5 → ≥5 CTC (n=71) vs <5 → <5 CTC (n=88): SG_m 6.8 (IC_{95%}=5.8-10.3) meses vs >26 (IC_{95%}=21.4-no valorable) meses, p<0.0001 <5 → ≥5 CTC (n=26): SG_m 8.3 (IC_{95%}=8.2-11.3) meses</p>	<p><u>Covariables basal:</u> CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), ECOG basal (0, 1, 2), Hb basal (cont.), LDH basal (cont.), FFAA basal (cont.), línea de tratamiento (cont., 1-6), tratamiento con taxotere (no, si), metástasis óseas (no, si)</p> <p><u>Covariables 9-12 semanas:</u> CTC a 9-12 semanas (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), ECOG basal (0, 1, 2), línea de tratamiento (cont., 1-6), tratamiento con taxotere (no, si), reducción PSA basal – 9-12 semanas (<30%, >30%)</p>
Calidad del estudio	Nivel 3	

(*) Calculado de los datos proporcionados por los autores

Estudio	Goldkom, 2014 ⁴¹	
Diseño del estudio	Diseño: ECA, multicéntrico Doble ciego Aleatorizado para recibir atrasentan Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 238 determinación CTC basal/232 determinación basal y día 21 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del ciclo 1 (día 0) y 2 de tratamiento (día 21)	
Objetivos del estudio	Estudiar el valor pronóstico y predictivo de las CTC en CPHRm en tratamiento de 1ª línea con docetaxel	
Características de los pacientes	Edad: Media 69±9 años, mediana 69 años (IQR=62-76) Criterios inclusión: CPHRm, metástasis óseas, tratamiento de 1ª línea con docetaxel Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Docetaxel 75 mg/m2 cada 3 veces + prednisona oral diaria, aleatorizado para recibir placebo o atrasentan Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta. Criterios RECIST 1.0 (48).	
Resultados	SG: <u>CTC basal:</u> SG _m 13 meses vs 26 meses HR=2.74 (IC _{95%} =1.72-4.37), p<0.001 <u>Cambios CTC (0-21 días):</u> Aumento (cont.): HR=2.55 (IC _{95%} =1.04-6.24), p=0.041 Aumento (<5 → ≥5 CTC): HR=6.47 (IC _{95%} =1.96-21.42), p=0.002 Disminución (cont.): HR=1.47 (IC _{95%} =0.69-3.13), p=0.324 Disminución (≥5 CTC → disminución ≥50%): HR=0.53 (IC _{95%} =0.27-1.06), p=0.071	<u>Covariables basal:</u> CTC basal: CTC (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), PSA basal, Hb basal, FFAA basal, enfermedad hepática (no, sí), edad, raza (negra, otra), ECOG, tipo de progresión inicial (solo PSA, enfermedad medible o evaluable), dolor (BPI <4, ≥4), extensión de la enfermedad (mínima, extensa) <u>Covariables cambios CTC:</u> CTC día 21 (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), CTC basal (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), PSA basal, cambio PSA 0-21 días, Hb basal, ALP basal, enfermedad hepática (no, sí), raza (negra, otra), ECOG, tipo de progresión inicial (solo PSA, enfermedad medible o evaluable), dolor (BPI <4, ≥4), extensión de la enfermedad (mínima, extensa)
	Precisión pronóstica: Supervivencia a 2 años: AUC _{CTC} =0.781 AUC _{PSA} =0.65	
Calidad del estudio	Nivel 2	

Estudio	Goldkom, 2014 ⁴¹
Comentarios	<p>Otros resultados de interés:</p> <p>Tasa de respuesta medida a través del PSA: ≥ 5 CTC vs < 5 CTC: 44% (IC_{95%}=34-53%) vs 63% (IC_{95%}=52-72%), p=0.01</p> <p><u>Cambios CTC:</u> $< 5 \rightarrow < 5$ CTC (n=66): 64% (IC_{95%}=51-75%) $< 5 \rightarrow \geq 5$ CTC (n=9): 33% (IC_{95%}=7-70%) $\geq 5 \rightarrow < 5$ CTC (n=64): 50% (IC_{95%}=37-63%) $\geq 5 \rightarrow \geq 5$ CTC (n=19): 26% (IC_{95%}=9-51%), p=0.02 ≥ 5 CTC \rightarrow disminución $> 50\%$: HR=4.63 (1.12-18.8), p=0.035</p> <p>Tasa de respuesta medida a través de los criterios RECIST: ≥ 5 CTC vs < 5 CTC: 14% (IC_{95%}=6-26%) vs 31% (IC_{95%}=18-45%), p=0.05</p> <p><u>Cambios CTC:</u> no signif.</p>

Estudio	Ma, 2014 ⁴⁸
Diseño del estudio	<p>Diseño: Meta-análisis</p> <p>Localización geográfica: No procede</p> <p>Nº pacientes: 1026 (9 estudios)</p> <p>Técnica: CellSearch®</p> <p>Momento determinación CTC: No consta</p>
Objetivos del estudio	Estudiar la correlación entre la supervivencia y el número de CTC o DTC en pacientes con CP
Características de los pacientes	<p>Edad: No consta</p> <p>Criterios inclusión: Medición CTC o DTC</p> <p>Criterios exclusión:</p> <p>Tratamiento recibido: No consta</p> <p>Tiempo de seguimiento: No consta</p> <p>Frecuencia de seguimiento: No consta</p>
Resultados	<p>SG (8 estudios, n=946): HR=2.36 (IC_{95%}=1.95-2.85), p<0.00001, I²=91%</p>
Calidad del estudio	Nivel 4
Comentarios	<p>Otros resultados de interés (se encontró un solo estudio con n=80, con lo que no cumpliría los criterios de inclusión):</p> <p>SLRb (1 estudio, n=80): HR=2.53 (IC_{95%}=1.66-3.85), p=0.0003, I²=50%</p>

DTC – células tumorales diseminadas, SLRb – supervivencia libre de recurrencia bioquímica (PSA)

Estudio	Scher 2009 ⁶⁵	
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva, multicéntrico Doble ciego Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 156 Técnica: CellSearch® Momento determinación CTC: Antes del inicio de tratamiento y antes de cada nuevo ciclo, hasta la progresión	
Objetivos del estudio	Estudiar la asociación entre diferentes definiciones de progresión según las CTC y el PSA y su relación con la supervivencia	
Características de los pacientes	Edad: Mediana 70 años (rango 49-87) Criterios inclusión: CPHRm, enfermedad progresiva, tratamiento de 1ª línea, no RT en los últimos 30 días, testosterona <50 ng/dl, PSA pre-tratamiento ≥5 ng/ml, ECOG 0-2 Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Docetaxel 81%, otro 18%, desconocido 1% Tiempo de seguimiento: Mediana 18.5 (IC _{95%} =14.2-22.4) meses en los muertos, 21.6 meses (rango 0.03-32.7) en los vivos Frecuencia de seguimiento: Antes de cada ciclo de QT hasta progresión	
Resultados	SG: <u>CTC basal:</u> HR=1.34 (1.17-1.53), p<0.0001 <u>CTC fold change 4 semanas:</u> HR=1.57 (1.27-1.94), p<0.0001 <u>CTC fold change 8 semanas:</u> HR=1.44 (1.21-1.72), p<0.0001 <u>CTC fold change 12 semanas:</u> HR=1.46 (1.23-1.66), p<0.0001	<u>Covariables:</u> CTC basal (<5, ≥5 CTC/7.5 ml), CTC fold change, LDH
Calidad del estudio	Nivel 3	
Comentarios	CPE del mejor modelo (CTC basal, CTC fold change, LDH): 0.72-0.75	

CPE – estimador de la probabilidad de concordancia

Estudio	Thalgott, 2013 ⁷⁰
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva Ciego (CTC) Localización geográfica: Alemania Nº pacientes: 75 (CPla n=20, CPHRm n=40, CPTRm n=15) Técnica: CellSearch® Comparador: TC, escáner óseo, RM (en CPla), PSA, LDH, ALP, Hb, calcio Momento determinación CTC: Antes de la prostatectomía radical (CPla), antes del inicio de tratamiento con docetaxel (CMHRm), al diagnóstico de la progresión (CPTRm)
Objetivos del estudio	Analizar el número de CTC, la tasa de detección de CTC y la proporción de pacientes con un número de CTC no favorable en diferentes estadios. Valorar el valor pronóstico del número de CTC para la presencia de enfermedad metastásica y SG
Características de los pacientes	Edad: CPla: Media 68.1 años, mediana 70 años (rango 52-77); CPHRm: media 69.3 años, mediana 70 años (rango 52-82); CPTRm: media 67.3 años, mediana 70 años (rango 44-82) Criterios inclusión: Adenocarcinoma de próstata Criterios exclusión: Historia de otra enfermedad maligna en los últimos 5 años Tratamiento recibido: CPHRm: prostatectomía radical 30.0%, EBRT 7.5%, tratamiento paliativo 62.5%, depleción de andrógenos 100.0%; CPTRm: prostatectomía radical 40.0%, EBRT 6.7%, tratamiento paliativo 53.3%, depleción de andrógenos 100.0%, docetaxel 100.0% Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	Supervivencia (CPHRm y CPTRm): <u>Umbral ≥ 5 CTC/7.5 ml:</u> Se=74%, Sp=67% (significativo para CPHRm p=0.026 pero no para CPTRm p=0.054) <u>Umbral ≥ 3 CTC/7.5 ml:</u> Se=87%, Sp=67%, AUC=0.78 (0.6-0.9), p<0.001
Calidad del estudio	Nivel 4

CPla – cáncer de próstata localmente avanzado, CPTRm – cáncer de próstata metastásico resistente a taxanos, EBRT – radioterapia de haz externo

Estudio	Thalgott, 2015 ⁷¹
Diseño del estudio	Diseño: Cohorte prospectiva Ciego Localización geográfica: Alemania Nº pacientes: 33 Técnica: CellSearch® Comparador: TC (criterios RECIST 1.1 (72)) después de los ciclos 4 y 10; pruebas de laboratorio (PSA, LDH y FFAA) - basal, después de los ciclos 1, 4 y 10; escáner óseo después de los ciclos 4 y 10 Momento determinación CTC: Basal, después del ciclo 1, 4 y 10 del tratamiento
Objetivos del estudio	Comparar el valor pronóstico del número de CTC post-tratamiento y el odds ratio para la predicción de la supervivencia
Características de los pacientes	Edad: Media 70 años, mediana 70 años (rango 53-82), Criterios inclusión: CPHRm, tratamiento de 1ª línea con docetaxel Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: Docetaxel cada 3 semanas (75 mg/m ²). Tratamiento primario: prostatectomía radical 27.3%, EBRT 12.1%, tratamiento paliativo 60.6%. Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: Después del 1er, 4º y 10º ciclo de tratamiento. Criterios RECIST 1.1 (72) y respuesta clínica objetiva (combinación de la condición médica del paciente, pruebas de imagen y laboratorio rutinarias (incl. escáner óseo, LDH, FFAA y PSA)
Resultados	Predicción muerte a 12 meses: <u>Ciclo 1:</u> CTC: Se=72.2%, Sp=86.7%, AUC=79.5%, p=0.004 Reducción PSA ≥50 %: Se=16.7%, Sp=93.3%, AUC=55.0%, p=0.6 <u>Ciclo 4:</u> CTC: Se=66.7%, Sp=86.7%, AUC=76.7%, p=0.009 Reducción PSA ≥50 %: Se=27.8%, Sp=46.7%, AUC=37.2%, p=0.2 RECIST: Se=44.4%, Sp=100%, AUC=72.2%, p=0.03 Respuesta clínica: Se=50.0%, Sp=100%, AUC=75.0%, p=0.015
Calidad del estudio	Nivel 2

EBRT – radioterapia de haz externo

Biopsias líquidas

Cáncer de mama

Estudio	Higgins, 2012 ⁷³
Diseño del estudio	<p>Diseño: Serie de casos; retrospectivo y prospectivo</p> <p>Ciego</p> <p>Localización geográfica: Retrospectivo: Alemania. Prospectivo: Estados Unidos</p> <p>Nº pacientes: Retrospectivo: n=49. Prospectivo: n=60.</p> <p>Técnica: BEAMing Digital PCR</p> <p>Mutación: PIK3CA</p> <p>Comparador: Secuenciación estándar del tejido tumoral (FFPE)</p> <p>Momento determinación ADNtp: Retrospectivo: recogida tumor y sangre el mismo día (biobanco). Prospectivo: recogida en momentos diferentes: mediana de diferencia 5.0 años (rango 0.26–23.9).</p>
Objetivos del estudio	<p>Describir las tasas de detección de mutaciones observadas (observed mutation detection) y concordancia, y sus implicaciones para la práctica clínica e investigación</p>
Características de los pacientes	<p>Edad: Mediana 62 años (rango 39-84)</p> <p>Sexo: 100%</p> <p>Criterios inclusión: CMm con evidencia patológica/ radiológica de enfermedad metastásica recurrente, disponibilidad de una muestra de tejido del tumor primario</p> <p>Criterios exclusión: No consta</p> <p>Tratamiento recibido: No consta</p> <p>Tiempo de seguimiento: No consta</p> <p>Frecuencia de seguimiento: No consta</p>
Resultados	<p><u>Retrospectivo:</u></p> <p>Concordancia tejido-sangre 100%, $\kappa=1.0$</p> <p><u>Prospectivo:</u></p> <p>Concordancia 72.5%, $\kappa=0.4829$ (0.22-0.74).</p> <p>BEAMing-secuenciación estándar en el tejido tumoral (n=41): concordancia 100%, $\kappa=1.0$</p>
Calidad del estudio	Nivel 3

FFPE - fijado en formol y embebido en parafina

Estudio	Beaver, 2014 ⁷⁵
Diseño del estudio	Diseño: Serie de casos prospectiva Localización geográfica: Estados Unidos Nº pacientes: 29 (30 tumores) Técnica: ddPCR™ Mutación: PIK3CA Comparador: Secuenciación de Sanger del tejido tumoral (FFPE) Momento determinación ADNtp:
Objetivos del estudio	Evaluar la capacidad de ddPCR™ para detectar las mutaciones PIK3CA en tumores primarios (FFPE) y en el plasma en pacientes con CM en estadios tempranos antes y después de la cirugía
Características de los pacientes	Edad: Mediana 60 años (rango 38-77) Sexo: No consta Criterios inclusión: CM estadios I-III antes del tratamiento quirúrgico Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: Mediana 36 meses Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	<u>Comparación tumor-sangre pre-cirugía:</u> Se=93.3% (75.5-93.3%), Sp=100% (82.2-100.0%), AG 96.7% (78.9-96.7%)
Calidad del estudio	Nivel 4

FFPE - fijado en formol y embebido en parafina

Estudio	Gevensleben, 2013 ⁷⁶
Diseño del estudio	Diseño: Serie de casos consecutiva prospectiva Ciego Localización geográfica: Reino Unido Nº pacientes: Cohorte de desarrollo: n=65. Cohorte de validación: n=58. Técnica: ddPCR™ Mutación: HER2:EFTUD2 (en 17q21.31) Comparador: Hercept test (3+) o FISH/SISH (HER2:CEP17 ratio ≥ 2.2) en el tumor primario o en la biopsia de la metástasis recurrente Momento determinación ADNtp: A la entrada en el estudio (al diagnosticar la progresión)
Objetivos del estudio	Estudiar si la PCR digital podría ser adaptada para detectar pequeños incrementos de las copias de genes en ADN plasmático que se asocian a amplificación específica para el cáncer. Desarrollar un ensayo para HER2 y demostrar la concordancia de la PCR digital con el estatus HER2 derivado del tumor y validarlo en una cohorte de validación independiente.
Características de los pacientes	Edad: Mediana 60 años (rango 30-83) Sexo: No consta Criterios inclusión: CMm con tratamiento previo y de progresión reciente Criterios exclusión: No consta Tratamiento recibido: No consta Tiempo de seguimiento: No consta Frecuencia de seguimiento: No consta
Resultados	<u>Cohorte de desarrollo:</u> AUC=0.92 (0.86–0.99), p=0.0003. <u>Cohorte de validación:</u> Se=64%, Sp=94%, VPP=70%, VPN= 92%
Calidad del estudio	Nivel 2

CEP-17 – centrómero del cromosoma 17, FISH/SISH - hibridación fluorescente in situ/ hibridación in situ con plata

Referencias

1. Fehm T, Sagalowsky A, Clifford E, Beitsch P, Saboorian H, Euhus D, et al. Cytogenetic evidence that circulating epithelial cells in patients with carcinoma are malignant. *Clin Cancer Res.* 2002;8(7):2073–84.
2. 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.
3. Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *Aust Med J.* 1869;14:146–9.
4. Bork U, Rahbari NN, Scholch S, Reissfelder C, Kahlert C, Buchler MW, et al. Circulating tumour cells and outcome in non-metastatic colorectal cancer: A prospective study. *Br J Cancer* 2015;112(8):1306–13.
5. 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.
6. 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(19):3213–21.
7. 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(19):6302–9.
8. Franken B, De Groot MR, Mastboom WJB, Vermes I, van der Palen J, Tibbe AGJ, et al. Circulating tumor cells, disease recurrence and survival in newly diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2012;14(5):R133.
9. Rack B, Schindlbeck C, Juckstock J, Andergassen U, Hepp P, T. Z, et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(5):1–11.
10. Edge S, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC Cancer Staging Manual.* 7th ed. New York: Springer-Verlag; 2010. 648 p.
11. Tinhofer I, Saki M, Niehr F, Keilholz U, Budach V. Cancer stem cell characteristics of circulating tumor cells. *Int J Radiat Biol.* 2014;90(8):622–7.
12. Schwarzenbach H, Stoehlmacher J, Pantel K, Goekkurt E. Detection and monitoring of cell-free DNA in blood of patients with colorectal cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1137:190–6.

13. Schwarzenbach H, Alix-Panabieres C, Muller I, Letang N, Vendrell J-P, Rebillard X, et al. Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(3):1032–8.
14. Schwarzenbach H, Muller V, Milde-Langosch K, Steinbach B, Pantel K. Evaluation of cell-free tumour DNA and RNA in patients with breast cancer and benign breast disease. *Mol Biosyst.* 2011;7(10):2848–54.
15. Diaz LAJ, Williams RT, Wu J, Kinde I, Hecht JR, Berlin J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature* 2012;486(7404):537–40.
16. 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(7404):532–6.
17. EUCAN. Country factsheets [Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2012. [Último acceso 15 de septiembre 2015]. Disponible en: <http://eco.iarc.fr/EUCAN/Country.aspx?ISOCountryCd=724>
18. Meleth S, Reeder-Hayes K, Ashok M, Clark R, Funkhouser W, Wines R, et al. Technology assessment of molecular pathology testing for the estimation of prognosis for common cancers. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality; 2014.
19. Van Poznak C, Somerfield MR, Bast RC, Cristofanilli M, Goetz MP, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on systemic therapy for women with metastatic breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical practice guideline. *J Clin Oncol.* 2015;33(24):2695–704.
20. Lin NU, Thomssen C, Cardoso F, Cameron D, Cufer T, Fallowfield L, et al. International guidelines for management of metastatic breast cancer (MBC) from the European School of Oncology (ESO)–MBC Task Force: Surveillance, staging, and evaluation of patients with early-stage and metastatic breast cancer. *Breast* 2013;22(3):203–10.
21. Andre T, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(19):3109–16.
22. Sotelo MJ, Sastre J, Maestro ML, Veganzones S, Vieitez JM, Alonso V, et al. Role of circulating tumor cells as prognostic marker in resected stage III colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2015;26:535–41.
23. Tournigand C, Cervantes A, Figer A, Lledo G, Flesch M, Buyse M, et al. OPTIMOX1: a randomized study of FOLFOX4 or FOLFOX7 with oxaliplatin in a stop-and-Go fashion in advanced colorectal cancer--a GERCOR study. *J Clin Oncol.* 2006;24(3):394–400.

24. Maindrault-Goebel F, Lledo G, Chibaudel B, Mineur L, Andre T, Bennamoun M, et al. Final results of OPTIMOX2, a large randomized phase II study of maintenance therapy or chemotherapy-free intervals (CFI) after FOLFOX in patients with metastatic colorectal cancer (MRC): A GERCOR study. *J Clin Oncol*. 2007;25(18_Supplement):4013.
25. Granado de la Orden S, Saa Requejo C, Quintas Viqueira A. [Epidemiological situation of prostate cancer in Spain]. *Actas Urol Esp*. 2006;30(6):574–82.
26. Lujan M, Paez A, Angulo JC, Granados R, Nevado M, Torres GM, et al. Prostate cancer incidence and mortality in the Spanish section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ER-SPC). *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2014;17(2):187–91.
27. Sutcliffe P, Hummel S, Simpson E, Young T, Rees A, Wilkinson A, et al. Use of classical and novel biomarkers as prognostic risk factors for localised prostate cancer: a systematic review. *Health Technol Assess*. 2009;13(5).
28. Doyen J, Alix-Panabieres C, Hofman P, Parks SK, Chamorey E, Naman H, et al. Circulating tumor cells in prostate cancer: A potential surrogate marker of survival. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2012;81(3):241–56.
29. Pal SK, He M, Wilson T, Liu X, Zhang K, Carmichael C, et al. Detection and phenotyping of circulating tumor cells in high-risk localized prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2014;13:1–7.
30. CellSearch® CTC Test. Resource library [Internet]. Janssen Diagnostics, LLC; 2015. [Último acceso 15 de septiembre 2015]. Disponible en: <https://www.cellsearchctc.com/support-resources/resource-library?&tab=2>
31. IsoFlux Liquid Biopsy. Publications, Application Notes, Protocols & Posters [Internet]. San Francisco (CA): Fluxion Biosciences Inc; 2015. [Último acceso 15 de septiembre 2015]. Disponible en: <http://support.fluxionbio.com/hc/en-us/sections/200506188-Publications-Application-Notes-Protocols-Posters>
32. Droplet Digital™ PCR: Publications list [Internet]. Bio-Rad Laboratories, Inc.; 2015. [Último acceso 15 de septiembre 2015]. Disponible en: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6450.pdf
33. Scientific literature [Internet]. Sysmex Inostics; 2015. [Último acceso 15 de septiembre 2015]. Disponible en: <http://www.sysmex-inostics.com/science-and-technology/scientific-literature.html>
34. Rector TS, Taylor BC, Wilt TJ. Systematic Review of Prognostic Tests. In: Chang SM, Matchar DB, Smetana GW, Umscheid CA, editors. *Methods Guide for Medical Test Reviews*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality; 2012.

35. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ*. 2009;339:b2700.
36. Altman DGG, Riley RDD. Primer: an evidence-based approach to prognostic markers. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005;2:466–72.
37. OCEBM Levels of Evidence Working Group. The Oxford Levels of Evidence 2 [Internet]. Oxford Centre for Evidence-Based Medicine; 2011. Available from: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>
38. Aguado MJ. Identificación de células tumorales circulantes en el cáncer de mama metastásico mediante CellSearch™ System. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía; 2006. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/1337163261identificacion_CellSearch.pdf
39. Ellery B, Hiller J. CellSearch®: detection of circulating tumour cells for the prognosis and improved management of cancer patients [Internet]. Adelaide: Commonwealth of Australia; 2010. Disponible en: [http://www.horizonscanning.gov.au/internet/horizon/publishing.nsf/Content/C8A5BA60BD01A93ECA257757000A2015/\\$File/PS_CellSearch - tumour cells.pdf](http://www.horizonscanning.gov.au/internet/horizon/publishing.nsf/Content/C8A5BA60BD01A93ECA257757000A2015/$File/PS_CellSearch - tumour cells.pdf)
40. Bidard FC, Mathiot C, Delaloge S, Brain E, Gichetti S, de Cremoux P, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2010;21(4):729-733.
41. Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN, Winer EP, Leyland-Jones B, Srkalovic G, et al. Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500. *J Clin Oncol*. 2014;32(31):3483–9.
42. Muller V, Riethdorf S, Rack B, Janni W, Fasching PAA, Solomayer E, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells assessed with the CellSearch System and AdnaTest Breast in metastatic breast cancer patients: the DETECT study. *Breast Cancer Res*. 2012;14:R118.
43. Pierga JY, Hajage D, Bachelot T, Delaloge S, Brain E, Campone M, et al. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2012;23(3):618–24.
44. Bidard FC, Hajage D, Bachelot T, Delaloge S, Brain E, Campone M, et al. Assessment of circulating tumor cells and serum markers for progression-free survival prediction in metastatic breast cancer: A prospective observational study. *Breast Cancer Res*. 2012;14(1):R29.

45. Wallwiener M, Hartkopf AD, Baccelli I, Riethdorf S, Schott S, Pantel K, et al. The prognostic impact of circulating tumor cells in subtypes of metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;137(2):503–10.
46. Jiang ZF, Cristofanilli M, Shao ZM, Tong ZS, Song EW, Wang XJ, et al. Circulating tumor cells predict progression-free and overall survival in Chinese patients with metastatic breast cancer, HER2-positive or triple-negative (CBCSG004): A multicenter, double-blind, prospective trial. *Ann Oncol.* 2013;24(11):2766–72.
47. Martín M, Custodio S, de Las Casas ML, Garcia-Saenz JA, de la Torre JC, Bellon-Cano JM, et al. Circulating tumor cells following first chemotherapy cycle: an early and strong predictor of outcome in patients with metastatic breast cancer. *Oncologist.* 2013;18:917–23.
48. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(3):205–16.
49. Wallwiener M, Riethdorf S, Hartkopf AD, Modugno C, Nees J, Madhavan D, et al. Serial enumeration of circulating tumor cells predicts treatment response and prognosis in metastatic breast cancer: A prospective study in 393 patients. *BMC Cancer.* 2014;14(1):512.
50. Cristofanilli M, Broglio KR, Guarneri V, Jackson S, Fritsche HA, Islam R, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: Biologic staging beyond tumor burden. *Clin Breast Cancer.* 2007;7(6):34–42.
51. Dawood S, Broglio K, Valero V, Reuben J, Handy B, Islam R, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: from prognostic stratification to modification of the staging system? *Cancer.* 2008;113:2422–30.
52. de Giorgi U, Valero V, Rohren E, Mego M, Doyle G V, Miller MC, et al. Circulating tumor cells and bone metastases as detected by FDG-PET/CT in patients with metastatic breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21:33–9.
53. Giordano A, Giuliano M, de Laurentiis M, Arpino G, Jackson S, Handy BC, et al. Circulating tumor cells in immunohistochemical subtypes of metastatic breast cancer: Lack of prediction in HER2-positive disease treated with targeted therapy. *Ann Oncol.* 2012;23(5):1144–50.
54. Giuliano M, Giordano A, Jackson S, Hess KR, de Giorgi U, M. M, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Res.* 2011;13(3):R67.
55. Giordano A, Giuliano M, de Laurentiis M, Eleuteri A, Iorio F, Tagliaferri R, et al. Artificial neural network analysis of circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;129:451–8.

56. Giordano A, Egleston BL, Hajage D, Bland J, Hortobagyi GN, Reuben JM, et al. Establishment and validation of circulating tumor cell-based prognostic nomograms in first-line metastatic breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2013;19(6):1596–602.
57. Munzone E, Botteri E, Sandri MT, Esposito A, Adamoli L, Zorzino L, et al. Prognostic value of circulating tumor cells according to immunohistochemically defined molecular subtypes in advanced breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2012;12(5):340–6.
58. Peeters DJ, van Dam PJ, Van den Eynden GG, Rutten A, Wuyts H, Pouillon L, et al. Detection and prognostic significance of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer according to immunohistochemical subtypes. *Br J Cancer.* 2014;110:375–83.
59. Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, Nole F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014;15:406–14.
60. Zhang L, Riethdorf S, Wu G, Wang T, Yang K, Peng G, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(20):5701–10.
61. 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.
62. Aggarwal C, Meropol NJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, et al. Relationship among circulating tumor cells, CEA and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2013;24(2):420–8.
63. Sastre J, Maestro ML, Gomez-España A, Rivera F, Valladares M, Masuti 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.
64. Seeberg LT, Waage A, Brunborg C, Hugenschmidt H, Renolen A, Stav I, et al. Circulating tumor cells in patients with colorectal liver metastasis predict impaired survival. *Ann Surg.* 2015;261:164–71.
65. Huang X, Gao P, Song Y, Sun J, Chen X, Zhao J, et al. Relationship between circulating tumor cells and tumor response in colorectal cancer patients treated with chemotherapy: A meta-analysis. *BMC Cancer.* 2014;14(1):1–15.
66. Huang X, Gao P, Song Y, Sun J, Chen X, Zhao J, 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.

67. Goldkorn A, Ely B, Quinn DI, Tangen CM, Fink LM, Xu T, et al. Circulating tumor cell counts are prognostic of overall survival in SWOG S0421: a phase III trial of docetaxel with or without atrasentan for metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2014;32(11):1136–42.
68. Ma X, Xiao Z, Li X, Wang F, Zhang J, Zhou R, et al. Prognostic role of circulating tumor cells and disseminated tumor cells in patients with prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol*. 2014;35(6):5551–60.
69. Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, et al. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol*. 2009;10(3):233–9.
70. Thalgott M, Rack B, Maurer T, Souvatzoglou M, Eiber M, Kress V, et al. Detection of circulating tumor cells in different stages of prostate cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013;139(5):755–63.
71. Thalgott M, Heck MM, Eiber M, Souvatzoglou M, Hatzichristodoulou G, Kehl V, et al. Circulating tumor cells versus objective response assessment predicting survival in metastatic castration-resistant prostate cancer patients treated with docetaxel chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015;141(8):1457–64.
72. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228–47.
73. Higgins MJ, Jelovac D, Barnathan E, Blair B, Slater S, Powers P, et al. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. *Clin Cancer Res*. 2012;18:3462–9.
74. Beaver JA, Jelovac D, Balukrishna S, Cochran RL, Croessmann S, Zabransky DJ, et al. Detection of cancer DNA in plasma of patients with early-stage breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(10):2643–50.
75. Gevensleben H, Garcia-Murillas I, Graeser MK, Schiavon G, Osin P, Parton M, et al. Noninvasive detection of HER2 amplification with plasma DNA digital PCR. *Clin Cancer Res*. 2013;19:3276–84.
76. Helissey C, Berger F, Cottu P, Dieras V, Mignot L, Servois V, et al. Circulating tumor cell thresholds and survival scores in advanced metastatic breast cancer: the observational step of the CirCe01 phase III trial. *Cancer Lett*. 2015;360:213–8.
77. Beije N, Jager A, Sleijfer S. Circulating tumor cell enumeration by the CellSearch system: the clinician's guide to breast cancer treatment? *Cancer Treat Rev*. 2015;41(2):144–50.
78. Cardoso F, Costa A, Norton L, Senkus E, Aapro M, Andre F, et al. ESO-ESMO 2nd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC2). *Ann Oncol*. 2014;25(10):1871–88.

79. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer*. 1981;47(1):207–14.
80. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. *Cómo se regulan los medicamentos y productos sanitarios en España*. 2ª ed. Madrid: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 2014. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/regulacion_med-PS/v2/docs/reg_med-PS-v2-light.pdf
81. Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de octubre de 1998 sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro. *Diario Oficial de la Unión Europea*, de 07-12-1998, pp.1-37.



Comunidad
de Madrid

Dirección General de Planificación,
Investigación y Formación
CONSEJERÍA DE SANIDAD

www.madrid.org