REF 7900001
16 Test Kit

CellSearch®

# Circulating Tumor Cell Kit (Epitelial)

IVD

MENARINI silicon biosystems



e631600005_ES
LBL-0018

## USO PREVISTO

**Para uso en diagnóstico *in vitro*.**

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit está destinado a la enumeración de células tumorales circulantes (CTC) de origen epitelial (CD45-, EpCAM+, y citoqueratinas 8, 18+ y/o 19+) en sangre total.

La presencia de CTC en la sangre periférica detectada con CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, está asociada a una supervivencia sin progresión reducida y a una supervivencia global reducida en pacientes tratados de cáncer de mama, colorrectal o de próstata metastásico*. Esta prueba se utiliza para ayudar en la monitorización de pacientes con cáncer de mama, colorrectal o de próstata metastásico. Para monitorizar el cáncer de mama, colorrectal y de próstata deben usarse pruebas en serie para CTC junto a otros métodos clínicos. Una evaluación de CTC en cualquier momento durante la enfermedad permite valorar el pronóstico del paciente y predecir una supervivencia sin progresión y una supervivencia global.

**La definición de los pacientes con cáncer de próstata metastásico de este estudio consiste en dos aumentos consecutivos del marcador sérico PSA sobre un nivel de referencia, a pesar del tratamiento hormonal estándar. Estos pacientes suelen describirse como con cáncer de próstata andrógeno-independiente, resistente a las hormonas y resistente a la castración.*

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La metástasis en el cáncer se produce cuando las células desplazadas de un tumor primario o metastásico se introducen en el sistema circulatorio y comienzan a crecer en lugares distantes del organismo. Los carcinomas proceden de células epiteliales que por regla general no se encuentran en el sistema circulatorio.[1] CELLTRACKS® AUTOPREP® System ha sido diseñado para estandarizar y automatizar el protocolo de preparación de muestras para su uso con CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH® CTC Kit). El análisis y la enumeración de las CTC se realiza utilizando CELLTRACKS ANALYZER II®, un microscopio de fluorescencia semiautomático. El ensayo enumera sólo las células que expresan la molécula de adhesión de célula epitelial (EpCAM) y citoqueratinas (CK) 8, 18 y/o 19.

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit contiene un reactivo de captura basado en un ferrofluido y reactivos inmunofluorescentes. El reactivo de ferrofluido consiste en partículas con un núcleo magnético rodeado de una capa polimérica revestida con anticuerpos dirigidos al antígeno EpCAM para la captura de las CTC. Tras la captura inmunomagnética y el enriquecimiento, se añaden los reactivos fluorescentes para la identificación y enumeración de las CTC. Los reactivos fluorescentes incluyen: anti-CK-Phycoerythrin (PE) específico para la proteína citoqueratina intracelular (característica de células epiteliales), DAPI que tiñe el núcleo celular y anti-CD45-Allophycocyanin (APC) específico para leucocitos.

La mezcla reactivo/muestra se administra mediante CELLTRACKS® AUTOPREP® System en un cartucho que se introduce en un soporte de cartuchos MAGNEST. El fuerte campo magnético del soporte de cartuchos MAGNEST atrae a las células epiteliales marcadas magnéticamente hacia la superficie del cartucho. CELLTRACKS ANALYZER II® explora automáticamente toda la superficie del cartucho, adquiere las imágenes y muestra al usuario cualquier evento donde CK-PE y la fluorescencia DAPI aparecen en el mismo lugar. Las imágenes son presentadas al usuario en un formato de galería para su clasificación final. Un evento es clasificado como célula tumoral cuando sus características morfológicas son coherentes con las de una célula tumoral y muestra el fenotipo EpCAM+, CK+, DAPI+ y CD45-.

## MATERIALES PROPORCIONADOS

- Instrucciones de uso
- **Ferrofluido Anti-EpCAM de 3,0 mL:** Contiene una suspensión del 0,022% de partículas magnéticas conjugadas con un anticuerpo monoclonal de ratón específico para el marcador de superficie celular EpCAM presente en células epiteliales en una solución tampón que contiene un 0,03% de albúmina de suero bovino (BSA) y un 0,05% de conservante ProClin® 300. (tapa marrón)
- **3,0 mL de reactivo de tinción:** Contiene un 0,0006% de anticuerpos monoclonales de ratón específicos para las citoqueratinas conjugadas con phycoerythrin (PE); un 0,0012% de anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD45 conjugado con allophycocyanin (APC) en una solución tampón que contiene un 0,5% de BSA y un 0,1% de azida de sodio. (tapa blanca)
- **3,0 mL de colorante de ácido nucléico:** Contiene un 0,005% de 4', 6- diamidino- 2- fenilindol, diclorhidrato (DAPI) y un 0,05% de ProClin® 300. (tapa azul)
- **3,0 mL de reactivo enriquecedor de captura:** Contiene un 0,02% de reactivo específico para la agregación de ferrofluido controlada, un 0,5% de BSA y un 0,1% de azida de sodio en una solución tampón. (tapa transparente)
- **3,0 mL de reactivo de permeabilización:** Contiene un 0,011% de reactivo de permeabilización específico y un 0,1% de azida de sodio en una solución tampón. (tapa verde)
- **Fijador celular de 3,0 mL:** Contiene un 25% de ingredientes fijadores específicos, un 0,1% de BSA y un 0,1% de azida de sodio en una solución tampón. (tapa roja)
- **Botella de 2 x 110 mL de solución tampón de dilución:** Contiene una solución tampón con un 0,1% de azida de sodio.

- **16 Tubos cónicos de centrífuga (15 mL) y tapas para tubos cónicos CELLSEARCH®**
- **16 cartuchos y tapones de cartuchos**

## MATERIALES NECESARIOS, NO PROPORCIONADOS

- CellSave Preservative Tubes (7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® System (9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® ( #9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® Instrument Buffer (7901003)
- Centrífuga de rotor horizontal oscilante con capacidad de 800 x g
- Gradilla portatubo
- Micro-pipetas calibradas y puntas
- Mezclador (vórtex)

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Lea todo el contenido de estas Instrucciones de uso antes de realizar pruebas con las muestras.
3. Precaución: recoja la sangre sólo en un CellSave Preservative Tube. Las CTC son delicadas y es necesario preservarlas para que el análisis sea preciso.
4. Precaución: todo el personal debe seguir precauciones generales y utilizar equipamiento de seguridad para el laboratorio (como gafas de seguridad, batas de laboratorio o guantes).
5. Precaución: la contaminación microbiana de los reactivos puede provocar resultados erróneos y en consecuencia debe ser evitada.
6. Precaución: Algunos de los reactivos contienen azida de sodio como conservante. En caso de ser ingerido, busque inmediatamente consejo médico. Manténgalo fuera del alcance de los niños. Manténgalo alejado de comidas y bebidas. Vista la ropa protectora adecuada. Al contacto con ácidos se libera un gas muy tóxico. Los compuestos de azida deben eliminarse por el desagüe con abundante agua para evitar que se formen depósitos en las tuberías de plomo o cobre, donde pueden desarrollarse condiciones explosivas.
7. **Advertencia:** Se considera que todos los especímenes biológicos, cartuchos y el resto de material susceptible de entrar en contacto con los especímenes implican un riesgo biológico. Manipúlelos como haría con cualquier material que pueda transmitir infecciones. Trate y elimine los desperdicios con las debidas precauciones y de acuerdo con las normas locales y estatales. No utilice las pipetas con la boca.
8. **Advertencia:** Algunos de los reactivos contienen ProClin® 300 como conservante.
9. Es necesaria la formación de los operadores para realizar el procedimiento de la prueba.

## A CONTINUACIÓN SE ESPECIFICAN LAS DECLARACIONES DE PELIGROS Y PRECAUCIONES:

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Prevención:

P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P272 Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
P280 Llevar guantes de protección.

Respuesta:

P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico.
P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Eliminación:

P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Para obtener información adicional, consulte la ficha de seguridad www.cellsearchctc.com

## MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

- Los reactivos se entregan listos para su uso. Almacénelos sin abrir a una temperatura de 2 y 8 °C.
- Una vez abiertos, los reactivos del kit de reactivos se deberán guardar durante un máximo de 30 días a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Para guardarlos, los reactivos abiertos **se deben** volver a tapar con sus tapas de color específico, con arreglo a la leyenda de colores que figura en las etiquetas de la bandeja de reactivos a modo de orientación. De este modo, se garantiza la ausencia de contaminación cruzada.
- NOTA: Una vez abierta, la botella de solución tampón de dilución, que no forma parte del kit de reactivo, debe conservarse a temperatura ambiente durante no más de 30 días.
- Proteja a los reactivos de temperaturas superiores a 35 °C. No los congele.
- Procure que se encuentren a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes de usarlos.

- Observe si en el kit de reactivos los reactivos están colocados en la posición correcta: para ello compruebe si la tapa de color específico de cada reactivo se corresponde con los colores indicados en la etiqueta. Consulte en la fotografía las posiciones correctas de los reactivos. En caso de descubrir que los reactivos están en una posición incorrecta o si hay frascos duplicados, no utilice el kit de reactivos y pida un kit de repuesto a los Servicios de Asistencia Técnica al Cliente.

- No exponga los reactivos a la luz solar.
- Si se almacenan adecuadamente, los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el contenedor del reactivo o la caja del kit. No utilice reactivos caducados.
- Los componentes del kit han sido fabricados y verificados como un lote maestro. **No** mezcle ni sustituya reactivos de kits diferentes.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

**Recogida y preparación de especímenes**

Recogida de sangre total en CellSave Preservative Tubes

1. Extraiga muestras iniciales antes de comenzar un régimen de terapia. Las muestras posteriores pueden extraerse después del inicio de un régimen de terapia, normalmente en intervalos de 3 a 4 semanas, para seguir los niveles de CTC durante el tratamiento. Si el paciente está siendo sometido a una terapia con doxorubicina, espere a que transcurran al menos 7 días desde la administración de una dosis de doxorubicina antes de extraer sangre.
2. Recoja la sangre total asépticamente mediante venopunción o de un puerto venoso en un CellSave Preservative Tube exclusivamente.
3. Rellene el tubo hasta que se detenga el flujo de sangre, para asegurar la relación correcta de la muestra con el anticoagulante y el conservante. Mezcle inmediatamente invirtiendo cuidadosamente el tubo ocho veces. La inversión del tubo evita la coagulación. Una mezcla inadecuada o tardía puede provocar resultados imprecisos en la prueba.
4. Las muestras de sangre se pueden almacenar o transportar en un CellSave Preservative Tube. Consulte las instrucciones del CellSave Preservative Tube en lo que se refiere al procesamiento, almacenamiento y manipulación. No refrigere las muestras.

**PRECAUCIÓN**: Compruebe visualmente en cada muestra la ausencia de coagulación antes de procesarlas con CELLTRACKS® AUTOPREP® System. Las muestras coaguladas deben desecharse.

**Procesamiento con CELLTRACKS® AUTOPREP® System**

1. Mezcle la sangre en el CellSave Preservative Tube invirtiéndolo manualmente cinco veces. A continuación, quite el tapón de goma.
2. Con una pipeta nueva, transfiera 7,5 mL de sangre desde el CellSave Preservative Tube al tubo cónico de centrífuga CELLSEARCH® de 15 mL etiquetado correspondientemente, que se incluye en el kit CTC de CELLSEARCH®.
3. Con una pipeta nueva, añada 6,5 mL de solución de tampón de dilución.
4. Tape el tubo cónico de centrífuga CELLSEARCH® y mezcle por inversión cinco veces.
5. Centrifugue la muestra a 800 x g durante 10 minutos sin freno de parada con una centrífuga de rotor oscilante. Los 10 minutos de la centrifugación no tienen en cuenta el tiempo necesario para alcanzar los 800 x g. Configure el freno para que se detenga o si su centrífuga dispone de una función de freno variable, establezca su configuración en el valor más bajo. Centrifugue a temperatura ambiente utilizando una centrífuga con control de temperatura. Después de la centrifugación de la muestra, inspeccione visualmente todos los tubos de muestras para comprobar la separación de plasma y glóbulos rojos.
6. Procese en el CELLTRACKS® AUTOPREP® System **en la hora siguiente** a la preparación de la muestra anterior. Consulte la Guía del usuario de CELLTRACKS® AUTOPREP® System para ver las instrucciones completas.

**Análisis utilizando CELLTRACKS ANALYZER II®**

CELLTRACKS® AUTOPREP® System dispensa la muestra procesada en un cartucho listo para el análisis con CELLTRACKS ANALYZER II®. Se debe dejar que el cartucho lleno que hay dentro del soporte de cartuchos MAGNEST incube en la oscuridad durante un mínimo de 20 minutos y realizar el análisis en un intervalo de 24 horas. Consulte las guías de usuario de CELLTRACKS ANALYZER II® para conocer las instrucciones relativas al análisis de la muestra y a la revisión de datos.

## CONTROL DE CALIDAD

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (n.º de catálogo 7900003), comprueba el rendimiento general del sistema, incluidos los instrumentos, los reactivos y la técnica del usuario. Cada día de prueba del paciente debe ejecutarse un control de células tumorales circulantes o cada vez que se use un nuevo lote de CELLSEARCH® CTC Kit. Consulte el uso y los valores esperados en las instrucciones de uso de CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados indican el número de CTC / 7,5 mL de sangre.

**Cáncer de mama metastásico (MBC)**

Un recuento CTC de **5** o más por 7,5 mL de sangre en cualquier fase de la enfermedad se asocia a un pronóstico malo y es predictivo de una supervivencia sin progresión y una supervivencia global más cortas.

**Cáncer colorrectal metastásico (MCRC)**

Un recuento CTC de **3** o más por 7,5 mL de sangre en cualquier fase de la enfermedad se asocia a un pronóstico malo y es predictivo de una supervivencia sin progresión y una supervivencia global más cortas.

**Cáncer de próstata metastásico (MPC)**

Un recuento CTC de **5** o más por 7,5 mL de sangre en cualquier fase de la enfermedad se asocia a un pronóstico malo y es predictivo de una supervivencia sin progresión y una supervivencia global más cortas.

**Precaución**

La contaminación por arrastre en una muestra para recuento de CTC con **5000 o más** CTC por 7,5 mL de sangre puede afectar las muestras que se procesen después en el CELLTRACKS® AUTOPREP® System, incluido el lote siguiente. Si pasan células a muestras posteriores, los recuentos de CTC de estas muestras pueden ser equívocamente mayores que el recuento real de CTC del paciente. **Consulte la Guía del usuario de CELLTRACKS® AUTOPREP® para obtener más información.**

## LIMITACIONES

- Precaución: La ley federal de EE. UU. limita la venta de este dispositivo a médicos o por orden facultativa.
- Los resultados de CELLSEARCH® deben utilizarse de manera conjunta a la información clínica obtenida de las pruebas diagnósticas (como adquisición de imágenes o pruebas de laboratorio), un examen físico y un historial médico completo de acuerdo a los correspondientes procedimientos de dirección de pacientes.
- Este estudio *pronóstico* no demuestra que *ninguna* línea de terapia actual sea más o menos eficaz que cualquier otra o que la ausencia de toda terapia.
- Los resultados de CELLSEARCH® y los resultados de adquisición de imágenes no son equivalentes en la valoración de la transición de pacientes de la enfermedad no progresiva a progresiva.
- Si el paciente está siendo sometido a una terapia con doxorubicina, espere a que transcurran al menos 7 días desde la administración de una dosis terapéutica antes de extraer sangre. Los resultados de la prueba de CELLSEARCH® deben interpretarse con cautela si las muestras han sido obtenidas en los 7 días posteriores a la administración de doxorubicina.
- Las CTC que no expresan EpCAM no serán detectadas por la prueba CELLSEARCH®.
- Las CTC que expresan EpCAM pero no citoqueratinas 8, 18 y 19 no serán detectadas por la prueba CELLSEARCH®.
- Sustancias interferentes:
  Células SK-BR-3 enriquecidas en muestras de sangre fueron expuestas a sustancias potencialmente interferentes y comparadas con controles no tratados. Fueron analizados los niveles tóxicos (5 veces el índice terapéutico) de los siguientes medicamentos para el cáncer, medicamentos sin receta y otras sustancias exógenas: ciclofosfamida, Mitomycin C®, Procrit®, biotina, 5-fluorouracil, metotrexato, tamoxifen citrato, paclitaxel, Arimidex®, acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, cafeína, dextrometorfano, Aredia®, anticuerpo humano antiratón (HAMA) tipo 1, HAMA tipo 2, Herceptin® e ibuprofeno. No se detectaron diferencias significativas en el número de células SK-BR-3, lo que indica que estas sustancias no interfieren con el kit CELLSEARCH® CTC.

Las muestras enriquecidas con niveles tóxicos de doxorubicina resultaron en un teñido aberrante de leucocitos como citoqueratina y células CD45 dualmente positivas, debido a que la doxorubicina es un compuesto fluorescente que se incorpora a las células nucleadas. Cuando se observa, el patrón de teñido de todas las células CD45 positivas y citoqueratina positiva resulta obvio y fácilmente identificable por el operador como un perfil de teñido de interferencia conocido. Si se extrae sangre después del periodo de eliminación recomendado de 7 días, tras la infusión de doxorubicina, es raro observar esta interferencia en la práctica clínica dados los niveles terapéuticos controlados y la rápida eliminación del medicamento.

Se ha estudiado la interferencia potencial de lipemia añadiendo Intralipid a muestras en una concentración del 2,6%, que corresponde a más de 1000 mg/dL de triglicérido. Las muestras fueron lisadas para simular una hemólisis total. Se estudiaron la bilirrubina al 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 y el hematocrito a partir de 18-60%. Lipemia, hemólisis, ictericia y una amplia gama de valores de hematocrito no interfieren con la prueba de CELLSEARCH®. Asimismo, HAMA 1 y HAMA 2 tampoco interfieren, lo que indica que los individuos que reciben Ig de ratón por rutas parenterales pueden someterse a la prueba CELLSEARCH® satisfactoriamente.

## VALORES ESPERADOS

***Voluntarios sanos, enfermedad de mama no maligna, otras enfermedades no malignas***

Los análisis de CTC en un punto fueron realizados en grupos de control de 145 voluntarios sanos, 101 mujeres con enfermedad de mama no maligna y 99 mujeres con otras enfermedades no malignas. No se espera que haya presentes células epiteliales en la sangre periférica de individuos sanos. De las 345 muestras totales de voluntarios sanos y mujeres con enfermedades no malignas, sólo una presentó más de 5 CTC/7,5 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**.

**Tabla 1. Sujetos de control**

| Categoría | N | N.º CTC promedio | SD | N.º de pacientes con ≥ 5 CTC | Mín.* | Máx.* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sanos** | 145 | 0,1 | 0,2 | 0 | 0 | 1 |
| **Enfermedad de mama no maligna** | 101 | 0,2 | 1,2 | 1 | 0 | 12 |
| **Otras enfermedades no malignas** | 99 | 0,1 | 0,4 | 0 | 0 | 3 |

* Pauta del NCCLS C28-A2[3]

***Voluntarios sanos, enfermedad colorrectal no maligna***

La sangre fue extraída de hombres y mujeres sanos de 35 o más años de edad. Estos voluntarios sanos se inscribieron en tres centros de EE.UU. Para los propósitos de este estudio, se extrajeron dos tubos de sangre de cada sujeto y en ambos se evaluaron los niveles de CTC. Hubo un total de 150 sujetos evaluables con una o ambas alícuotas separadas de 7,5 mL de sangre procesada para CTC. No todos los sujetos evaluables disponían de resultados de CTC de ambos tubos. El número medio de células tumorales circulantes fue de 0,0 para ambos grupos de sujetos, con desviaciones estándar de 0,1 a 0,2. De las 284 muestras totales de voluntarios sanos (hombres y mujeres), ninguna presentó más de 3 CTC/7,5 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 2.**

**Tabla 2. Resultados de la prueba CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell en sujetos de control**

| Sanos Controles | Todos los controles | | | Sólo hombres | | | Sólo mujeres | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Tubo 1 | Tubo 2 | Total | Tubo 1 | Tubo 2 | Total | Tubo 1 | Tubo 2 | Total |
| **N** | 149 | 135 | 284 | 68 | 64 | 132 | 81 | 71 | 152 |
| **Intervalo CTC** | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 |
| **CTC promedio** | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| **SD de CTC** | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| **N (%) ≥ 1 CTC** | 2 (1%) | 4 (3%) | 6 (2%) | 1 (1%) | 1 (2%) | 2 (2%) | 1 (1%) | 3 (4%) | 4 (3%) |
| **N (%) ≥ 2 CTC** | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |

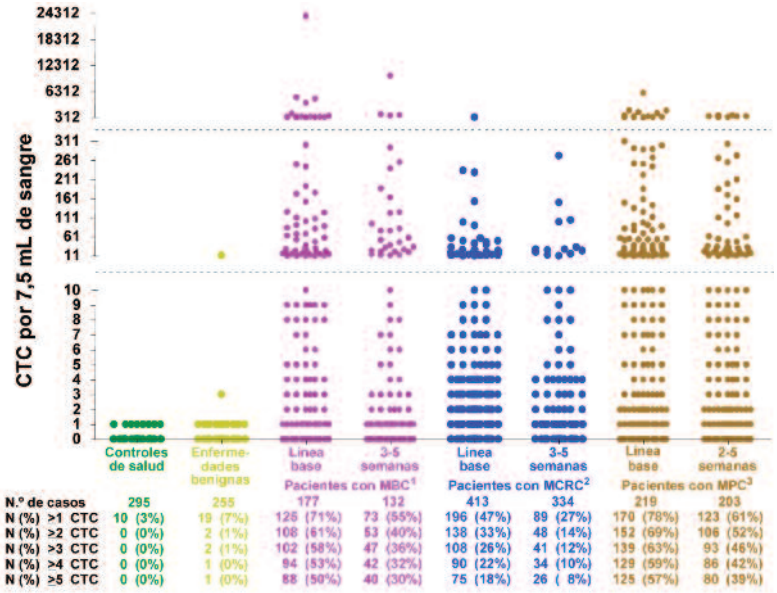
Se recogieron aproximadamente treinta mL de sangre (para aumentar la probabilidad de detectar células) en cuatro tubos CellSave separados (mínimo de 7,5 mL por tubo) de pacientes que estaban siendo sometidos a colonoscopia o cirugía por una enfermedad benigna. Se evaluaron hasta cuatro muestras de 7,5 mL de sangre de cada sujeto antes del procedimiento. Los resultados se muestran en la **Tabla 3**. No todos los sujetos evaluables disponían de resultados de CTC de los cuatro tubos. Ninguno de los pacientes con enfermedad colorrectal benigna presentó más de una única célula tumoral circulante por 7,5 mL de sangre.

**Tabla 3. Resultados de la prueba CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell en sujetos con enfermedad colorrectal benigna**

| Enfermedad benigna | Sangre extraída antes del procedimiento | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Tubo 1 | Tubo 2 | Tubo 3 | Tubo 4 | Total |
| **N** | 55 | 55 | 53 | 47 | 210 |
| **Intervalo** | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 | 0 - 1 |
| **Promedio** | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,0 |
| **SD** | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,2 |
| **(%) ≥ 1 CTC** | 3 (5%) | 1 (2%) | 2 (4%) | 4 (9%) | 10 (5%) |
| **(%) ≥ 2 CTC** | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |

La **Figura 1** muestra la frecuencia de CTC en sujetos combinados sanos y con enfermedad benigna (controles), y en pacientes con MBC, MCRC y MPC antes del inicio de la terapia y aproximadamente 1 mes después del inicio de ésta.

**Figura 1. Frecuencia de CTC en controles (sujetos sin cáncer) y pacientes con cáncer de mama metastásico[1] (MBC), cáncer colorrectal metastásico[2] (MCRC) o cáncer de próstata metastásico[3] (MPC) antes del inicio de una nueva línea de terapia (línea base) y ~2-5 semanas después del inicio de la terapia.**




[1] Datos de población de referencia MBC - Tabla 1 de las instrucciones de uso clínicas.
[2] Datos de población de referencia MCRC - Tabla 12 de las instrucciones de uso clínicas.
[3] Datos de población de referencia MPC - Tabla 22 las instrucciones de uso clínicas.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Recuperación

Las muestras de sangre de un único donante sano fueron mezcladas y cinco de seis partes alícuotas de 7,5 mL fueron enriquecidas con aproximadamente 1300, 325, 81, 20 y 5 células cultivadas de cáncer de mama (SK-BR-3). El sexto tubo contenía mezcla de sangre no enriquecida, y sirvió como punto cero. Estas muestras se procesaron en el CELLTRACKS® AUTOPREP® System con el CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit y se realizaron recuentos de CTC en CELLTRACKS ANALYZER II®. El experimento fue repetido con cuatro donantes adicionales. Se crearon gráficas comparando los recuentos de las células con el recuento de células esperado. El resumen de los resultados se muestra en la **Tabla 4**.

**Tabla 4. Estimaciones porcentuales de detección.**

| Recuento esperado de células tumorales | Recuento medio de células tumorales observadas | Intervalo de recuperación porcentual |
|---|---|---|
| 1300 | 1215 | 91 a 95% |
| 325 | 308 | 82 a 101% |
| 81 | 85 | 80 a 136% |
| 20 | 22 | 95 a 140% |
| 5 | 7 | 120 a 200% |

Para determinar el global, o ajuste por mínimos cuadrados, para la comparación de los recuentos de células observados y esperados en todos los datos, se realizó un análisis de regresión lineal. La ecuación de regresión de estas 30 muestras fue $Y = 0,93x + 3,87$, con un $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$). Los resultados de este estudio indican que como promedio en el intervalo de CTC analizado, la recuperación mostrada por el análisis de regresión era de un 93%.

Dada la respuesta lineal de los recuentos de células tumorales, debería esperarse que la pendiente de la gráfica de esperado frente a observado fuera de 1,0. No obstante, la pendiente fue del 0,93. Esto se debe a que CELLTRACKS® AUTOPREP® System junto a CELLSEARCH® CTC Kit implica la captura y marcado fluorescente de las células y su posterior detección y enumeración con el CELLTRACKS ANALYZER II®. La pérdida de células podría atribuirse en consecuencia a una de las siguientes posibilidades: 1) la recuperación de sólo el 93% de las células tumorales

enriquecidas en 7,5 mL de sangre por el CELLTRACKS® AUTOPREP® System, 2) la detección de sólo el 93% de las células tumorales presentes en la cámara de muestras por el CELLTRACKS ANALYZER II®, o 3) una combinación de ambas fuentes de error.

**Linearidad/Intervalo informable**
Otra manera de examinar los anteriores datos es analizarlos como una serie de diluciones para evaluar la linearidad de la prueba. Hemos eliminado la confusa variable de la recuperación porcentual, usando el valor observado de la muestra inicial de la serie de diluciones (es decir, el primer tubo), dividida por los factores de dilución, para determinar los valores esperados de la serie de diluciones para cada muestra del paciente. La regresión de todas estas cantidades de células tumorales observadas frente a la cantidad de células tumorales esperadas resultó en una pendiente de 1,007, una intersección de 3,0, y un $R^2$ = 0,990 (R = 0,995). En consecuencia, una vez que la recuperación porcentual (pérdida de células) fue excluida de los valores CTC de cada una de las muestras iniciales, este análisis de los datos demostró que la detección de las CTC era lineal en el intervalo informable de 0 a 1238 células tumorales.

**Límites de la detección**
CELLTRACKS ANALYZER II® puede detectar una CTC por 7,5 mL, lo que resulta en un límite de detección de 1 CTC en un cartucho. La regresión lineal muestra que como promedio, el 93% de las CTC presentes en una muestra de sangre de 7,5 mL se recuperan usando el CELLTRACKS® AUTOPREP® System (consulte la sección **Recuperación**). La pérdida de aproximadamente el 7% de las CTC en la muestra no es suficiente para reducir el límite de detección de 1 CTC.

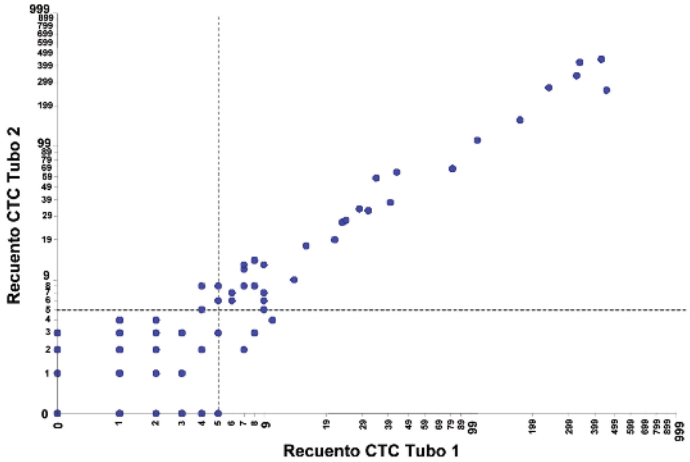
**Reproducibilidad:**
**a. Reproducibilidad del sistema con el control de células tumorales circulantes de CELLSEARCH®**
Se prepararon y procesaron tres muestras de control de células tumorales circulantes CELLSEARCH® cada día durante 30 días, según el método a largo plazo de la pauta NCCLS EP5-A2. Cada botella de un solo uso contiene una concentración baja y alta de células procedentes de una línea de células fijadas preteñidas con dos fluorocromos distintos. A continuación se indica el resumen de las estadísticas de las células de control alto y bajo.

**Tabla 5. Resumen de análisis de precisión**

| | Baja | Alta |
|---|---|---|
| **N** | 99 | 99 |
| **Recuento medio de células** | 48 | 969 |
| **% de CV de la desviación estándar ($S_T$) de la precisión total** | 18% | 5% |

**b. Reproducibilidad del sistema con muestras del paciente**
**Cáncer de mama metastásico (MBC)**
Se recogieron un total de 163 muestras duplicadas de 47 pacientes con cáncer de mama metastásico en el curso del estudio clínico. Estas muestras fueron procesadas en diferentes sitios para determinar la reproducibilidad de las mediciones de CTC. La ecuación de regresión para la comparación de estas 163 muestras duplicadas fue Y = 0,98x + 0,67, con un $R^2$ = 0,99. La **Figura 2** muestra un gráfico de dispersión de los resultados duplicados de CTC en sangre procedente de pacientes con MBC trazado a escala logarítmica, con el umbral de 5 CTC indicado por las líneas de puntos.

**Figura 2. Reproducibilidad de los recuentos de CTC en muestras MBC duplicadas (n=163) con un promedio de <5 ó ≥ 5 CTC por 7,5 mL de sangre.**

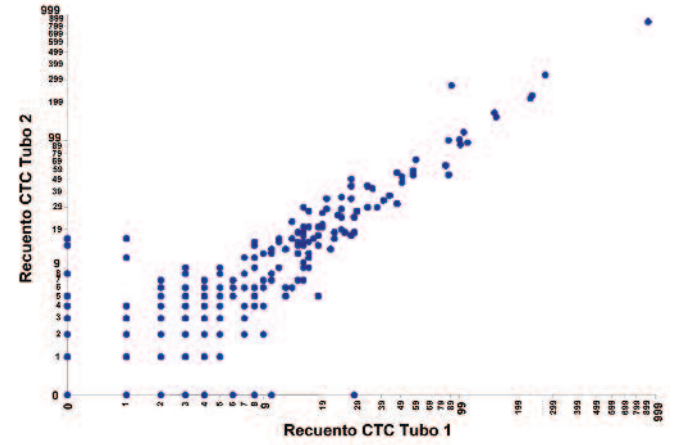



*Nota de la Figura 2: puede haber más de un punto superpuesto. Por ejemplo, en este gráfico, hay 50 casos (31%) donde ambos tubos tenían 0 CTC, 18 casos (11%) donde el Tubo 1 tenía 0 CTC y el Tubo 2 tenía 1 CTC, y otros 18 casos (11%) donde el Tubo 1 tenía 1 CTC y el Tubo 2 tenía 0 CTC.*

**Cáncer colorrectal metastásico (MCRC)**

Se recogieron un total de 1.627 muestras de sangre duplicadas de 430 pacientes con MCRC en el curso del estudio clínico. Estas muestras fueron procesadas en diferentes sitios para determinar la reproducibilidad de las mediciones de CTC. La ecuación de regresión para la comparación de estas 1.627 muestras duplicadas fue Y = 0,98x + 0,18, con un $R^2$ = 0,96. La **Figura 3** muestra un gráfico de dispersión de los resultados duplicados de CTC en sangre procedente de pacientes con MCRC trazado a escala logarítmica, con el umbral de 3 CTC indicado por las líneas de puntos.

**Figura 3. Reproducibilidad de los recuentos de CTC en muestras duplicadas de MCRC (n=1627) con un promedio de <3 ó ≥ 3 CTC por 7,5 mL de sangre.**




*Nota de la Figura 3: puede haber más de un punto superpuesto. Por ejemplo, en este gráfico, hay 975 casos (60%) donde ambos tubos tenían 0 CTC, 116 casos (7%) donde el Tubo 1 tenía 0 CTC y el Tubo 2 tenía 1 CTC, y otros 109 casos (7%) donde el Tubo 1 tenía 1 CTC y el Tubo 2 tenía 0 CTC.*

La variación tubo a tubo de los recuentos de CTC en muestras de sangre de pacientes con cáncer de mama metastásico y cáncer colorrectal metastásico se muestra en las **Figura 2 y Figura 3**. La distribución de eventos poco frecuentes (como células tumorales) en un volumen dado es aleatoria y no depende del tipo de célula o enfermedad. Esto se caracteriza mejor mediante la distribución de Poisson, un método matemático empleado en sistemas de modelado donde la probabilidad de que ocurra un evento es muy baja pero el número de oportunidades para que se produzca es muy elevado [5]. En el caso de tubos con muy pocas CTC prostáticas es razonable esperar resultados parecidos a lo representado en las **Figura 2 y Figura 3**. Debido a que en dos estudios anteriores los pacientes con MBC y MCRC arrojaron resultados casi idénticos, no se realizó una comparación tubo a tubo de recuentos de CTC en muestras de sangre de pacientes con cáncer de próstata metastásico durante el ensayo

REF 7900001
16 Test Kit

CellSearch®

# Circulating Tumor Cell Kit (Epitelial)

## RESULTADOS DEL ENSAYO CLÍNICO



e631600005_ES
LBL-0018

## ÍNDICE


**1 Pacientes con cáncer de mama metastásico (MBC) ..... 6**

1.1 Frecuencias de CTC ..... 6

1.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MBC ..... 7

1.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base ..... 7

1.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 7

1.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida ..... 8

1.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MBC ..... 9

1.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base ..... 9

1.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 10

1.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida ..... 11

1.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MBC ..... 12

1.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MBC ..... 12

1.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico del cáncer de mama metastásico ..... 14

1.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante adquisición de imágenes ..... 14

1.4.2 CTC ..... 14

1.4.3 Adquisición de imágenes ..... 14

1.4.4 Relación de supervivencia entre imágenes y CTC ..... 15

1.4.5 Concordancias entre monitorización de CTC y radiológica ..... 17

1.4.6 CTC como complemento a la adquisición de imágenes ..... 19

1.5 Variabilidad de las valoraciones de CTC y radiológicas ..... 20

1.5.1 CTC ..... 20

1.5.2 Adquisición de imágenes ..... 20

**2 Pacientes con cáncer colorrectal metastásico (MCRC) ..... 20**

2.1 Frecuencias de CTC ..... 21

2.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MCRC ..... 22

2.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base ..... 22

2.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 22

2.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida ..... 23

2.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MCRC ..... 24

2.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base ..... 24

2.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 25

2.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida ..... 26

2.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MCRC ..... 27

2.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MCRC ..... 27

2.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico del cáncer colorrectal metastásico ..... 28

2.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante adquisición de imágenes ..... 28

2.4.2 CTC ..... 28

2.4.3 Adquisición de imágenes ..... 29

2.4.4 Relación de supervivencia entre imágenes y CTC ..... 29

2.4.5 Concordancias entre monitorización de CTC y radiológica en pacientes con MCRC ..... 31

2.4.6 CTC como complemento a la adquisición de imágenes ..... 33

**3 Pacientes con cáncer de próstata metastásico (MPC)** ..... **33**
3.1 Frecuencias de CTC ..... 34
3.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MPC ..... 35
3.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base ..... 35
3.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 36
3.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida ..... 37
3.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MPC ..... 38
3.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base ..... 38
3.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento ..... 38
3.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida ..... 39
3.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MPC ..... 40
3.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MPC ..... 41
3.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico de pacientes con cáncer de próstata metastásico ..... 43
3.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante PSA ..... 43
3.4.2 Concordancias entre los cambios de CTC y PSA en pacientes con MPC ..... 44
3.4.3 Combinación de niveles de CTC y reducción de PSA para predecir OS en pacientes con MPC ..... 46

**Lista de tablas**

Tabla 1: Datos demográficos de los pacientes con MBC ..... 6
Tabla 2: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en distintos momentos ..... 8
Tabla 3: Supervivencia global (OS) para pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en distintos momentos ..... 11
Tabla 4: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MBC ..... 12
Tabla 5: Análisis de regresión multivariante de Cox de supervivencia libre de progresión en pacientes con MBC ..... 13
Tabla 6: Análisis de regresión multivariante de Cox de supervivencia global en pacientes con MBC ..... 14
Tabla 7: OS de pacientes con MBC con valoración de CTC aproximadamente un mes después del comienzo de la terapia y dentro de un mes de la valoración radiológica ..... 16
Tabla 8: Comparación orientada al paciente con MBC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 18
Tabla 9: Comparación orientada a la observación de MBC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 18
Tabla 10: Comparación orientada al paciente con MBC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 19
Tabla 11: Variabilidad de las valoraciones de CTC y radiológicas en pacientes con MBC ..... 20
Tabla 12: Datos demográficos de los pacientes con MCRC ..... 21
Tabla 13: Exclusiones de los análisis de supervivencia libre de progresión y de supervivencia global en pacientes con MCRC ..... 21
Tabla 14: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en distintos momentos ..... 23
Tabla 15: Supervivencia global (OS) para pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en distintos momentos ..... 26
Tabla 16: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MCRC ..... 27
Tabla 17: Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MCRC ..... 28
Tabla 18: OS de pacientes con MCRC con valoración de CTC aproximadamente un mes después del comienzo de la terapia y dentro de un mes de la valoración radiológica ..... 30
Tabla 19: Comparación orientada al paciente con MCRC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 31
Tabla 20: Comparación orientada a la observación de MCRC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 32
Tabla 21: Comparación orientada al paciente con MCRC entre CTC e imágenes adquiridas ..... 32
Tabla 22: Datos demográficos de los pacientes con MPC ..... 34
Tabla 23: Exclusiones de los análisis de PFS y OS en pacientes con MPC ..... 35
Tabla 24: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en distintos momentos ..... 37

Tabla 25: Supervivencia global (OS) para pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 ....39
Tabla 26: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MPC ....41
Tabla 27: Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MPC ....42
Tabla 28: Comparación de la mediana de OS entre los grupos de CTC Favorable y No favorable y los grupos de reducción de PSA....44
Tabla 29: Comparación orientada a pacientes con MPC de CTC y reducción de PSA de 30% a las 2-5 semanas....45
Tabla 30: Comparación orientada a pacientes con MPC de CTC y reducción de PSA del 30% a las 13-20 semanas....45
Tabla 31: Comparación orientada a la observación de MPC entre CTC y una reducción de PSA del 30%....45

**Lista de figuras**

Figura 1: PFS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=177). ....7
Figura 2: PFS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento....8
Figura 3: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una PFS de mayor duración en pacientes con MBC....9
Figura 4: OS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=177). ....10
Figura 5: OS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento. ....10
Figura 6: Una reducción en el CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 5 ó más predice una OS más corta en pacientes con MBC. ....11
Figura 7: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con NPD o PD en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=138)....16
Figura 8: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con <5 ó ≥ 5 CTC en el 1er seguimiento tras el comienzo de la terapia (N=138)....17
Figura 9: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MBC con <5 ó ≥ 5 CTC dentro de ± 1 mes del 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=134) ....17
Figura 10: OS de pacientes con MBC en los grupos 1, 2, 3 y 4 usando la valoración de CTC en el 1er seguimiento tras el comienzo de la terapia (n=138) y el estado de la enfermedad determinado en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento....19
Figura 11: PFS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en línea base (N=413). ....22
Figura 12: PFS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en diferentes momentos del seguimiento....23
Figura 13: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 3 tras el inicio de la terapia predice una PFS en pacientes con MCRC....24
Figura 14: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en línea base (N=413). ....25
Figura 15: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en diferentes momentos del seguimiento. ....25
Figura 16: Una reducción en el CTC inferior a 3 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 3 ó más predice una OS más corta en pacientes con MCRC....26
Figura 17: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con NPD o PD en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=402)....30
Figura 18: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en el 1er seguimiento tras el inicio de la terapia (N=320)....30
Figura 19: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 dentro de ±1 mes del 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento o la muerte (N=364) ....31
Figura 20: OS de pacientes con MCRC en los grupos 1, 2, 3 y 4 usando la valoración de CTC 3-5 semanas tras el comienzo de la terapia (n=320) y el estado de la enfermedad determinado en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento ....33
Figura 21: PFS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=219)....36
Figura 22: PFS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento ....36
Figura 23: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una PFS en pacientes con MPC ....37

Figura 24: OS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=219). ....38
Figura 25: OS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento. ....39
Figura 26: Una reducción en el CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 5 ó más predice una OS más corta en pacientes con MPC. ....40
Figura 27: OS de pacientes con MPC 2-5 semanas después del inicio de la terapia ....43
Figura 28: OS de pacientes con MPC 6-8 semanas después del inicio de la terapia ....43
Figura 29: OS de pacientes con MPC 9-12 semanas después del inicio de la terapia ....43
Figura 30: OS de pacientes con MPC 13-20 semanas después del inicio de la terapia ....44
Figura 31: Combinación de niveles CTC y cambios de PSA para predecir la OS 2-5 semanas (Panel A), 6-8 semanas (Panel B), 9-12 semanas (Panel C) y 13-20 semanas (Panel D) tras el inicio de la terapia....46

## 1 Pacientes con cáncer de mama metastásico (MBC)

Se realizó un ensayo clínico multicentro prospectivo para determinar si el número de CTC predecía la progresión y la supervivencia de la enfermedad. Se inscribió a pacientes con cáncer de mama metastásico medible (N=177) que iniciaban una nueva línea terapéutica. Los datos clínicos se analizaron en base a una intención de tratamiento. Los datos demográficos de los pacientes están representados en la **Tabla 1**.

**Tabla 1: Datos demográficos de los pacientes con MBC**

| Categoría | | N=177 pacientes |
|---|---|---|
| **Edad en línea base** | **Media ± Desv. estándar**<br>**Mediana** | 58 ± 13<br>58 |
| | **Descripción de categorías** | **Número de sujetos (% del total)** |
| **Etapa** | **1**<br>**2**<br>**3**<br>**4**<br>**Desconocido** | 26 (15%)<br>92 (52%)<br>26 (15%)<br>20 (11%)<br>13 (7%) |
| **Raza** | **Blanca**<br>**Negra**<br>**Hispana**<br>**Desconocido** | 153 (86%)<br>14 (8%)<br>7 (4%)<br>3 (2%) |
| **Puntuación ECOG en línea base** | **0**<br>**1**<br>**2**<br>**Desconocido** | 82 (46%)<br>72 (41%)<br>18 (10%)<br>5 (3%) |
| **Localización enfermedad** | **Vísceras**<br>**Hueso** | 152 (86%)<br>153 (86%) |
| **ER/PR** | **+**<br>**-**<br>**Desconocido** | 121 (68%)<br>54 (31%)<br>2 (1%) |
| **HER2** | **0**<br>**1+**<br>**2+**<br>**3+**<br>**Desconocido** | 91 (51%)<br>12 (7%)<br>18 (10%)<br>27 (15%)<br>29 (17%) |
| **Línea de terapia** | **1ª línea**<br>**2ª línea**<br>**≥ 3ª línea**<br>**Desconocido** | 82 (46%)<br>26 (15%)<br>67 (38%)<br>2 (1%) |
| **Tipo de terapia** | **Quimio (Qu)**<br>**Endocrina (En)**<br>**Dirigida (Di)**<br>**Qu/En**<br>**Qu/Di**<br>**En/Di**<br>**Qu/En/Di**<br>**Varios**<br>**Desconocido** | 74 (42%)<br>45 (25%)<br>9 (5%)<br>10 (6%)<br>23 (13%)<br>7 (4%)<br>2 (1%)<br>2 (1%)<br>5 (3%) |

El recuento CTC de línea base fue determinado con anterioridad al inicio de una nueva línea de terapia. Se determinaron los recuentos CTC de seguimiento tras el inicio de la terapia, aproximadamente en intervalos de 3 a 4 semanas. Para los análisis de línea base, se midió la supervivencia libre de progresión (PFS) desde el momento de la extracción de sangre en la línea base hasta el diagnóstico de la progresión mediante exploraciones de Resonancia Magnética y/o signos y síntomas clínicos; se midió la supervivencia global (OS) desde el momento de la extracción de sangre de la línea base hasta el momento de la muerte. Para los análisis de seguimiento, se midió la PFS desde el momento de la extracción de sangre del seguimiento hasta el diagnóstico de la progresión o la muerte, y se midió la OS desde el momento de la extracción de sangre del seguimiento hasta el momento de la muerte.

### 1.1 Frecuencias de CTC

Los resultados de CTC obtenidos de las extracciones de sangre de seguimiento en las semanas 3-5, 6-8, 9-12 y 13-20 tras el inicio de la terapia se clasificaron como favorables (<5 CTC) o desfavorables (≥ 5 CTC). Si se obtuvo más de un resultado de CTC dentro de cualquiera de los momentos de seguimiento designados, se utilizó el resultado de CTC de la extracción de sangre más alejado de la línea base.

Del número de total de 177 pacientes con MBC, 23 no fueron evaluables en el primer seguimiento. De estos 23 pacientes, diez de ellos murieron antes de que pudiera realizarse una extracción de sangre en el seguimiento, nueve progresaron con anterioridad a la extracción de sangre del seguimiento y en cuatro de ellos no pudo realizarse el seguimiento. Además, cada uno de los diez pacientes que murieron presentaba recuentos de CTC ≥ 5 a extremadamente altos en la línea base (recuentos de CTC 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 y 23618). De los 154 pacientes sobre los que se pudo realizar el seguimiento, a 132, 99, 129 y 85 se les realizó una extracción de sangre

3-5, 6-8, 9-14 y 15-20 semanas tras el inicio de la terapia, respectivamente.

La **Tabla 3** resume el número total y el porcentaje de pacientes del estudio clínico con CTC desfavorable para la supervivencia global que difieren de la cantidad y porcentajes de pacientes de la supervivencia libre de progresión mostrados en la **Tabla 2**. La diferencia en el número de pacientes en cada momento *entre* las dos tablas se debe a la progresión de algunos pacientes antes de la extracción de sangre. La diferencia en el número de pacientes *dentro de* las tablas se debe al número de pacientes con extracciones de sangre y resultados de CTC evaluables en cada momento.

### 1.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MBC

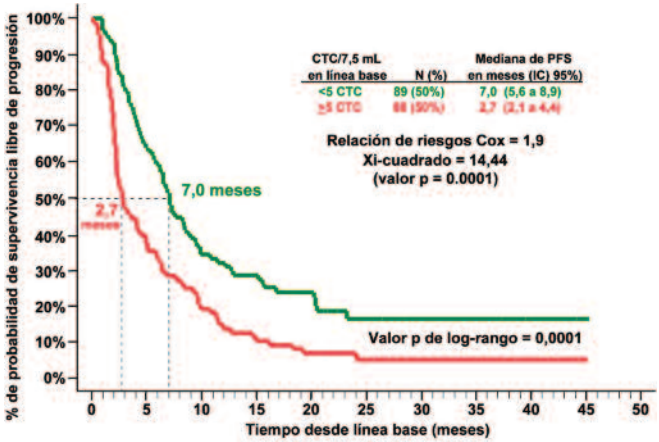
#### 1.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base

En la totalidad de los 177 pacientes con MBC se realizó una prueba de CTC de línea base. Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=89), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable (N=88), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con ≥ 5 CTC.

La PFS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación con el grupo No favorable (7,0 vs. 2,7 meses, respectivamente). Estos resultados se ilustran en la **Figura 1**.

**Figura 1: PFS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=177).**

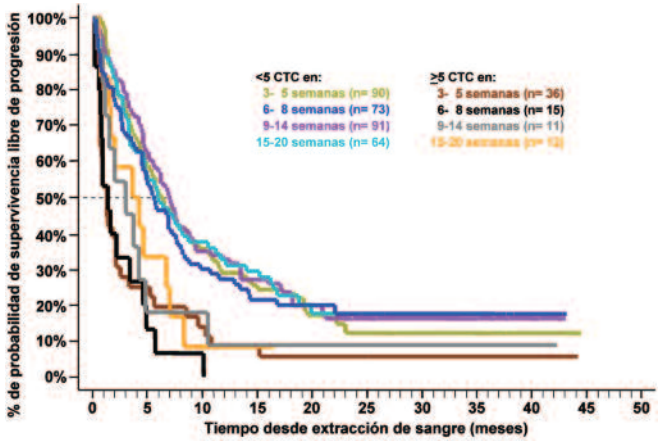



#### 1.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes con MBC fueron segmentados en dos grupos en base a su recuento de CTC en cada una de las diversas extracciones de sangre de seguimiento. Ambos grupos de pacientes en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre de seguimiento tras el inicio de la terapia para PFS se ilustran en la **Figura 2**. Los momentos de PFS se calcularon a partir del momento de cada extracción de sangre, y los pacientes que mostraban signos de progresión antes de la extracción fueron excluidos del análisis de esa extracción y de las posteriores extracciones de sangre de seguimiento. La **Figura 2** ilustra la capacidad de CTC en pacientes con CTC <5 y ≥ 5, 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas y 15-20 semanas tras el inicio de la terapia, para predecir el tiempo hasta la progresión clínica en 177 pacientes con cáncer de mama metastásico.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja**, consistía en pacientes con CTC ≥ 5.

**Figura 2: PFS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento**




La **Tabla 2** resume los resultados del análisis de la PFS utilizando los niveles CTC y un umbral de ≥ 5 CTC/7,5 mL en cada uno de los distintos momentos de extracción de sangre.

**Tabla 2: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en distintos momentos**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento** | **N** | **≥ 5 CTC** | **PFS media en meses (IC 95%)** | | **Valor p log-rango** |
| | | | **<5 CTC** | **≥ 5 CTC** | |
| Línea base | 177 | 88 (50%) | 7,0 (5,6 a 8,9) | 2,7 (2,1 a 4,4) | 0,0001 |
| 3-5 semanas | 126 | 36 (29%) | 6,1 (4,7 a 8,6) | 1,3 (0,7 a 2,1) | <0,0001 |
| 6-8 semanas | 88 | 15 (17%) | 5,6 (4,5 a 7,6) | 1,4 (0,6 a 3,4) | 0,0001 |
| 9-14 semanas | 102 | 11 (11%) | 7,0 (5,1 a 8,8) | 3,0 (0,9 a 4,8) | 0,0251 |
| 15-20 semanas | 76 | 12 (16%) | 5,9 (3,8 a 8,7) | 3,6 (0,7 a 7,0) | 0,0610 |

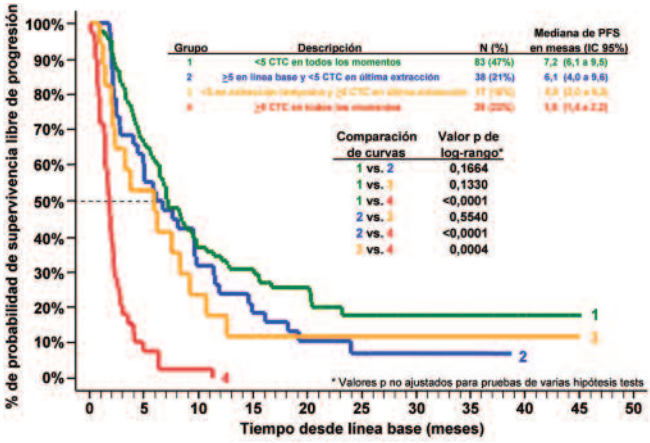
Según se ilustra en la **Figura 2** y en la **Tabla 2**, los pacientes con niveles de CTC elevados (CTC ≥ 5/7,5 mL de sangre total) en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mayor de progresión rápida que los que presentaron CTC <5. En la columna 4 de la **Tabla 2** se muestra que la mediana de los tiempos de PFS para los pacientes con CTC <5 fueron entre 5,6 y 7,0 meses y resultaron bastante más largos que los tiempos de PFS medios para los pacientes con CTC ≥ 5 comprendidos entre 1,3 y 3,6 meses (columna 5).

**1.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida**

Los tiempos de PFS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier (**Figura 3**), los pacientes con MBC fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas y 15-20 semanas tras el inicio de la terapia:

- Grupo 1 (curva **verde**), 83 (47%) pacientes con <5 CTC en todos los momentos de extracción de sangre. Cinco (6%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que dos (2%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC ≥ 5;
- Grupo 2 (curva **azul**), 38 (21%) pacientes con CTC ≥ 5 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 17 (10%) pacientes con CTC <5 en una extracción temprana (línea base, 3-5 semanas y/o 6-8 semanas) pero que aumentó a CTC ≥ 5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 39 (22%) pacientes con ≥ 5 CTC en todos los momentos de extracción de sangre. A diez (26%) de estos pacientes sólo se les extrajo sangre en la línea base.

**Figura 3: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una PFS de mayor duración en pacientes con MBC**




La **Figura 3** muestra que los pacientes con MBC y un CTC ≥ 5 en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de PFS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de PFS del **Grupo 3**, **Grupo 2** y **Grupo 1**. Las diferencias entre las curvas de los otros grupos de esta figura no fueron significativas.

### 1.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MBC

#### 1.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base

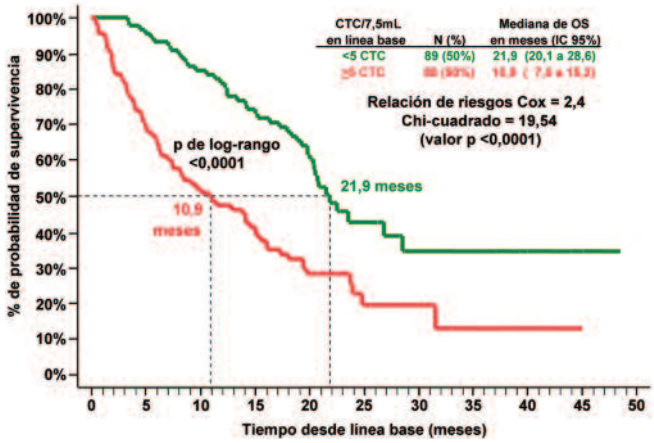
Ciento nueve (109) de 177 pacientes con MBC (62%), con un tiempo de seguimiento medio para los 68 pacientes (38%) aún vivos de 22,7 ± 9,4 meses (mediana = 21,1; intervalo = 4,4 – 48,6). En la fecha de realización de estos análisis, 44 (49%) de los 89 pacientes del grupo Favorable (CTC <5 en línea base) comparados con los 65 (74%) de los 88 del grupo No favorable (CTC ≥ 5 en línea base) habían muerto.

Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=89), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable (N=88), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con CTC ≥ 5.

La OS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación con el grupo No favorable (21,9 vs. 10,9 meses, respectivamente). Estos resultados se ilustran en la **Figura 4**.

**Figura 4: OS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=177).**

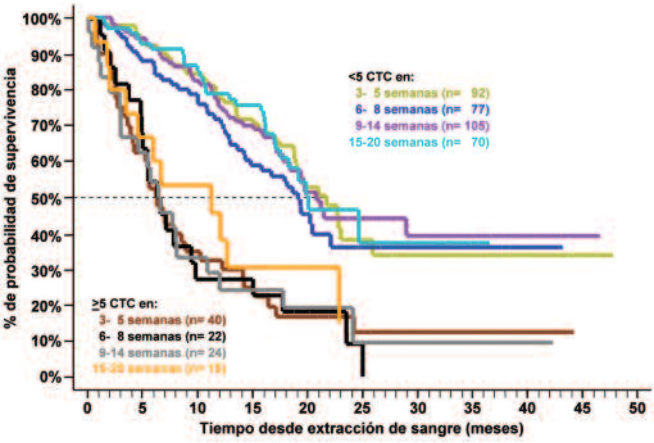



### 1.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Los análisis Kaplan-Meier de ambos grupos de pacientes con MBC en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre posteriores al inicio de la terapia se ilustran en la **Figura 5**. Esta figura ilustra la capacidad de CTC en pacientes con MBC con un CTC <5 y ≥ 5, 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas y 15-20 semanas tras el inicio de la terapia para predecir el tiempo hasta la muerte en 177 pacientes con cáncer de mama metastásico. Los tiempos de OS se calcularon a partir del momento de la última extracción de sangre.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja**, consistía en pacientes con CTC ≥ 5.

**Figura 5: OS de pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento.**




La **Tabla 3** resume los resultados del análisis de OS usando los niveles de CTC y un umbral de ≥ 5 CTC/7,5 mL en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre.

**Tabla 3: Supervivencia global (OS) para pacientes con MBC con CTC <5 ó ≥ 5 en distintos momentos**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento | N | ≥ 5 CTC | OS media en meses (IC 95%) | | Valor p log-rango |
| | | | <5 CTC | ≥ 5 CTC | |
| Línea base | 177 | 88 (50%) | 21,9 (20,1 a 28,6) | 10,9 (7,0 a 15,2) | <0,0001 |
| 3-5 semanas | 132 | 40 (30%) | 21,7 (18,8 a 25,9) | 6,2 (4,1 a 8,9) | <0,0001 |
| 6-8 semanas | 99 | 22 (22%) | 19,1 (14,2 a 22,1) | 6,3 (4,8 a 9,8) | 0,0001 |
| 9-14 semanas | 129 | 24 (19%) | 20,8 (17,8 a ≥ 45) | 6,4 (3,0 a 10,9) | <0,0001 |
| 15-20 semanas | 85 | 15 (18%) | 20,1 (17,1 a ≥ 35) | 11,3 (2,0 a 22,9) | 0,0021 |

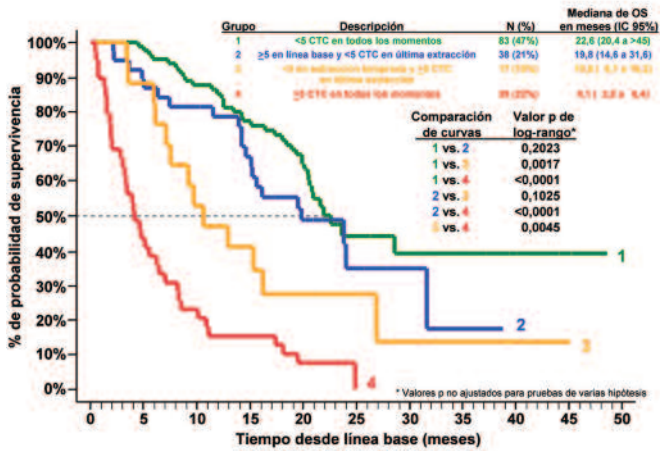
### 1.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida

Los tiempos de OS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier (**Figura 6**), los pacientes fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas y 15-20 semanas tras el inicio de la terapia:

- Grupo 1 (curva **verde**), 83 (47%) pacientes con <5 CTC en todos los momentos de extracción de sangre. Cinco (6%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que dos (2%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC ≥ 5;
- Grupo 2 (curva **azul**), 38 (21%) pacientes con CTC ≥ 5 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 17 (10%) pacientes con CTC <5 en una extracción temprana (línea base, 3-5 semanas y/o 6-8 semanas) pero que aumentó a CTC ≥ 5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 39 (22%) pacientes con ≥ 5 CTC en todos los momentos de extracción de sangre. A diez (26%) de estos pacientes sólo se les extrajo sangre en la línea base.

La **Figura 6** muestra que los pacientes con MBC que superan el umbral de 5 CTC en cualquier punto tras el inicio de la terapia tenían una probabilidad mucho mayor de tener una supervivencia global más corta. Los pacientes con un CTC ≥ 5 en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de OS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de OS del **Grupo 3**, **Grupo 2** y **Grupo 1**. La diferencia en la supervivencia mediana entre el **Grupo 3** y el **Grupo 1** fue también significativa y, aunque la OS mediana para el **Grupo 3** era más corta en comparación con el **Grupo 2**, la diferencia no fue estadísticamente importante. La **Figura 6** muestra también que los pacientes que tenían un CTC ≥ 5 en la línea base pero que acababa reduciéndose a <5 tras el inicio de la terapia tienen aproximadamente el mismo riesgo de muerte que los pacientes que nunca superaron el umbral de 5 CTC.

**Figura 6: Una reducción en el CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 5 ó más predice una OS más corta en pacientes con MBC.**



Según se ilustra en la **Figura 6** y en la **Tabla 3** en las columnas 4 y 5, los pacientes con CTC ≥ 5 en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mucho mayor de fallecer antes que los que presentaron CTC <5. La mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC <5 oscilaron entre 19,1 y 21,9 meses y resultaron bastante más largos que la mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC ≥ 5, comprendidos entre 6,2 y 11,3 meses.

### 1.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MBC

Se evaluaron los siguientes parámetros usando el análisis de regresión univariante de Cox para evaluar la asociación con la PFS y la OS: edad del paciente (continuo), etapa de la enfermedad en el diagnóstico (1-4), tiempo hasta la metástasis (continuo), estado de ECOG antes de la iniciación de una nueva línea de terapia (0-2), estado ER/PR (+/-), estado de HER2/neu (0-3+), línea de terapia (2.ª o 1.ª), tipo de terapia (sólo quimio o bien hormonal / combinación), recuento de CTC en línea base (CTC ≥ 5 ó <5 /7,5 mL) y recuentos de CTC de seguimiento a las 3-5 semanas, 6-8 semanas, 9-14 semanas y 15-20 semanas tras el comienzo de la terapia (CTC ≥ 5 ó <5 /7,5 mL). La **Tabla 4** muestra los resultados de este análisis y presenta la relación de riesgos Cox (HR) y el valor p asociado (prueba de Wald de la estadística Z), así como el número de pacientes en cada evaluación.

**Tabla 4: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MBC**

| Parámetro | Categorías | | N.º de pacientes con MBC | Riesgo PFS desde la línea base | | Riesgo OS desde la línea base | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positivo | Negativo | | HR | Valor p | HR | Valor p |
| Edad en la extracción de sangre en la línea base | Edad en años | | 175 | 0,99 | 0,173 | 0,99 | 0,375 |
| Etapa en el diagnóstico primario | 4 vs. 3 vs. 2 vs. 1 | | 164 | 0,97 | 0,723 | 1,00 | 0,969 |
| ER/PR | Positivo | Negativo | 175 | 0,84 | 0,327 | 0,53 | 0,002 |
| Her-2/neu | 3+ vs. 2+ vs. 1+ vs. 0 | | 148 | 0,91 | 0,207 | 0,93 | 0,422 |
| Estado ECOG en línea base | 2 vs. 1 vs. 0 | | 172 | 1,14 | 0,307 | 1,64 | 0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis | Tiempo en años | | 175 | 0,97 | 0,048 | 0,95 | 0,018 |
| Línea de terapia | ≥ 2.° | 1.° | 175 | 1,55 | 0,007 | 1,91 | 0,001 |
| Tipo de terapia | Sólo quimio | H/C y/o I | 172 | 1,97 | <0,001 | 2,22 | <0,001 |
| Número CTC de la línea base | ≥ 5 | <5 | 177 | 1,85 | <0,001 | 2,36 | <0,001 |
| Número CTC 3 - 5 semanas | ≥ 5 | <5 | 132 | 2,52 | <0,001 | 3,30 | <0,001 |
| Número CTC 6 - 8 semanas | ≥ 5 | <5 | 99 | 3,57 | <0,001 | 2,87 | <0,001 |
| Número CTC 9 - 14 semanas | ≥ 5 | <5 | 129 | 2,89 | <0,001 | 3,64 | <0,001 |
| Número CTC 15 - 20 semanas | ≥ 5 | <5 | 85 | 1,86 | 0,041 | 2,85 | 0,004 |

**H/C/ y/o I** – Terapia hormonal o inmunoterapia sola, o combinación de hormonal y/o quimio y/o inmunoterapia

### 1.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MBC

Se realizaron análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MBC para evaluar la capacidad predictiva independiente del recuento de CTC ajustando para los efectos de los factores clínicos importantes conocidos que son estadísticamente significativos en los análisis univariantes. Se halló que los valores de CTC son importantes datos pronósticos de PFS (**Tabla 5**) y OS (**Tabla 6**).

**Tabla 5: Análisis de regresión multivariante de Cox de supervivencia libre de progresión en pacientes con MBC**

| Variable | N | Relación de riesgos | Valor p |
|---|---|---|---|
| **CTC línea base (<5 vs. ≥5)** | 172 | 1,69 | 0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,98 | 0,154 |
| Línea de terapia (1ª vs. ≥ 2ª) | | 1,52 | 0,013 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,74 | 0,001 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 3-5 semanas (<5 vs. ≥5)** | 132 | 2,32 | <0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,97 | 0,166 |
| Línea de terapia (1ª vs. ≥ 2ª) | | 1,68 | 0,008 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,50 | 0,060 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 6-8 semanas (<5 vs. ≥5)** | 99 | 2,92 | <0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,93 | 0,023 |
| Línea de terapia (1ª vs. ≥ 2ª) | | 1,36 | 0,175 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,90 | 0,005 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 9-14 semanas (<5 vs. ≥5)** | 129 | 2,23 | 0,002 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,97 | 0,170 |
| Línea de terapia (1ª vs. ≥ 2ª) | | 1,48 | 0,061 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,73 | 0,007 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 15-20 semanas (<5 vs. ≥5)** | 85 | 1,58 | 0,140 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,96 | 0,064 |
| Línea de terapia (1ª vs. ≥ 2ª) | | 1,80 | 0,018 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,66 | 0,049 |

**Tabla 6: Análisis de regresión multivariante de Cox de supervivencia global en pacientes con MBC**

| Variable | N | Relación de riesgos | Valor p |
|---|---|---|---|
| **CTC línea base (<5 vs. ≥5)** | 170 | 2,62 | <0,001 |
| ER/PR (Negativo vs. Positivo) | | 0,57 | 0,016 |
| Estado ECOG en línea base (2 vs. 1 vs. 0) | | 1,58 | 0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,97 | 0,078 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª) | | 2,33 | <0,001 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,78 | 0,006 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 3-5 semanas (<5 vs. ≥5)** | 130 | 3,78 | <0,001 |
| ER/PR (Negativo vs. Positivo) | | 0,51 | 0,020 |
| Estado ECOG en línea base (2 vs. 1 vs. 0) | | 1,69 | 0,001 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,96 | 0,142 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª) | | 2,30 | 0,001 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,72 | 0,026 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 6-8 semanas (<5 vs. ≥5)** | 99 | 2,88 | 0,001 |
| ER/PR (Negativo vs. Positivo) | | 0,58 | 0,062 |
| Estado ECOG en línea base (2 vs. 1 vs. 0) | | 1,32 | 0,173 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,94 | 0,135 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª) | | 2,51 | 0,001 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 2,33 | 0,003 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 9-14 semanas (<5 vs. ≥5)** | 129 | 4,14 | <0,001 |
| ER/PR (Negativo vs. Positivo) | | 0,39 | 0,002 |
| Estado ECOG en línea base (2 vs. 1 vs. 0) | | 1,57 | 0,016 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,98 | 0,388 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª) | | 2,21 | 0,003 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 2,28 | 0,003 |
| | | | |
| **CTC de seguimiento de 15-20 semanas (<5 vs. ≥5)** | 85 | 3,44 | 0,006 |
| ER/PR (Negativo vs. Positivo) | | 0,38 | 0,024 |
| Estado ECOG en línea base (2 vs. 1 vs. 0) | | 1,33 | 0,321 |
| Tiempo hasta la metástasis (año) | | 0,94 | 0,150 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª) | | 3,43 | 0,001 |
| Tipo de terapia (hormonal/otra vs. sólo quimio) | | 1,67 | 0,166 |

### 1.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico del cáncer de mama metastásico

#### 1.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante adquisición de imágenes

La adquisición de imágenes radiológicas es uno de los principales medios para determinar el estado de la enfermedad y la respuesta a la terapia en pacientes con cáncer de mama metastásico. Para establecer la relación entre los recuentos de CTC medidos en dos momentos diferentes con el estado clínico que determina la adquisición de imágenes, se compararon las CTC y los resultados de las imágenes 1) con el punto final clínico de la supervivencia global y 2) entre sí.

#### 1.4.2 CTC

Datos anteriores han mostrado que pacientes con CTC ≥ 5/7,5 mL de sangre en cualquier visita de seguimiento posterior al inicio de la terapia tenían una probabilidad mayor de enfermedad en progresión y supervivencia global reducida en comparación con los pacientes con CTC <5/7,5 mL de sangre. Los resultados de CTC obtenidos en el primer seguimiento tras el comienzo de la terapia, así como los resultados obtenidos dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes se clasificaron como <5 CTC y ≥ 5 CTC. Cuando se obtuvo más de un valor CTC dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes, se utilizó el resultado de CTC obtenido más cercano a la fecha del estudio de adquisición de imágenes.

#### 1.4.3 Adquisición de imágenes

Todas las localizaciones de las imágenes obtenidas fueron compatibles con los estándares Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Usando imágenes digitales estandarizadas, dos radiólogos expertos (lectores), que trabajaron por separado y sin conocer la información clínica, clasificaron cada valoración de seguimiento de

la enfermedad (total de 231 estudios de imágenes) de 138 pacientes con enfermedad medible como indeterminada (I), estable (S), respuesta parcial (PR), o enfermedad progresiva (PD) según el criterio bidimensional de la Organización Mundial de la Salud (OMS). La enfermedad medible se definió como la presencia de al menos una lesión de ≥ 2 cm en su dimensión más larga. Los lectores identificaron hasta ocho lesiones por paciente por momento describiendo la dimensión más larga de la lesión y la dimensión perpendicular más larga. Se multiplicaron estas dos dimensiones y se comunicó el "producto cruzado". Se calcularon las mediciones sumadas de los productos cruzados y se determinó el cambio porcentual desde el momento anterior. Aunque todos los pacientes tenían una enfermedad medible, las lesiones no medibles (si bien detectables por radiología) se incluyeron en la determinación del estado del paciente según describen las normas de la OMS. La enfermedad progresiva se definió como un incremento de >25% en las suma de todas las lesiones o la aparición de una nueva lesión medible o no medible. La respuesta parcial fue definida como la disminución de la suma en todas las lesiones del ≥ 50% y la ausencia de nuevas lesiones.

Las interpretaciones de radiología de los dos radiólogos expertos se clasificaron como sigue:

- Se consideró que S y PR reflejaban enfermedad no progresiva (NPD)
- Se consideró que PD reflejaba enfermedad progresiva
- En situaciones donde uno de los radiólogos ofreció una clasificación de Indeterminada (I), pero la del otro fue de S, PR o PD, esta última clasificación se utilizó para la comparación con los recuentos de CTC (n=11)
- Cuando ambos radiólogos ofrecieron una clasificación de Indeterminada (I), los datos no se utilizaron en la comparación con los recuentos de CTC (n=3)
- Un tercer radiólogo independiente juzgó las discrepancias entre los dos primeros acerca de PD y NPD (n=27)
- En situaciones donde el tercer radiólogo independiente obtuvo una clasificación de Indeterminada (I), los datos no se utilizaron en la comparación con los recuentos de CTC (n=2)
- En estudios de imágenes adquiridas en serie, los resultados de radiología inferiores a un mes desde la observación previamente resumidos no se utilizaron (n=1).

#### 1.4.4 Relación de supervivencia entre imágenes y CTC

Se realizaron análisis Kaplan-Meier separados para comparar la supervivencia global de los pacientes en los grupos Favorable (CTC <5) y No favorable (CTC ≥ 5) usando los resultados de CTC de dos momentos diferentes y el primer estudio de imágenes de seguimiento. Usando los resultados de los primeros estudios de imágenes de seguimiento realizados 10,1 ± 5,1 semanas (mediana = 9,0 semanas) tras el comienzo de la terapia (es decir, la extracción de sangre en la línea base), la mediana de supervivencia de los 96 (70%) pacientes que según las imágenes adquiridas tenían NPD fue de 23,8 meses (IC 95% 20,4 a 28,6) (**Figura 7**, **Tabla 7**). Para los 42 (30%) pacientes que según las imágenes tenían PD, la mediana de supervivencia fue de 12,9 meses (IC 95% 7,1 a 19,3).

Para los recuentos de CTC en la primera extracción de sangre de seguimiento, realizado 4,3 ± 2,5 semanas (mediana = 4,0 semanas) tras el comienzo de la terapia, la mediana de supervivencia de 104 (75%) pacientes con resultados de CTC Favorable (CTC <5) fue de 21,9 meses (IC 95% 20,4 a 26,9) (**Figura 8**, **Tabla 7**). Treinta y cuatro (34) pacientes (25%) con resultados de CTC No favorable ( ≥ CTC 5) tuvieron una mediana de supervivencia de 8,3 meses (IC 95% 5,9 a 15,1).

Para determinar si las valoraciones de CTC realizadas más cercanas al momento en que la adquisición de imágenes produjo perspectivas de supervivencia parecidas en comparación con las valoraciones de CTC realizadas aproximadamente 4 semanas después del comienzo de la terapia, se analizaron sólo aquellos pacientes cuyos valores de CTC se realizaron dentro de ± un mes del primer estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (9,9 ± 5,1 semanas, mediana = 8,8 semanas tras el comienzo de la terapia) (**Figura 9**, **Tabla 7**). Ciento treinta y cuatro (134) de los 138 pacientes (97%) tuvieron valoraciones de CTC dentro de un mes del primer estudio de adquisición de imágenes de seguimiento. La mediana de supervivencia de 105 (78%) pacientes con resultados de CTC Favorable fue de 21,19 meses (IC 95% 19,9 a 31,6). Para 29 (22%) pacientes con resultados de CTC No favorable, la mediana de supervivencia fue de 8,5 meses (IC 95% 5,5 a 15,1). Estos datos muestran que las valoraciones de CTC en ambos momentos ofrecen resultados similares a los obtenidos por adquisición de imágenes aproximadamente 9 semanas después del comienzo de la terapia (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006).

**Tabla 7: OS de pacientes con MBC con valoración de CTC aproximadamente un mes después del comienzo de la terapia y dentro de un mes de la valoración radiológica**

| | N | Mediana de supervivencia y (IC 95%) meses |
|---|---|---|
| **Adquisición de imágenes** | 138 | |
| Favorable (NPD) | 96 (70%) | 23,8 (20,4 - 28,6) |
| No favorable (PD) | 42 (30%) | 12,9 ( 7,1 - 19,3) |
| | | |
| **1er seguimiento CTC** | 138 | |
| Favorable (<5) | 104 (75%) | 21,9 (20,4 - 26,9) |
| No favorable ( ≥5) | 34 (25%) | 8,3 ( 5,9 - 15,1) |
| | | |
| **CTC (±1 mes de la adquisición de imágenes)** | 134* | |
| Favorable (<5) | 105 (78%) | 21,9 (19,9 - 31,6) |
| No favorable ( ≥5) | 29 (22%) | 8,5 ( 5,5 - 15,1) |

*134/138 pacientes con valoraciones de CTC realizadas dentro de (±) 1 mes de la adquisición de imágenes.

**Figura 7: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con NPD o PD en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=138)**

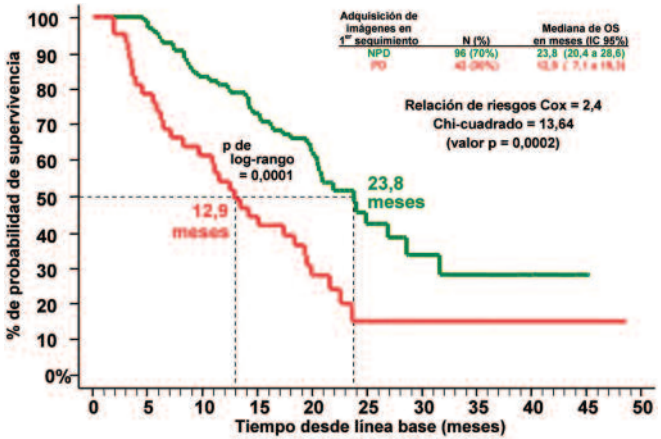


**Figura 8: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con <5 ó ≥ 5 CTC en el 1er seguimiento tras el comienzo de la terapia (N=138)**

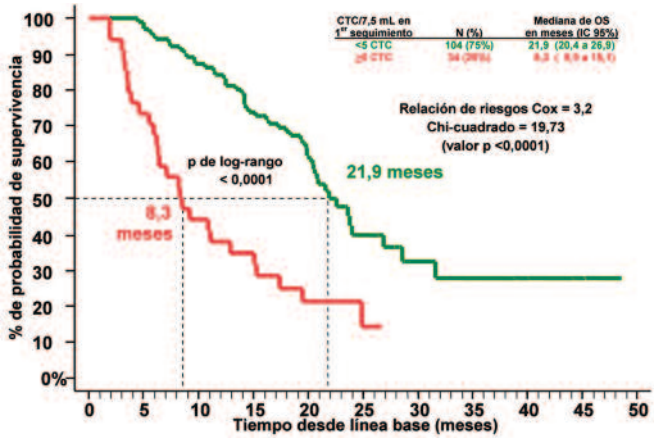
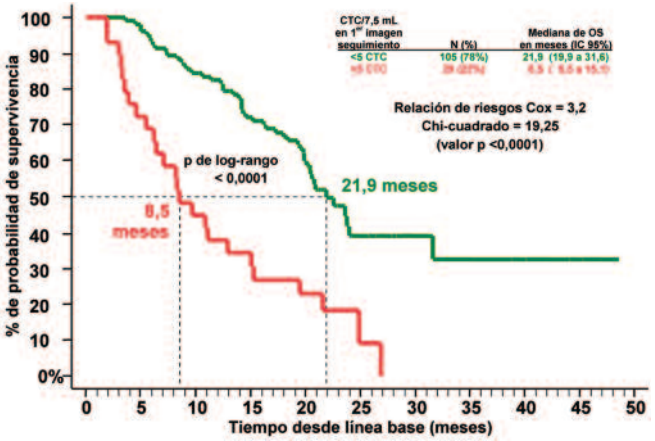



**Figura 9: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MBC con <5 ó ≥ 5 CTC dentro de ± 1 mes del 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=134)**




### 1.4.5 Concordancias entre monitorización de CTC y radiológica

Como se indica anteriormente, los estudios de adquisición de imágenes son parte principal del estándar actual de asistencia para determinar la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento en cáncer de mama metastásico. Para apoyar aún más la eficacia del recuento de CTC a la hora de realizar estas valoraciones clínicas (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006), se crearon tablas dos por dos de las observaciones concordantes y discordantes entre los recuentos de CTC y las imágenes radiológicas usando los criterios anteriormente descritos.

Usando sólo el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, la respuesta radiológica en esta visita se comparó con los resultados de CTC obtenidos dentro de ± un mes de este estudio de adquisición de imágenes. Un total de 134 de los 138 pacientes (97%) tuvieron resultados de CTC que coincidían con estos criterios. El resultado de esta comparación "orientada al paciente" entre los recuentos de CTC y las imágenes se muestra en la **Tabla 8**.

**Tabla 8: Comparación orientada al paciente con MBC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC dentro de ± 1 mes de la adquisición de imágenes | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <5/7,5 mL | CTC ≥ 5/7,5mL | |
| Enfermedad no progresiva | 85 | 9 | **94** |
| Enfermedad progresiva | 20 | 20 | **40** |
| **Total** | **105** | **29** | **134** |

| Medición | Estimación | Inferior CI 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 50% | 34% | 66% |
| % Concordancia negativo | 90% | 83% | 96% |
| Valor predictivo positivo | 69% | 49% | 85% |
| Valor predictivo negativo | 81% | 72% | 88% |
| Concordancia global | 78% | 70% | 85% |
| Razón de probabilidades | 9,4 | 3,4 | 26,8 |

Usando todos los estudios de adquisición de imágenes de seguimiento realizados tras el comienzo de la terapia en los 138 pacientes con MBC que ofrecieron resultados de respuesta radiológica utilizables (n=225), se compararon a continuación estos resultados con los resultados de CTC obtenidos dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes. Un total de 219 de los 225 estudios de adquisición de imágenes (97%) tenían resultados de CTC que satisfacían este criterio. El resultado de esta comparación "orientada a la observación" entre los recuentos de CTC y las imágenes se muestra en la **Tabla 9**.

**Tabla 9: Comparación orientada a la observación de MBC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en todos los estudios de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC dentro de ± 1 mes de la adquisición de imágenes | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <5/7,5 mL | CTC ≥ 5/7,5 mL | |
| Enfermedad no progresiva | 151 | 16 | **167** |
| Enfermedad progresiva | 30 | 22 | **52** |
| **Total** | **181** | **38** | **219** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 42% | 29% | 57% |
| % Concordancia negativo | 90% | 85% | 94% |
| Valor predictivo positivo | 58% | 41% | 74% |
| Valor predictivo negativo | 83% | 77% | 89% |
| Concordancia global | 79% | 73% | 84% |
| Razón de probabilidades | 6.9 | 3.0 | 15.8 |

En las observaciones en serie, sólo una minoría de las transiciones para resultados de adquisición de imágenes entre enfermedad no progresiva y enfermedad progresiva coincidieron con una transición coincidente de los recuentos de CTC entre CTC <5 y ≥ 5/7,5 mL.

Debido a que el valor de pronóstico de los resultados de CTC en un momento anterior era equivalente al de los resultados de CTC en el momento de la adquisición de imágenes (**Figura 8** y **Figura 9**), se realizó una comparación orientada al paciente usando los resultados de sólo el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, realizado aproximadamente 9 semanas después del comienzo de la terapia, y los resultados de CTC obtenidos en el 1er seguimiento, realizado aproximadamente 4 semanas después del comienzo de la terapia. Los 138 pacientes tuvieron resultados de CTC que cumplían este criterio. El resultado de esta comparación "orientada al paciente" entre los recuentos de CTC en un momento anterior y las imágenes se muestra en la **Tabla 10**.

**Tabla 10: Comparación orientada al paciente con MBC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC en el 1er seguimiento | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <5/7,5 mL | CTC ≥ 5/7,5 mL | |
| Enfermedad no progresiva | 84 | 12 | **96** |
| Enfermedad progresiva | 20 | 22 | **42** |
| **Total** | **104** | **34** | **138** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 52% | 36% | 68% |
| % Concordancia negativo | 88% | 79% | 93% |
| Valor predictivo positivo | 65% | 46% | 80% |
| Valor predictivo negativo | 81% | 72% | 88% |
| Concordancia global | 77% | 69% | 84% |
| Razón de probabilidades | 7,7 | 3,0 | 19,9 |

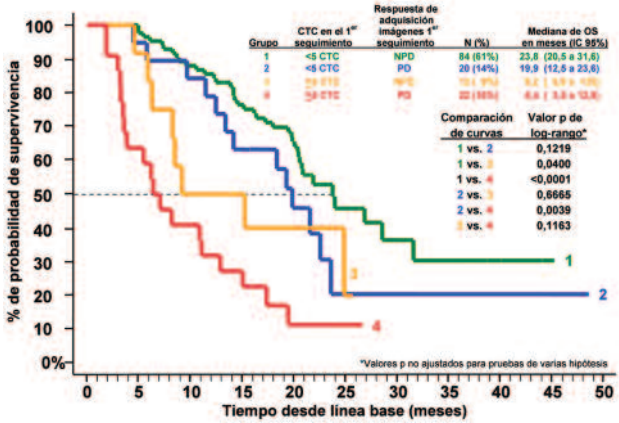
### 1.4.6 CTC como complemento a la adquisición de imágenes

Mientras que la concordancia global entre los CTC y las imágenes adquiridas fue buena (aproximadamente un 78%), hubo discrepancia en aproximadamente el 22% de los pacientes con MBC. Debido a que las valoraciones de CTC están destinadas para su uso conjunto con otras modalidades de diagnóstico para tomar decisiones de tratamiento, la valoración de CTC en el 1er seguimiento (aproximadamente 4 semanas después del comienzo de la terapia) y las imágenes adquiridas en los grupos de seguimiento se compararon con la OS para determinar cuál de los resultados discordantes reflejaba mejor el pronóstico del paciente (**Figura 10**):

- Grupo 1 (curva **verde**), 84 (61%) pacientes con <5 CTC en el 1er seguimiento y NPD;
- Grupo 2 (curva **azul**), 20 (14%) pacientes con <5 CTC en el 1er seguimiento y PD;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 12 (9%) pacientes con ≥ 5 CTC en el 1er seguimiento y NPD;
- Grupo 4 (curva **roja**), 22 (16%) pacientes con ≥ 5 CTC en el 1er seguimiento y PD.

En este estudio, la determinación de CTC es un potente factor de predicción independiente de la supervivencia global. Los resultados del estudio indican que la combinación de valoraciones de CTC y radiológicas es el método más preciso para valorar el pronóstico.

**Figura 10: OS de pacientes con MBC en los grupos 1, 2, 3 y 4 usando la valoración de CTC en el 1er seguimiento tras el comienzo de la terapia (n=138) y el estado de la enfermedad determinado en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento**



### 1.5 Variabilidad de las valoraciones de CTC y radiológicas

#### 1.5.1 CTC

Las variabilidades entre lectores de los recuentos de CTC en la primera extracción de sangre de seguimiento se determinó contando el número de veces que el usuario del centro de la prueba no estaba de acuerdo con el laboratorio central al clasificar una muestra como CTC $\geq$ 5 frente a CTC <5. En un subconjunto de 71 pacientes, se extrajeron y procesaron dos tubos de sangre, y se comparó la clasificación de CTC $\geq$ 5 frente a CTC <5 en cada uno de los tubos según determinaron el centro y el laboratorio central.

#### 1.5.2 Adquisición de imágenes

La variabilidad entre lectores se determinó comparando las interpretaciones radiológicas de los dos radiólogos, clasificadas como NPD frente a PD. La variabilidad intra-lectores se calculó comparando las interpretaciones radiológicas de los dos radiólogos en un subconjunto de pacientes donde cada radiólogo determinó la respuesta en tres sesiones distintas, separadas entre sí por al menos una semana. También se estudiaron los segmentos de adquisición de imágenes de las últimas valoraciones en estos 138 pacientes con MBC y las valoraciones de CTC antes del comienzo de la terapia y en posteriores seguimientos.

**Tabla 11: Variabilidad de las valoraciones de CTC y radiológicas en pacientes con MBC**

| | n | Radiología NPD vs PD discrepancia | n | CTC/7,5 mL <5 vs $\leq$5 discrepancia |
|---|---|---|---|---|
| *Entre lectores* | | | | |
| 1er seguimiento | 132 | 11,4% | 138 | 0,7% |
| Cualquier seguimiento | 217 | 13,4% | 695 | 1,0% |
| *Intra-lectores* | | | | |
| 1er seguimiento | | | | |
| Lector 1 (radiología) | 24 | 25,0% | — | — |
| Lector 2 (radiología) | 22 | 9,1% | — | — |
| Cualquier seguimiento | | | | |
| Lector 1 (radiología) | 30 | 20,0% | — | — |
| Lector 2 (radiología) | 28 | 10,7% | — | — |
| *CTC tubo a tubo* | | | | |
| 1er seguimiento | — | — | 71 | 5,6% |
| Cualquier seguimiento | — | — | 403 | 5,5% |

La **Tabla 11** muestra que la variabilidad entre lectores de las determinaciones radiológicas fue significativamente superior tanto en la primera valoración de seguimiento de la enfermedad como en todas las valoraciones de seguimiento posteriores al compararse con la variabilidad entre lectores de los recuentos de CTC en los mismos grupos (Fisher P<0,001).

En los casos donde hubo discrepancia entre la valoración CTC y la radiológica, CTC proporcionó la valoración más precisa del pronóstico.

## 2 Pacientes con cáncer colorrectal metastásico (MCRC)

Se realizó un ensayo clínico multicentro prospectivo para determinar si el número de CTC predecía la progresión y la supervivencia de la enfermedad. Se inscribió a pacientes con cáncer colorrectal metastásico medible (N=430) que iniciaban una nueva línea terapéutica. Los datos clínicos se analizaron en base a una intención de tratamiento. Los datos demográficos de los pacientes están representados en la **Tabla 12**.

El recuento CTC de línea base fue determinado con anterioridad al inicio de una nueva línea de terapia. Se determinaron los recuentos CTC de seguimiento tras el inicio de la terapia, aproximadamente en intervalos de 3 a 4 semanas. Para los análisis de línea base, se midió la supervivencia libre de progresión (PFS) desde el momento de la extracción de sangre en la línea base hasta el diagnóstico de la progresión mediante exploraciones de Resonancia Magnética y/o signos y síntomas clínicos; se midió la supervivencia global (OS) desde el momento de la extracción de sangre de la línea base hasta el momento de la muerte. Para los análisis de seguimiento, se midió la PFS desde el momento de la extracción de sangre del seguimiento hasta el diagnóstico de la progresión o la muerte, y se midió la OS desde el momento de la extracción de sangre del seguimiento hasta el momento de la muerte.

**Tabla 12: Datos demográficos de los pacientes con MCRC**

| Categoría | | N=430 pacientes |
|---|---|---|
| Edad (en años) en la línea base | Media ± Desv. estándar (mediana) | 63,0 ± 12,6 (64) |
| Años hasta la metástasissi | Media ± Desv. estándar (mediana) | 0,9 ± 1,4 (0,1) |
| | Descripción de categorías | Número de sujetos (% del total) |
| Sexo | Mujer<br>Varón | 192 (45%)<br>238 (55%) |
| Raza | Blanca<br>Negra<br>Otra<br>Desconocido | 305 (71%)<br>44 (10%)<br>12 ( 3%)<br>69 (16%) |
| Puntuación ECOG en línea base | 0<br>1<br>2<br>Desconocido | 196 (46%)<br>187 (43%)<br>31 ( 7%)<br>16 ( 4%) |
| Tipo de tumor en Diagnóstico primario | Colon<br>Rectal<br>Colorrectal<br>Desconocido | 292 (68%)<br>71 (17%)<br>66 (15%)<br>1 ( 0%) |
| Etapa en Diagnóstico primario | 1<br>2<br>3<br>4<br>Desconocido | 12 ( 3%)<br>45 (11%)<br>118 (27%)<br>232 (54%)<br>23 ( 5%) |
| Metástasis hepática | No<br>Sí | 117 (27%)<br>313 (73%) |
| Línea de terapia | 1ª línea<br>2ª línea<br>3ª línea | 309 (72%)<br>95 (22%)<br>26 ( 6%) |
| Tipo de terapia | Bevacizumab<br>Irinotecan<br>Oxaliplatin<br>Desconocido | 243 (56%)<br>103 (24%)<br>253 (59%)<br>25 ( 6%) |

## 2.1 Frecuencias de CTC

Del número total de 430 pacientes con MCRC, a 9 se les extrajo sangre en la línea base y no se les realizó extracciones de seguimiento. De estos 9 pacientes, cuatro de ellos murieron antes de que pudiera realizarse una extracción de sangre de seguimiento, a dos se les apartó de la terapia a causa de la toxicidad del tratamiento, un paciente fue sometido a cirugía para eliminar su enfermedad medible, otro paciente rechazó seguir siendo tratado y otro paciente rehusó que se le realizaran más extracciones de sangre. De los pacientes restantes, 362, 342, 321 y 211 tuvieron extracciones de sangre de seguimiento 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia, respectivamente. La diferencia en el número de pacientes evaluables para PFS y OS en cada momento se debe a la progresión de algunos pacientes antes de la extracción de sangre, mientras que la diferencia en el número de pacientes en cada momento se debe al número de pacientes con extracciones de sangre y resultados CTC evaluables.

La **Tabla 13** muestra el número de pacientes en cada momento excluidos de los análisis de PFS, de OS, o de PFS y OS y los motivos de su exclusión.

**Tabla 13: Exclusiones de los análisis de supervivencia libre de progresión y de supervivencia global en pacientes con MCRC**

| Momento de la extracción de sangre | Razones de exclusión de los análisis de los pacientes con MCRC: | | | | | | N.º total de pacientes con MCRC evaluable: | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | PFS y OS | | | | Sólo PFS | Sólo OS | | |
| | No se extrajo sangre | Sangre extraída 1-7 días después de la administración de la terapia | Sin seguimiento después de la fecha de extracción de sangre | Sin resultados CTC evaluables | Sangre extraída después de la fecha de la progresión de la enfer- | Sin seguimiento después de la fecha de extracción de sangre | PFS | OS |
| Línea base | 1 | 11 | 0 | 5 | 0 | 0 | 413 | 413 |
| 1-2 semanas | 68 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 356 | 357 |
| 3-5 semanas | 88 | 0 | 1 | 8 | 4 | 0 | 329 | 333 |
| 6-12 semanas | 109 | 0 | 4 | 7 | 26 | 0 | 284 | 310 |
| 13-20 semanas | 219 | 0 | 9 | 8 | 14 | 1 | 180 | 193 |

Los resultados de CTC obtenidos de las extracciones de sangre de seguimiento en las semanas 1-2, 3-5, 6-12, 6-12 y 13-20 tras el inicio de la terapia se clasificaron como favorables (<3 CTC) o desfavorables (≥ 3 CTC). Si se obtuvo más de un resultado de CTC dentro de cualquiera de los momentos de seguimiento designados, se utilizó el resultado de CTC de la extracción de sangre más alejado de la línea base.

La **Tabla 15** resume el número total de pacientes MCRC y el porcentaje de pacientes con CTC desfavorable en el ensayo clínico que difieren de la cantidad y porcentajes de pacientes de la supervivencia libre de progresión mostrados en la **Tabla 14**.

### 2.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MCRC

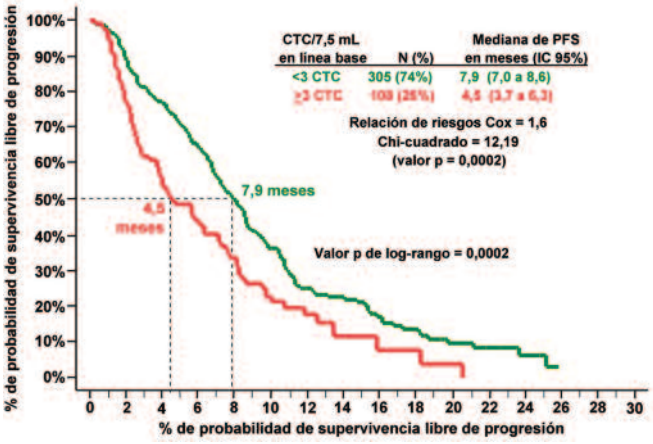
#### 2.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base

Cuatrocientos trece (413) de los 430 pacientes con MCRC contaban con un resultado de CTC en línea base disponible. Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=305), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <3.
- El grupo No favorable (N=108), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con CTC ≥ 3.

La PFS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación con el grupo No favorable (7,9 frente a 4,5 meses, respectivamente). Los resultados se muestran en la **Figura 11** y en la **Tabla 14**.

**Figura 11: PFS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en línea base (N=413).**

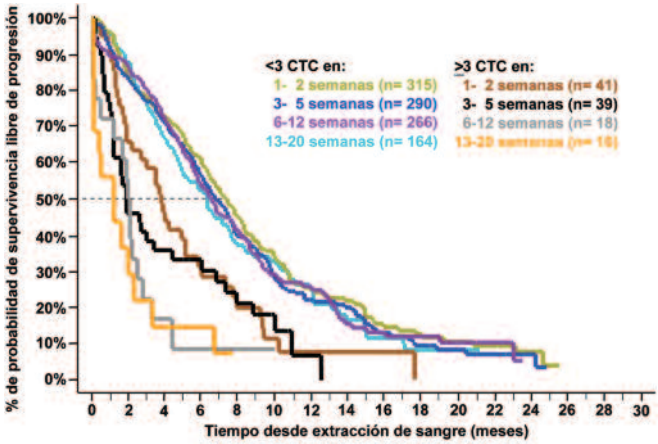



#### 2.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes con MCRC fueron segmentados en dos grupos en base a su recuento de CTC en cada una de las diversas extracciones de sangre de seguimiento: Ambos grupos de pacientes en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre de seguimiento tras el inicio de la terapia para PFS se ilustran en la **Figura 12**. Los momentos de PFS se calcularon a partir del momento de cada extracción de sangre, y los pacientes que mostraban signos de progresión antes de la extracción fueron excluidos del análisis de esa extracción y de las posteriores extracciones de sangre de seguimiento. La **Figura 12** ilustra la capacidad de CTC en pacientes con MCRC con CTC <3 y ≥ 3, 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia, para predecir la PFS.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con CTC <3.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja**, consistía en pacientes con CTC ≥ 3.

**Figura 12: PFS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en diferentes momentos del seguimiento**




La **Tabla 14** resume los resultados del análisis de la PFS utilizando los niveles CTC y un umbral de ≥ 3 CTC/7,5 mL en cada uno de los distintos momentos de extracción de sangre.

**Tabla 14: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en distintos momentos**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento | N | ≥ 3 CTC | PFS media en meses (IC 95%) | | Valor p log-rango |
| | | | <3 CTC | ≥ 3 CTC | |
| Línea base | 413 | 108 (26%) | 7,9 (7,0 – 8,6) | 4,5 (3,7 – 6,3) | 0,0002 |
| 1-2 semanas | 356 | 41 (12%) | 7,3 (6,5 – 8,1) | 3,8 (1,9 – 5,1) | <0,0001 |
| 3-5 semanas | 329 | 39 (12%) | 6,8 (6,1 – 7,6) | 1,9 (1,2 – 4,4) | <0,0001 |
| 6-12 semanas | 284 | 18 ( 6%) | 6,5 (5,8 – 7,7) | 2,0 (0,5 – 2,5) | <0,0001 |
| 13-20 semanas | 180 | 16 ( 9%) | 6,3 (4,9 – 7,4) | 1,2 (0,1 – 2,3) | <0,0001 |

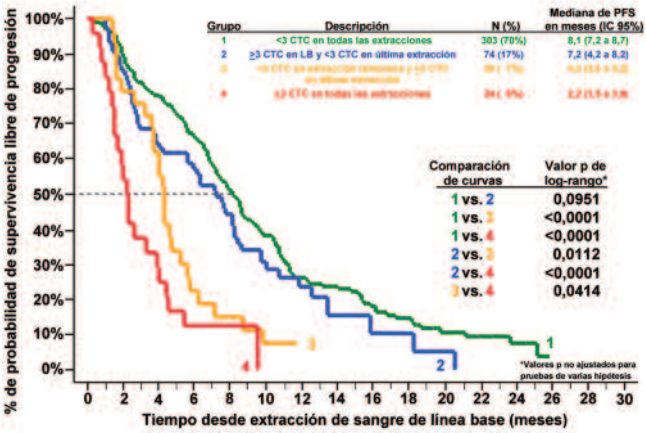
Según se ilustra en la **Figura 12** y en la **Tabla 14**, los pacientes con MCRC con niveles de CTC elevados (CTC ≥ 3/7,5 mL de sangre total) en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mayor de progresión rápida que los que presentaron CTC <3. En la **Tabla 14**, columna 4, se muestra que la mediana de los tiempos de PFS para los pacientes con CTC <3 fueron entre 6,3 y 7,9 meses y resultaron bastante más largos que la mediana de tiempos PFS para los pacientes con CTC ≥ 3, que fue de 1,2 a 4,5 meses (columna 5).

### 2.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida

Los tiempos de PFS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier (**Figura 13**), los pacientes con MCRC fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia:

- Grupo 1 (curva **verde**), 303 (70%) pacientes con <3 CTC en todos los momentos. Siete (2%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que ocho (3%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de ≥ 3;
- Grupo 2 (curva **azul**), 74 (17%) pacientes con CTC ≥ 3 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <3 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 29 (7%) pacientes con CTC <3 en una extracción temprana (línea base, 1-2 semanas y/o 3-5 semanas) pero que aumentó a CTC ≥ 3 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 24 (6%) pacientes con CTC ≥ 3 en todos los momentos. Tres (13%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, uno (4%) tuvo una única extracción de sangre a 3-5 semanas, y uno (4%) tuvo una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de <3.

**Figura 13: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 3 tras el inicio de la terapia predice una PFS en pacientes con MCRC**




La **Figura 13** muestra que los pacientes con MCRC con un CTC ≥ 3 en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de PFS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de PFS del **Grupo 3**, **Grupo 2** y **Grupo 1**. La diferencia en la mediana de PFS entre los pacientes que mostraban una reducción de CTC tras el inicio de la terapia (**Grupo 2**) fue significativamente más larga que los pacientes que mostraban un incremento de CTC (**Grupo 3**).

### 2.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MCRC

#### 2.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base

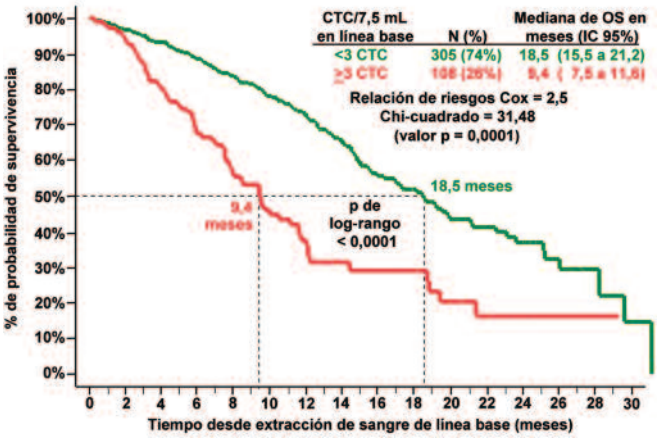
Doscientos dos (202) de 430 pacientes con MCRC (47%) murieron, con un tiempo de seguimiento medio para los 228 pacientes (53%) aún vivos de 12,6 ± 6,5 meses (mediana = 11,0, intervalo = 0,8 a 30,0). En la fecha de realización de estos análisis, 124 (41%) de los 305 pacientes del grupo Favorable (CTC <3 en línea base) comparados con los 68 (63%) de los 108 del grupo No favorable (CTC ≥ 3 en línea base) habían muerto.

Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=305), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <3.
- El grupo No favorable (N=108), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con ≥ 3 CTC.

La OS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación al grupo No favorable (18,5 frente a 9,4 meses, respectivamente). Estos resultados se ilustran en la **Figura 14**.

**Figura 14: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en línea base (N=413).**

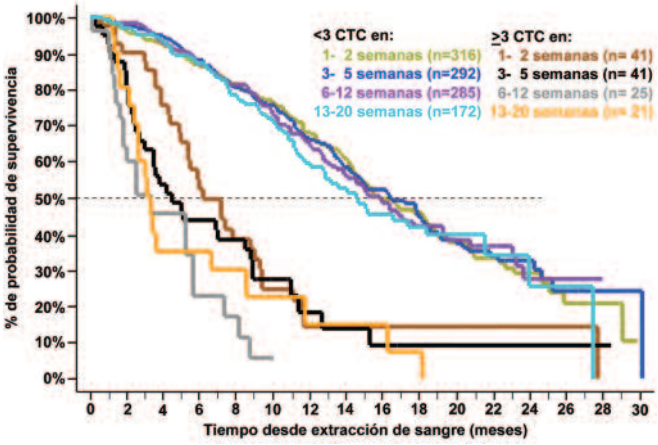



### 2.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Los análisis Kaplan-Meier de ambos grupos de pacientes con MCRC en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre posteriores al inicio de la terapia se ilustran en la **Figura 15**. Esta figura ilustra la capacidad de CTC en pacientes con MCRC con un CTC <3 y ≥ 3, 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia para predecir el tiempo hasta la muerte en 421 pacientes con cáncer colorrectal metastásico. Los tiempos de OS se calcularon a partir del momento de la última extracción de sangre.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con CTC <3.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja**, consistía en pacientes con CTC ≥ 3.

**Figura 15: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en diferentes momentos del seguimiento.**




La **Tabla 15** resume los resultados del análisis de OS usando los niveles de CTC y un umbral de ≥ 3 CTC/7,5 mL en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre.

**Tabla 15: Supervivencia global (OS) para pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥ 3 en distintos momentos**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento | N | ≥ 3 CTC | OS media en meses (IC 95%) | | Valor p log-rango |
| | | | <3 CTC | ≥ 3CTC | |
| Línea base | 413 | 108 (26%) | 18,5 (15,5 – 21,2) | 9,4 (7,5 – 11,6) | <0,0001 |
| 1-2 semanas | 357 | 41 (11%) | 15,7 (14,3 – 18,4) | 6,1 (4,9 – 8,9) | <0,0001 |
| 3-5 semanas | 333 | 41 (12%) | 16,4 (14,1 – 18,3) | 4,4 (2,6 – 8,7) | <0,0001 |
| 6-12 semanas | 310 | 25 ( 8%) | 15,8 (13,8 – 19,2) | 3,3 (1,8 – 5,6) | <0,0001 |
| 13-20 semanas | 193 | 21 (11%) | 14,6 (12,0 – 21,5) | 3,3 (2,4 – 8,5) | <0,0001 |

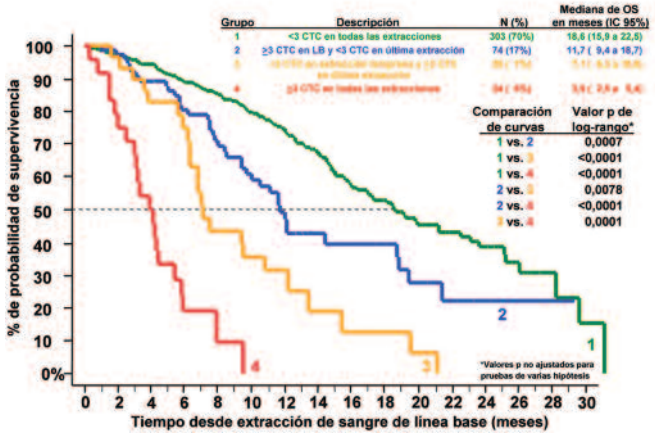
Según se ilustra en la **Figura 15** y en la **Tabla 15** en las columnas 4 y 5, los pacientes con MCRC con CTC ≥ 3 en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mucho mayor de fallecer antes que los que presentaron CTC <3. La mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC <3 oscilaron entre 14,6 y 18,5 meses y resultaron bastante más largos que la mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC ≥ 3, comprendidos entre 3,3 y 9,4 meses.

### 2.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida

Los tiempos de OS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier (**Figura 16**), los pacientes con MCRC fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas:

- Grupo 1 (curva **verde**), 303 (70%) pacientes con <3 CTC en todos los momentos. Siete (2%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que ocho (3%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de ≥ 3;
- Grupo 2 (curva **azul**), 74 (17%) pacientes con CTC ≥ 3 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <3 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 29 (7%) pacientes con CTC <3 en una extracción temprana (línea base, 1-2 semanas y/o 3-5 semanas) pero que aumentó a CTC ≥ 3 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 24 (6%) pacientes con CTC ≥ 3 en todos los momentos de extracción. Tres (13%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, uno (4%) tuvo una única extracción de sangre a 3-5 semanas, y uno (4%) tuvo una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de <3.

**Figura 16: Una reducción en el CTC inferior a 3 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 3 ó más predice una OS más corta en pacientes con MCRC.**



La **Figura 16** muestra que los pacientes con MCRC que superaban el umbral de 3 CTC en cualquier punto tras el inicio de la terapia tenían una probabilidad mucho mayor de morir antes. Los pacientes con un CTC ≥ 3 en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de OS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de OS del **Grupo 3**, el **Grupo 2** y el **Grupo 1**. Los pacientes con un CTC <3 en todos los momentos (**Grupo 1**) presentaron la mediana de OS más larga, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de OS del **Grupo 4**, el **Grupo 3** y el **Grupo 2**. La **Figura 16** muestra también que los pacientes que mostraron una reducción de CTC (**Grupo 2**), tenían un riesgo de muerte significativamente menor en comparación con los pacientes con un incremento de CTC (**Grupo 3**).

### 2.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MCRC

Se evaluaron los siguientes parámetros usando el análisis de regresión univariante de Cox para evaluar la asociación con la PFS y la OS: edad del paciente, etapa de la enfermedad en el diagnóstico (1-4), tiempo hasta la metástasis (continuo), edad del paciente ( ≥ 65 ó <65), localización de la enfermedad primaria (colorrectal, rectal, o colon), estado de ECOG antes de la iniciación de una nueva línea de terapia (0-2), línea de terapia (1ª, 2ª ó 3ª), presencia de metástasis (sí o no), tipo de terapia (bevacizumab, irinotecan y/o oxaliplatin incluidas o no), recuentos de CTC en línea base (CTC ≥ 3 ó <3/7,5 mL y recuentos de CTC de seguimiento a las 1-2 semanas, 3-5 semanas, 6-12 semanas y 13-20 semanas tras el comienzo de la terapia (CTC ≥ 3 ó <3/7,5 mL). La **Tabla 16** muestra los resultados de este análisis y presenta la relación de riesgos Cox (HR) y el valor p asociado (prueba de Wald de la estadística Z), así como el número de pacientes en cada evaluación.

**Tabla 16: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MCRC**

| Parámetro | Categorías | | N.º de pacientes con MCRC | Riesgo PFS desde la línea base | | Riesgo OS desde la línea base | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positivo | Negativo | | HR | Valor p | HR | Valor p |
| Sexo | Varón (1) | Mujer (0) | 430 | 1,01 | 0,944 | 1,23 | 0,156 |
| Etapa en el diagnóstico primario | 4 vs. 3 vs. 2 vs. 1 | | 407 | 0,98 | 0,734 | 1,09 | 0,330 |
| Tiempo hasta la metástasis | Tiempo en años | | 428 | 1,00 | 0,901 | 0,92 | 0,121 |
| Edad en la extracción de sangre en la línea base | ≥ 65 años | <65 años | 430 | 1,65 | <0,001 | 1,82 | <0,001 |
| Localización enfermedad primaria | Colorrectal (2) vs. Rectal (1) vs. Colon (0) | | 429 | 1,03 | 0,733 | 1,02 | 0,866 |
| Estado ECOG en línea base | 2 vs. 1 vs. 0 | | 414 | 1,32 | 0,002 | 1,65 | <0,001 |
| Línea de terapia | 3 vs. 2 vs. 1 | | 430 | 2,04 | <0,001 | 1,63 | <0,001 |
| Metástasis hepática | Sí | No | 430 | 0,86 | 0,225 | 1,23 | 0,198 |
| Bevacizumab | Sí | No | 405 | 0,54 | <0,001 | 0,62 | 0,001 |
| Irinotecan | Sí | No | 405 | 1,51 | 0,001 | 1,39 | 0,029 |
| Oxaliplatin | Sí | No | 405 | 0,53 | <0,001 | 0,69 | 0,008 |
| Número CTC de la línea base | ≥ 3 | <3 | 413 | 1,59 | <0,001 | 2,48 | <0,001 |
| Número CTC 1-2 semanas | ≥ 3 | <3 | 357 | 2,02 | <0,001 | 3,23 | <0,001 |
| Número CTC 3-5 semanas | ≥ 3 | <3 | 334 | 2,19 | <0,001 | 4,23 | <0,001 |
| Número CTC 6-12 semanas | ≥ 3 | <3 | 314 | 4,59 | <0,001 | 10,88 | <0,001 |
| Número CTC 13-20 semanas | ≥ 3 | <3 | 203 | 5,07 | <0,001 | 4,88 | <0,001 |

### 2.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MCRC

Se realizaron análisis de regresión multivariante de Cox para evaluar la capacidad predictiva independiente del recuento de CTC ajustando para los efectos de los factores clínicos importantes conocidos que son estadísticamente significativos en los análisis univariantes. Se halló que los valores de CTC son importantes datos pronósticos de PFS y OS (**Tabla 17**).

**Tabla 17: Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MCRC**

| Variable | N | Riesgo PFS desde la línea base | | Riesgo OS desde la línea base | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Relación de riesgos | Valor p | Relación de riesgos | Valor p |
| **CTC línea base (<3 vs. ≥3)** | 373 | 1,76 | <0,001 | 2,46 | <0,001 |
| Edad en línea base (<65 vs. ≥65) | | 1,47 | 0,002 | 1,84 | <0,001 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,16 | 0,107 | 1,48 | 0,001 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª vs. 3ª) | | 1,59 | <0,001 | 1,41 | 0,009 |
| Bevacizumab (No vs. Sí) | | 0,65 | 0,001 | 0,68 | 0,021 |
| Irinotecan (No vs. Sí) | | 0,76 | 0,156 | 1,25 | 0,363 |
| Oxaliplatin (No vs. Sí) | | 0,57 | 0,002 | 1,00 | 0,984 |
| | | | | | |
| **CTC 1-2 semanas (<3 vs. ≥3)** | 321 | 1,76 | 0,003 | 2,77 | <0,001 |
| Edad en línea base (<65 vs. ≥65) | | 1,53 | 0,001 | 1,85 | <0,001 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,26 | 0,025 | 1,54 | 0,001 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª vs. 3ª) | | 1,76 | <0,001 | 1,62 | 0,001 |
| Bevacizumab (No vs Si) | | 0,66 | 0,003 | 0,77 | 0,156 |
| Irinotecan (No vs. Sí) | | 0,67 | 0,066 | 1,25 | 0,402 |
| Oxaliplatin (No vs. Sí) | | 0,53 | 0,002 | 0,97 | 0,904 |
| | | | | | |
| **CTC 3-5 semanas (<3 vs. ≥3)** | 302 | 2,35 | <0,001 | 4,54 | <0,001 |
| Edad en línea base (<65 vs. ≥65) | | 1,58 | 0,001 | 2,06 | <0,001 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,16 | 0,149 | 1,33 | 0,032 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª vs. 3ª) | | 1,74 | <0,001 | 1,65 | 0,001 |
| Bevacizumab (No vs. Sí) | | 0,68 | 0,007 | 0,86 | 0,410 |
| Irinotecan (No vs. Sí) | | 0,58 | 0,012 | 0,99 | 0,966 |
| Oxaliplatin (No vs. Sí) | | 0,47 | <0,001 | 0,88 | 0,594 |
| | | | | | |
| **CTC 6-12 semanas (<3 vs. ≥3)** | 279 | 3,04 | <0,001 | 9,43 | <0,001 |
| Edad en línea base (<65 vs. ≥65) | | 1,43 | 0,013 | 1,73 | 0,005 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,30 | 0,027 | 1,53 | 0,004 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª vs. 3ª) | | 1,73 | <0,001 | 1,20 | 0,282 |
| Bevacizumab (No vs. Sí) | | 0,61 | 0,001 | 0,82 | 0,337 |
| Irinotecan (No vs. Sí) | | 0,78 | 0,258 | 1,47 | 0,181 |
| Oxaliplatin (No vs. Sí) | | 0,62 | 0,020 | 1,35 | 0,278 |
| | | | | | |
| **CTC 13-20 semanas (<3 vs. ≥3)** | 186 | 4,50 | <0,001 | 4,97 | <0,001 |
| Edad en línea base (<65 vs. ≥65) | | 1,26 | 0,218 | 1,55 | 0,061 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,13 | 0,417 | 1,13 | 0,526 |
| Línea de terapia (1ª vs. 2ª vs. 3ª) | | 1,68 | 0,004 | 1,12 | 0,628 |
| Bevacizumab (No vs. Sí) | | 0,68 | 0,058 | 0,89 | 0,655 |
| Irinotecan (No vs. Sí) | | 0,73 | 0,311 | 1,20 | 0,636 |
| Oxaliplatin (No vs. Sí) | | 0,65 | 0,135 | 1,31 | 0,477 |

### 2.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico del cáncer colorrectal metastásico

#### 2.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante adquisición de imágenes

La adquisición de imágenes radiológicas es uno de los principales medios para determinar el estado de la enfermedad y la respuesta a la terapia en pacientes con cáncer colorrectal metastásico. Para establecer la relación entre los recuentos de CTC medidos en dos momentos diferentes con el estado clínico que determina la adquisición de imágenes, se compararon las CTC y los resultados de las imágenes 1) con el punto final clínico de la supervivencia global y 2) entre sí.

#### 2.4.2 CTC

Datos anteriores han mostrado que pacientes con cáncer colorrectal metastásico con CTC ≥ 3/7,5 mL de sangre en cualquier visita de seguimiento posterior al inicio de la terapia tenían una probabilidad mayor de enfermedad en progresión y supervivencia global reducida en comparación con los pacientes con CTC <3/7,5 mL de sangre.

Los resultados de CTC obtenidos 3-5 semanas tras el comienzo de la terapia, así como los resultados de CTC obtenidos dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes se clasificaron como Favorable (<3 CTC) y No favorable ( ≥ 3 CTC). Cuando se obtuvo más de un valor CTC dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes, se utilizó el resultado de CTC obtenido más cercano a la fecha del estudio de adquisición de imágenes.

#### 2.4.3 Adquisición de imágenes

Cada paciente con MCRC tenía una enfermedad medible, esto es, un tamaño de lesión de un mínimo de 2 cm y un máximo de 10 lesiones. El método de adquisición de imágenes para cada paciente fue determinado por el oncólogo del tratamiento y según el estándar actual de atención. Se realizó una tomografía computerizada o una resonancia magnética del pecho, el abdomen y la pelvis con el requisito de que todas las lesiones observadas en la línea base fueran controladas usando el mismo método en todos los estudios de adquisición de imágenes posteriores. La interpretación de las imágenes fue realizada por un radiólogo certificado en el centro participante usando criterios unidimensionales RECIST para clasificar cada valoración de seguimiento de la enfermedad como respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SD) o enfermedad en progresión (PD).

Las imágenes de cada paciente fueron obtenidas en un mínimo de dos puntos y en hasta 8 momentos diferentes. Estos estudios incluían una imagen en la línea base e imágenes a intervalos posteriores de 2-3 meses (6-12 semanas) y una imagen final en el momento en el que el paciente abandona el estudio. Se enviaron copias de todos los estudios de adquisición de imágenes del paciente al coordinador del estudio en cada centro clínico para archivar los datos clínicos del paciente.

Del total de 430 pacientes con MCRC evaluable inscritos en el estudio, a 28 (7%) no se les realizó un estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, 18 (4%) murieron antes de poder realizarlo, y a 384 (89%) se les realizó uno o más estudios de adquisición de imágenes de seguimiento que fueron valorados según los criterios de RECIST. En el momento del 1er seguimiento de los 384 pacientes con un estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, 4 (1%) mostraron una respuesta completa, 117 (31%) una respuesta parcial, 186 (48%) tenían una enfermedad estable y 77 (20%) mostraban una enfermedad en progresión. Para los fines de este análisis, se consideró que los pacientes que murieron antes del estudio de adquisición de imágenes de seguimiento tenían una enfermedad en progresión.

Para la respuesta a la terapia en la valoración de la enfermedad en el primer seguimiento, el grupo Favorable se definió como el que presentaba una enfermedad estable (ES), una respuesta parcial (PR) o una respuesta completa (PR) según los criterios RECIST (enfermedad sin progresión, NPD) y el grupo No favorable como el que presentaba enfermedad en progresión (PD) o muerte.

#### 2.4.4 Relación de supervivencia entre imágenes y CTC

Se realizaron análisis Kaplan-Meier separados para comparar la supervivencia global de los pacientes con MCRC en los grupos Favorable (CTC <3) y No favorable (CTC ≥ 3) usando los resultados de CTC de dos momentos diferentes y el primer estudio de imágenes de seguimiento. Usando los resultados de los primeros estudios de imágenes de seguimiento realizados 9,1 ± 2,9 semanas (mediana = 8,6 semanas) tras el comienzo de la terapia (es decir, la extracción de sangre en la línea base), la mediana de supervivencia de los 307 (76%) pacientes que según las imágenes adquiridas tenían NPD fue de 19,1 meses (IC 95% = 17,0 a 23,1) (**Figura 17**, **Tabla 18**). Para los 95 (24%) pacientes que según las imágenes tenían PD, la mediana de supervivencia fue de 5,8 meses (IC 95% = 4,4 a 7,7).

A un total de 320 pacientes con MCRC se les realizó un estudio de adquisición de imágenes antes y después del inicio de la terapia o bien murieron antes de se les realizara un estudio de adquisición de imágenes de seguimiento y se les valoró el CTC 3-5 tras el inicio de la terapia (promedio = 3,8 ± 0,7 semanas desde la extracción de sangre en línea base, mediana = 4,0 semanas). La mediana de supervivencia de 282 (88%) pacientes con resultados de CTC Favorable (<3 CTC) fue de 17,3 meses (IC 95% = 15,0 a 19,5 meses) (**Figura 18**, **Tabla 18**). Los 38 pacientes (12%) con resultados de CTC No favorable (≥ 3 CTC) tuvieron una mediana de supervivencia de 5,4 meses (IC 95% = 3,6 a 9,4 meses).

Para determinar si las valoraciones de CTC realizadas más cercanas al momento en que la adquisición de imágenes produjo perspectivas de supervivencia parecidas en comparación con las valoraciones de CTC realizadas aproximadamente 4 semanas después del comienzo de la terapia, se analizaron sólo aquellos pacientes cuyos valores de CTC se realizaron dentro de ± un mes del primer estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (**Figura 19**, **Tabla 18**). Trescientos sesenta y cuatro (364) de los 402 pacientes (91%) tuvieron valoraciones de CTC dentro de un mes del primer estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, que fue realizado 9,0 ± 2,9 semanas (mediana = 8,5 semanas) tras el inicio de la terapia. La mediana de supervivencia de 335 (92%) pacientes con resultados de CTC Favorable fue de 17,2 meses (IC 95% = 15,0 a 19,2 meses). Para 29 (8%) pacientes con resultados de CTC No favorable, la mediana de supervivencia fue de 5,4 meses (IC 95% = 3,2 a 7,5 meses). Estos datos mostraron que las valoraciones de CTC en ambos momentos ofrecían resultados similares a los obtenidos por adquisición de imágenes aproximadamente nueve semanas después del comienzo de la terapia.

En este estudio, la aplicación del análisis de regresión multivariante de Cox para ajustar la adquisición de imágenes indicó que tanto CTC como la adquisición de imágenes a 6-12 semanas se asocian independientemente con una supervivencia global, pero que los CTC [relación de riesgos ajustada: 7,9 (4,6-13,6)] son un factor de predicción más importante que la adquisición de imágenes [relación de riesgos ajustada: 3,1 (2,1-4,6)].

**Tabla 18: OS de pacientes con MCRC con valoración de CTC aproximadamente un mes después del comienzo de la terapia y dentro de un mes de la valoración radiológica**

| | N | Mediana de supervivencia y (IC 95%) en meses |
|---|---|---|
| **A. Adquisición de imágenes** | 402 | |
| Favorable (NPD) | 307 (76%) | 19,1 (17,0 - 23,1) |
| No favorable (PD) | 95 (24%) | 5,8 ( 4,4 - 7,7) |
| | | |
| **B. CTC 3-5 semanas** | 320 | |
| Favorable (<3 CTC) | 282 (88%) | 17,3 (15,0 - 19,5) |
| No favorable ( ≥ 3 CTC) | 38 (12%) | 5,4 ( 3,6 - 9,4) |
| | | |
| **C. CTC (±1 mes de adquisición de imágenes)** | 364 | |
| Favorable (<3 CTC) | 335 (92%) | 17,2 (15,0 - 19,2) |
| No favorable ( ≥ 3 CTC) | 29 ( 8%) | 5,4 ( 3,2 - 7,5) |

**Figura 17: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con NPD ó PD en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento (N=402)**

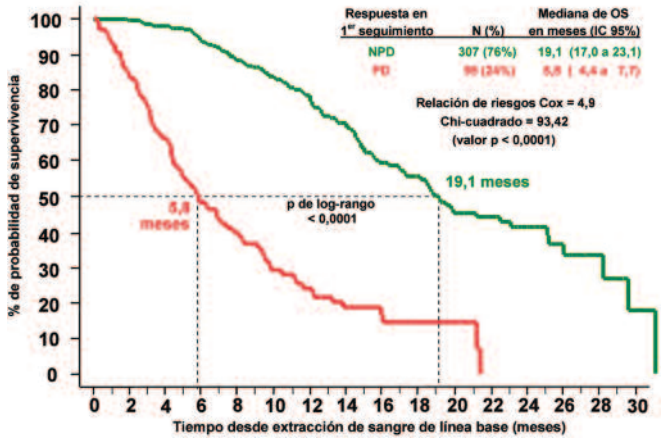



**Figura 18: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥3 en el 1er seguimiento tras el inicio de la terapia (N=320)**

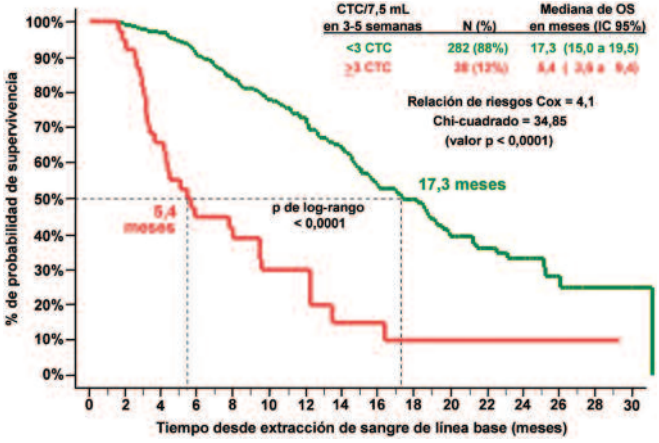
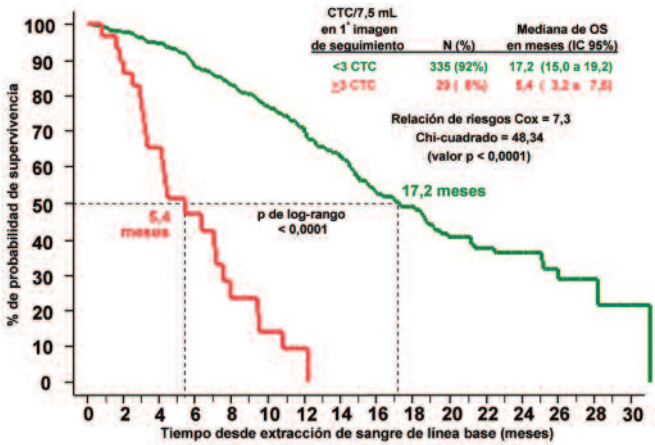


**Figura 19: Correlación de valoración radiológica y de CTC con OS: OS de pacientes con MCRC con CTC <3 ó ≥3 dentro de ±1 mes del 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento o la muerte (N=364)**




### 2.4.5 Concordanze fra CTC e monitoraggio radiologico nei pazienti MCRC

Como se indica anteriormente, los estudios de adquisición de imágenes son parte principal del estándar actual de asistencia para determinar la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento en cáncer colorrectal metastásico. Para apoyar aún más la eficacia de los recuentos de CTC a la hora de realizar estas valoraciones clínicas, se crearon tablas dos por dos de las observaciones concordantes y discordantes entre los recuentos de CTC y las imágenes radiológicas.

Para la respuesta a la terapia, el grupo Favorable se definió como el que presentaba una enfermedad estable (SD), una respuesta parcial (PR) o una respuesta completa (CR) según los criterios RECIST (enfermedad sin progresión, NPD) y el grupo No favorable como el que presentaba enfermedad en progresión (PD). De estos 18 pacientes que murieron antes del estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, a 10 se les había realizado una extracción de sangre de seguimiento a 30 días de la muerte, y a estos 10 se les clasificó como con enfermedad en progresión (PD) a fines de estas comparaciones.

Los resultados de CTC obtenidos dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes se clasificaron como Favorable (<3 CTC) y No favorable (≥ 3 CTC). Cuando se obtuvo más de un valor CTC dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes, se utilizó el resultado de CTC obtenido más cercano a la fecha del estudio de adquisición de imágenes. Este análisis utilizó todas las extracciones de sangre evaluables de los pacientes para comparar el CTC con los estudios de adquisición de imágenes, no sólo los seleccionados para los momentos designados, como se describe en el apartado 2.1 anterior.

Un total de 366 pacientes con MCRC tenían resultados de CTC dentro de un mes del estudio de adquisición de imágenes o de la muerte. El resultado de esta comparación "orientada al paciente" entre los recuentos de CTC y la adquisición de imágenes (o muerte) se muestra en la **Tabla 19**.

**Tabla 19: Comparación orientada al paciente con MCRC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC dentro de ± 1 mes de la adquisición de imágenes o la muerte | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <3/7,5 mL | CTC ≥ 3/7,5 mL | |
| Enfermedad no progresiva | 272 | 13 | **285** |
| Enfermedad progresiva | 65 | 16 | **81** |
| **Total** | **337** | **29** | **366** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 20% | 12% | 30% |
| % Concordancia negativo | 95% | 92% | 98% |
| Valor predictivo positivo | 55% | 36% | 74% |
| Valor predictivo negativo | 81% | 76% | 85% |
| Concordancia global | 79% | 74% | 83% |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Razón de probabilidades | 5,2 | 2,4 | 11,2 |

De los 384 pacientes con MCRC con uno o más estudios de adquisición de imágenes de seguimiento, se realizaron un total de 911 estudios de adquisición de imágenes que tuvieron una respuesta radiológica utilizable. Un total de 805 de los 911 estudios de adquisición de imágenes (88%) tenían resultados de CTC obtenidos dentro de ± un mes del estudio de adquisición de imágenes. De estos 18 pacientes que murieron antes del estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, a 10 se les había realizado una extracción de sangre de seguimiento a 30 días de la muerte, y a estos 10 se les clasificó como con enfermedad en progresión (PD) a fines de estas comparaciones. El resultado de esta comparación "orientada a la observación" entre los recuentos de CTC y la adquisición de imágenes (o muerte) en las 815 observaciones se muestra en la **Tabla 20**.

**Tabla 20: Comparación orientada a la observación de MCRC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en todos los estudios de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC dentro de ± 1 mes de la adquisición de imágenes o la muerte | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <3/7,5 mL | CTC ≥ 3/7,5 mL | |
| Enfermedad no progresiva | 597 | 33 | **630** |
| Enfermedad progresiva | 147 | 38 | **185** |
| **Total** | **744** | **71** | **815** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 21% | 15% | 27% |
| % Concordancia negativo | 95% | 93% | 96% |
| Valor predictivo positivo | 54% | 41% | 65% |
| Valor predictivo negativo | 80% | 77% | 83% |
| Concordancia global | 78% | 75% | 81% |
| Razón de probabilidades | 4,7 | 2,8 | 7,7 |

En las observaciones en serie, sólo una minoría de las transiciones para resultados de adquisición de imágenes entre enfermedad no progresiva y enfermedad progresiva coincidieron con una transición coincidente de los recuentos de CTC entre CTC <3 y ≥ 3/7,5 mL.

Debido a que el valor de pronóstico de los resultados de CTC en un momento anterior era equivalente al de los resultados de CTC en el momento de la adquisición de imágenes (**Figura 18** y **Figura 19**), se realizó una comparación orientada al paciente usando los resultados de sólo el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento, realizado aproximadamente 9 semanas después del comienzo de la terapia, y los resultados de CTC obtenidos aproximadamente 4 semanas después del comienzo de la terapia. Un total de 320 (80%) de los 402 pacientes tuvieron resultados CTC 3-5 semanas después del inicio de la terapia. El resultado de esta comparación "orientada al paciente" entre los recuentos de CTC en un momento anterior y la adquisición de imágenes (o muerte) se muestra en la **Tabla 21**.

**Tabla 21: Comparación orientada al paciente con MCRC entre CTC e imágenes adquiridas**

| Respuesta en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento | CTC a 3-5 settimane Dopo l'inizio della terapia | | Total |
|---|---|---|---|
| | CTC <3/7,5 mL | CTC ≥ 3/7,5 mL | |
| Enfermedad no progresiva | 228 | 18 | **246** |
| Enfermedad progresiva | 54 | 20 | **74** |
| **Total** | **282** | **38** | **320** |

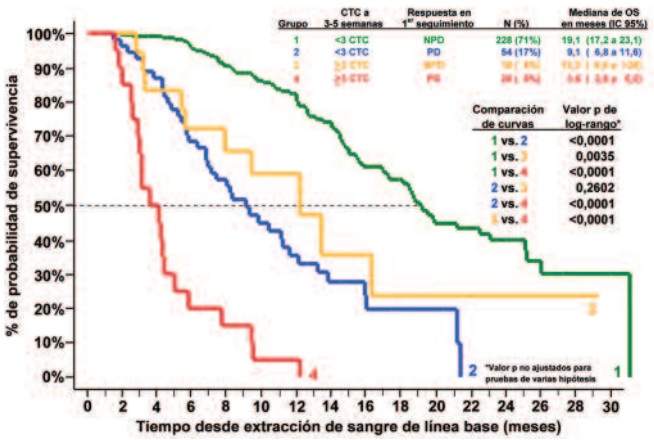
| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 27% | 17% | 39% |
| % Concordancia negativo | 93% | 89% | 96% |
| Valor predictivo positivo | 53% | 36% | 69% |
| Valor predictivo negativo | 81% | 76% | 85% |
| Concordancia global | 78% | 73% | 82% |
| Razón de probabilidades | 4,7 | 2,3 | 9,5 |

### 2.4.6 CTC como complemento a la adquisición de imágenes

Mientras que la concordancia global entre los CTC y las imágenes adquiridas fue buena (aproximadamente un 78%), hubo discrepancia en aproximadamente el 22% de los pacientes con MCRC. Debido a que las valoraciones de CTC están destinadas para su uso conjunto con otras modalidades de diagnóstico para tomar decisiones de tratamiento, la valoración de CTC 3-5 semanas después del comienzo de la terapia y las imágenes adquiridas en los grupos de seguimiento se compararon con la OS para determinar cuál de los resultados discordantes reflejaba mejor el pronóstico del paciente (**Figura 20**):

- Grupo 1 (curva **verde**), 228 (71%) pacientes con <3 CTC a las 3-5 semanas y NPD;
- Grupo 2 (curva **azul**), 54 (17%) pacientes con <3 CTC a las 3-5 semanas y PD;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 18 (6%) pacientes con ≥ 3 CTC a las 3-5 semanas y NPD;
- Grupo 4 (curva **roja**), 20 (6%) pacientes con ≥ CTC a las 3-5 semanas y PD;

**Figura 20: OS de pacientes con MCRC en los grupos 1, 2, 3 y 4 usando la valoración de CTC 3-5 semanas tras el comienzo de la terapia (n=320) y el estado de la enfermedad determinado en el 1er estudio de adquisición de imágenes de seguimiento**




En este estudio, la determinación de CTC es un potente factor de predicción independiente de la supervivencia global. Los resultados del estudio indican que la combinación de valoraciones de CTC y radiológicas es el método más preciso para valorar el pronóstico.

## 3 Pacientes con cáncer de próstata metastásico (MPC)

Se realizó un ensayo clínico multicentro prospectivo para determinar si el número de CTC predecía la progresión y la supervivencia de la enfermedad. La definición de los pacientes con cáncer de próstata metastásico de este estudio consiste en dos aumentos consecutivos del marcador sérico del antígeno específico de la próstata (PSA) sobre un nivel de referencia, a pesar del tratamiento hormonal estándar. Estos pacientes suelen describirse como con cáncer andrógeno-independiente, resistente a las hormonas o resistente a la castración. Se inscribieron un total de 231 pacientes con cáncer de próstata metastásico con evidencia de progresión de PSA a pesar de la terapia hormonal estándar y que iniciaban una nueva línea o tipo de quimioterapia. Los datos clínicos se analizaron en base a una intención de tratamiento. Los datos demográficos de los pacientes se muestran en la **Tabla 22**.

**Tabla 22: Datos demográficos de los pacientes con MPC**

| Categoría | Media ± Desv. estándar (mediana) | Número de sujetos |
|---|---|---|
| **Edad (en años) en la línea base** | 70 ± 9 (70) | **231** |
| **Antes de la terapia:** | | |
| **PSA (ng/mL)** | 547 ± 1616 (144) | **231** |
| **Hemoglobina (g/dL)** | 12,3 ± 1,6 (12,4) | **221** |
| **Fosfatasa alcalina (AlkPhos) (IU/mL)** | 235 ± 271 (144) | **223** |
| **Lactato deshidrogenasa(LDH) (IU/mL)** | 293 ± 228 (224) | **219** |
| **Albúmina (g/dL)** | 3,9 ± 2,6 (3,8) | **214** |
| | **Descripción de categorías** | **Número de sujetos (% del total)** |
| **Raza** | Blanca<br>Negra<br>Otra | 209 (90%)<br>17 ( 7%)<br>5 ( 3%) |
| **Puntuación ECOG en línea base** | 0<br>1<br>2<br>Desconocido | 101 (44%)<br>100 (43%)<br>21 ( 9%)<br>9 ( 4%) |
| **Puntuación Gleason** | ≥ 5<br>6<br>7<br>8<br>≥ 9<br>Desconocido | 18 ( 8%)<br>28 (12%)<br>63 (27%)<br>45 (20%)<br>54 (23%)<br>23 (10%) |
| **Etapa en el diagnóstico primario** | 1<br>2<br>3<br>4<br>Desconocido | 14 ( 6%)<br>30 (13%)<br>58 (25%)<br>19 ( 8%)<br>110 (48%) |
| **Línea de terapia** | 1°<br>2ª<br>≥3ª | 154 (67%)<br>38 (16%)<br>39 (17%) |
| **¿Taxotere en la línea de terapia actual?** | No<br>Sí<br>Desconocido | 67 (29%)<br>162 (70%)<br>2 ( 1%) |
| **Metástasis ósea** | Negativo<br>Positivo<br>Desconocido | 20 ( 8%)<br>207 (90%)<br>4 ( 2%) |
| **Enfermedad medible** | No<br>Sí<br>Desconocido | 142 (62%)<br>88 (38%)<br>1 ( 0%) |
| **Metástasis en vísceras** | No<br>Sí<br>Desconocido | 141 (61%)<br>89 (39%)<br>1 ( 0%) |

El recuento CTC de línea base fue determinado con anterioridad al inicio de una nueva línea de quimioterapia. Se eligieron los siguientes intervalos temporales para la evaluación: línea base (antes del inicio de la terapia), 2-5 semanas (14 - 41 días desde la línea base), 6-8 semanas (42 - 62 días desde la línea base), 9-12 semanas (63 - 90 días desde la línea base), y 13-20 semanas (91 - 146 días desde la línea base) tras el inicio de la terapia. Cuando hubo más de una extracción de sangre en los intervalos de tiempo designados, se utilizó aquella más alejada de la extracción en la línea base como resultado para cada intervalo temporal.

### 3.1 Frecuencias de CTC

A todos los 231 pacientes con MPC evaluable se les realizó una extracción de sangre en la línea base. A doscientos veintiuno (221) de estos pacientes con MPC se les realizó una o más extracciones de sangre de seguimiento tras el inicio de la terapia. De los diez pacientes a los que sólo se les realizó una extracción de sangre en la línea base, tres murieron antes de poder realizarles la extracción de seguimiento, uno progresó y fue enviado a una residencia de enfermos terminales, uno detuvo su quimioterapia debido a una cadera rota, un paciente se trasladó, tres rehusaron posteriores extracciones de sangre y uno retiró su consentimiento para el estudio. Hubo un total de 214, 171, 158 y 149 pacientes con MPC a los que se realizaron extracciones de sangre de seguimiento 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas después del inicio de la terapia, respectivamente.

En el cáncer de próstata metastásico, la progresión de la enfermedad se determinó principalmente usando cambios en la PSA. Para este estudio, la progresión de la enfermedad fue determinada por los centros usando PSA, adquisición de imágenes y/o signos y síntomas clínicos. Para los análisis de línea base, se determinó la supervivencia libre de progresión (PFS) desde el momento de la extracción de sangre en la línea base hasta la determinación de la progresión o la muerte, y la supervivencia global (OS) desde el momento de la extracción de sangre en la línea base

hasta el momento de la muerte o hasta la fecha del último contacto con el paciente. Para los análisis de seguimiento, se determinó la PFS desde el momento de la extracción de sangre de seguimiento hasta el diagnóstico de la progresión o la muerte, y se determinó la OS desde el momento de la extracción de sangre de seguimiento hasta la fecha de la muerte o del último contacto con el paciente. Los pacientes con progresión previa a la fecha de la extracción de sangre que estaban siendo evaluados fueron excluidos de los análisis de PFS de ese momento y en todas las extracciones de sangre posteriores. Los pacientes sin seguimiento adicional de supervivencia más allá de la fecha de la extracción de sangre que estaban siendo evaluados fueron excluidos de los análisis de PFS y OS de ese momento. **La Tabla 23** muestra la cantidad de pacientes en cada momento excluidos de los análisis PFS y OS y los motivos de la exclusión.

**Tabla 23: Exclusiones de los análisis de PFS y OS en pacientes con MPC**

| Momento de la extracción de sangre | Pacientes con MPC no evaluable: | | | | | N.º total de pacientes con MPC: Evaluable | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | PFS y OS | | | | Sólo PFS | | |
| | No se extrajo sangre | Sangre extraída 1-7 días después de la administración de la terapia | Sin seguimiento después de la fecha de extracción de sangre | Sin resultados CTC o con resultados no evaluables | Sangre extraída después de la fecha de la progresión de la enfermedad | PFS | OS |
| Línea base | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 219 | 219 |
| 2-5 semanas | 17 | 0 | 0 | 11 | 4 | 199 | 203 |
| 6-8 semanas | 60 | 0 | 0 | 8 | 22 | 141 | 163 |
| 9-12 semanas | 73 | 1 | 0 | 8 | 15 | 134 | 149 |
| 13-20 semanas | 82 | 0 | 1 | 5 | 27 | 116 | 143 |

Los resultados de CTC obtenidos en la línea base y de las extracciones de sangre de seguimiento en las semanas 2-5, 6-8, 9-12 y 13-20 tras el inicio de la terapia se clasificaron como favorables (<5 CTC) o no favorables (≥ 5 CTC). Los niveles de PSA, fosfatasa alcalina y LDH resumidos en la tabla de datos demográficos y utilizados en los análisis fueron todos ellos medidos en un laboratorio central en muestras de suero recogidas en el mismo momento que las muestras de sangre usadas para la evaluación de CTC. Los niveles de hemoglobina y albúmina resumidos en las tablas y usados en los análisis fueron valores proporcionados por los centros y verificados con los registros médicos de los pacientes determinados dentro de ± 30 de la evaluación CTC en la línea base.

### 3.2 Análisis de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con MPC

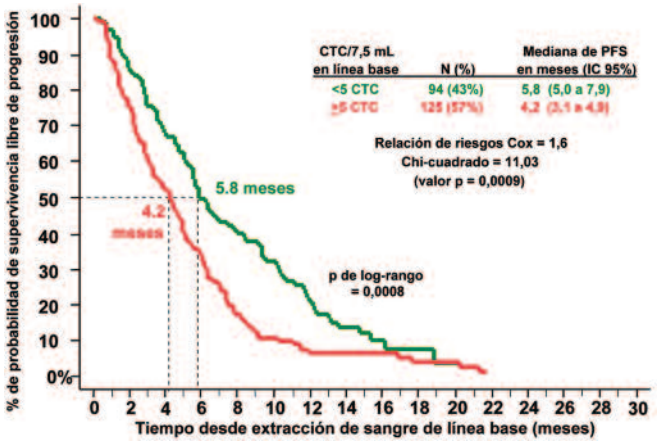
#### 3.2.1 PFS utilizando los resultados de CTC de la línea base

Doscientos diecinueve (219) de los 231 pacientes evaluables tenían un resultado de CTC en línea base disponible. Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=94), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable (N=125), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con ≥ 5 CTC.

La PFS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación con el grupo No favorable (5,8 frente a 4,2 meses, respectivamente). Estos resultados se ilustran en la **Figura 21** y la **Tabla 24**.

**Figura 21: PFS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥5 en línea base (N=219).**

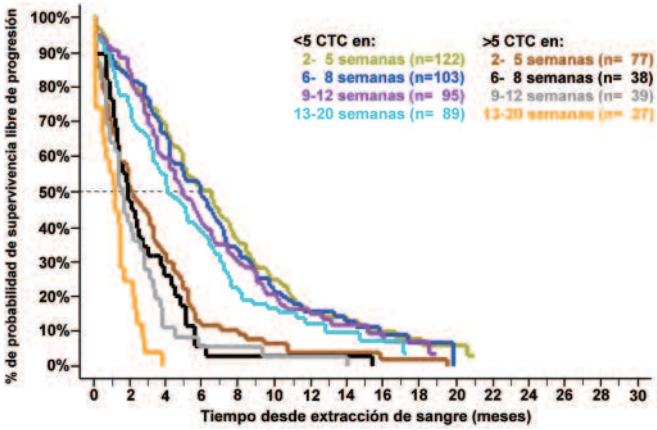



### 3.2.2 PFS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Para el análisis Kaplan-Meier, los pacientes con MPC fueron segmentados en dos grupos en base a su recuento de CTC en cada una de las diversas extracciones de sangre de seguimiento: Ambos grupos de pacientes en cada una de las diferentes extracciones de sangre de seguimiento tras el inicio de la terapia para PFS se ilustran en la **Figura 22**. Esta figura ilustra la capacidad de CTC en pacientes con MPC con un CTC <5 y ≥ 5 para predecir la progresión clínica o la muerte a 2-5 semanas (n=199), 6-8 semanas (n=141), 9-12 semanas (n=134) y 13-20 semanas (n=116) tras el inicio de la terapia.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con <5 CTC en las semanas 2-5, 6-8, 9-12 y 13-20 tras el inicio de la terapia, respectivamente.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja** consistía en pacientes con ≥ 5 CTC en las semanas 2-5, 6-8, 9-12 y 13-20 tras el inicio de la terapia, respectivamente.

**Figura 22: PFS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥5 en diferentes momentos del seguimiento**




La **Tabla 24** resume los resultados del análisis de la PFS utilizando los niveles CTC y un umbral de ≥ 5 CTC/7,5 mL en cada uno de los distintos momentos de extracción de sangre.

**Tabla 24: Supervivencia libre de progresión (PFS) para pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥5 en distintos momentos**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento | N | ≥ 5 CTC | PFS media en meses (IC 95%) | | Valor p log-rango |
| | | | <5 CTC | ≥ 5 CTC | |
| Línea base | 219 | 125 (57%) | 5,8 (5,0 – 7,9) | 4,2 (3,1 – 4,9) | 0,0008 |
| 2-5 semanas | 199 | 77 (39%) | 6,5 (4,9 – 7,4) | 2,1 (1,4 – 3,3) | <0,0001 |
| 6-8 semanas | 141 | 38 (27%) | 5,9 (4,2 – 7,0) | 1,9 (1,3 – 2,7) | <0,0001 |
| 9-12 semanas | 134 | 39 ( 24%) | 4,9 (3,8 – 6,2) | 1,6 (0,9 – 2,6) | <0,0001 |
| 13-20 semanas | 116 | 27 (23%) | 4,1 (3,3 – 5,8) | 1,2 (0,5 – 1,5) | <0,0001 |

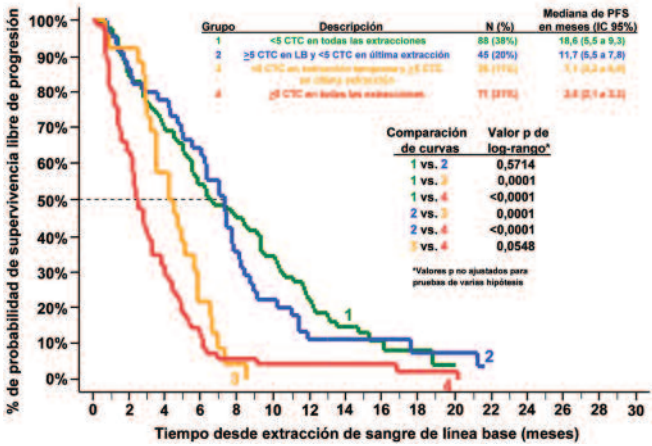
Según se ilustra en la **Figura 22** y en la **Tabla 24**, los pacientes con MPC con niveles de CTC elevados (CTC ≥ 5/7,5 mL de sangre total) en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mucho mayor de progresión rápida que los que tenían CTC <5. En la **Tabla 24**, columna 4, se muestra que la mediana de los tiempos de PFS para los pacientes con CTC <5 fueron entre 4,1 y 6,5 meses y resultaron bastante más largos que la mediana de tiempos PFS para los pacientes con CTC ≥ 5, que fue de 1,2 a 4,2 meses (columna 5).

### 3.2.3 La reducción o el aumento de CTC predice una PFS aumentada o reducida

Los tiempos de PFS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier mostrado en la **Figura 23**, los pacientes con MPC fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia:

- Grupo 1 (curva **verde**), 88 (38%) pacientes con CTC <5 en todos los momentos. Cinco (6%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que siete (8%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC ≥ 5;
- Grupo 2 (curva **azul**), 45 (20%) pacientes con CTC ≥ 5 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 26 (11%) pacientes con CTC <5 en una extracción temprana (línea base, 2-5 semanas, y/o 6-8 semanas) pero que aumentó a CTC ≥ 5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 71 (31%) pacientes con CTC ≥ 5 en todos los momentos de extracción. Ocho (11%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que dos (3%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de <5;

**Figura 23: Una reducción en el recuento de CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una PFS en pacientes con MPC**




La **Figura 23** muestra que los pacientes con MPC y un CTC ≥ 5 en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de PFS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de PFS del **Grupo 3**, **Grupo 2** y **Grupo 1**. La diferencia en la mediana de PFS entre los pacientes que mostraban una reducción de CTC tras el inicio de la terapia (**Grupo 2**) fue significativamente más larga que la de los pacientes que mostraban un incremento de CTC (**Grupo 3**).

### 3.3 Análisis de supervivencia global (OS) de pacientes con MPC

#### 3.3.1 Análisis de OS usando los resultados de CTC de la línea base

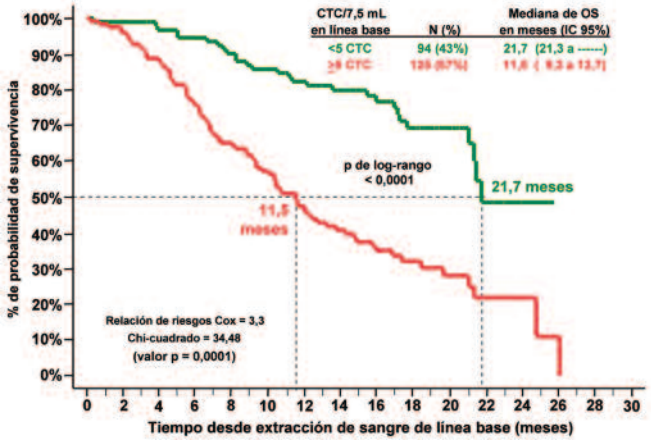
Ciento diecinueve (119) de 231 pacientes (52%) con MPC (52%) murieron, con un tiempo de seguimiento medio para los 112 pacientes (48%) aún vivos de 1616,1 ± 4,9 meses (mediana = 16,5, intervalo = 1,9 a 25,7 meses). En la fecha de realización de estos análisis, 28 (30%) de los 94 pacientes del grupo Favorable (CTC <5 en línea base) comparados con los 83 (66%) de los 125 del grupo No favorable (CTC ≥ 5 en línea base) habían muerto.

Para el análisis Kaplan-Meier, 219 de los 231 pacientes evaluables con resultados en la línea base fueron segmentados en dos grupos en base a sus recuentos de CTC en la línea base:

- El grupo Favorable (N=94), representado en **verde**, estaba compuesto por pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable (N=125), representado en **rojo**, estaba compuesto por pacientes con CTC ≥ 5.

La OS media fue significativamente más larga para el grupo Favorable en comparación con el grupo No favorable (21,7 frente a 11,5 meses, respectivamente). Estos resultados se ilustran en la **Figura 24**.

**Figura 24: OS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en línea base (N=219).**

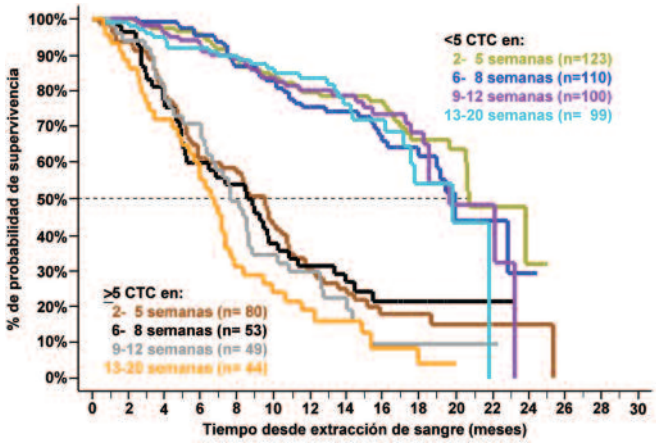



#### 3.3.2 OS utilizando los resultados de CTC del seguimiento

Los análisis Kaplan-Meier de ambos grupos de pacientes con MPC en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre posteriores al inicio de la terapia se ilustran en la **Figura 25**. Esta figura ilustra la capacidad de CTC en pacientes con MPC con un CTC <5 y ≥ 5 para predecir el tiempo hasta la muerte a 2-5 semanas (n=203), 6-8 semanas (n=163), 9-12 semanas (n=149) y 13-20 semanas (n=143) tras el inicio de la terapia. Los tiempos de OS se calcularon a partir del momento de la última extracción de sangre.

- El grupo Favorable, representado en **verde oliva**, **azul**, **violeta** y **cian**, consistía en pacientes con CTC <5.
- El grupo No favorable, representado en **marrón**, **negro**, **gris** y **naranja**, consistía en pacientes con CTC ≥ 5.

**Figura 25: OS de pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5 en diferentes momentos del seguimiento.**




La **Tabla 25** resume los resultados del análisis de OS usando los niveles de CTC y un umbral de ≥ 5 CTC/7,5 mL en cada uno de los diferentes momentos de extracción de sangre.

**Tabla 25: Supervivencia global (OS) para pacientes con MPC con CTC <5 ó ≥ 5**

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Tiempo de muestreo tras comienzo del tratamiento** | **N** | **≥ 5 CTC** | **OS media en meses (IC 95%)** | | **Valor p log-rango** |
| | | | **<5 CTC** | **≥ 5 CTC** | |
| Línea base | 219 | 125 (57%) | 21,7 (21,3 – NR) | 11,5 (9,3 – 13,7) | <0,0001 |
| 2-5 semanas | 203 | 80 (39%) | 20,7 (20,5 – NR) | 9,5 (5,8 – 10,7) | <0,0001 |
| 6-8 semanas | 163 | 53 (33%) | 19,9 (17,9 – NR) | 8,5 (5,0 – 10,2) | <0,0001 |
| 9-12 semanas | 149 | 49 (33%) | 19,6 (18,5 – NR) | 7,6 (6,2 – 8,6) | <0,0001 |
| 13-20 semanas | 143 | 44 (31%) | 19,8 (17,1 – NR) | 6,7 (4,9 – 7,6) | <0,0001 |

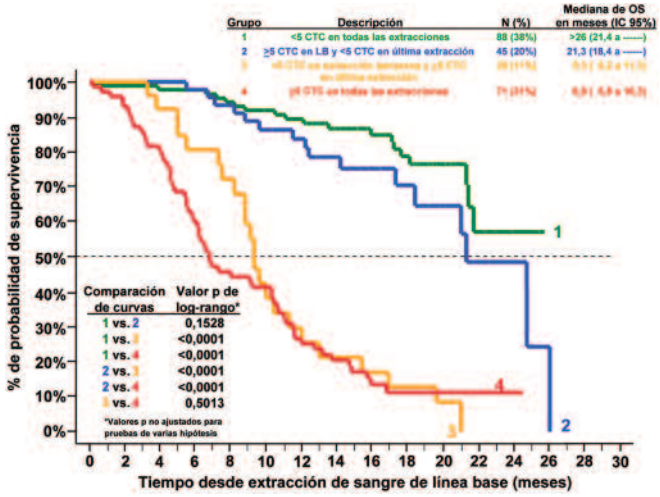
Según se ilustra en la **Figura 25** y en la **Tabla 25** en las columnas 4 y 5, los pacientes con MPC con CTC ≥ 5 en cualquiera de los momentos presentaron una probabilidad mucho mayor de fallecer antes que los que presentaron CTC <5. La mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC <5 oscilaron entre 19,6 y 21,7 meses y resultaron bastante más largos que la mediana de los tiempos de OS para los pacientes con CTC ≥ 5, comprendidos entre 6,7 y 11,5 meses.

### 3.3.3 La reducción o el aumento de CTC predice una OS mejorada o reducida

Los tiempos de OS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre en la línea base. Para el análisis Kaplan-Meier (**Figura 26**), los pacientes fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC en la línea base, 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia:

- Grupo 1 (curva **verde**), 88 (38%) pacientes con CTC <5 en todos los momentos. Cinco (6%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que siete (8%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC ≥5;
- Grupo 2 (curva **azul**), 45 (20%) pacientes con CTC ≥5 antes del inicio de la terapia pero que se redujo a <5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 3 (curva **naranja**), 26 (11%) pacientes con CTC <5 en una extracción temprana pero que aumentó a CTC ≥5 en el momento de la última extracción de sangre;
- Grupo 4 (curva **roja**), 71 (31%) pacientes con CTC ≥5 en todos los momentos de extracción. Ocho (11%) de estos pacientes tenían sólo una extracción de sangre en la línea base, mientras que dos (3%) tenían una única extracción de sangre entre la primera y la última extracción que indicara un CTC de <5.

**Figura 26: Una reducción en el CTC inferior a 5 tras el inicio de la terapia predice una OS de mayor duración, mientras que un aumento del recuento de CTC hasta 5 ó más predice una OS más corta en pacientes con MPC.**




La **Figura 26** muestra que los pacientes con ≥5 CTC en cualquier punto tras el inicio de la terapia tenían una probabilidad mucho mayor de morir antes. Los pacientes con ≥5 CTC en todos los momentos (**Grupo 4**) presentaron la mediana de OS más corta, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de OS del **Grupo 2** y el **Grupo 1,** pero no del **Grupo 3.** Los pacientes con un CTC <5 en todos los momentos (**Grupo 1**) presentaron la mediana de OS más larga, que resultó significativamente distinta en comparación con la mediana de OS del **Grupo 4** y el **Grupo 3** pero no del **Grupo 2.** La **Figura 26** demostró también que los pacientes que mostraron una reducción de CTC (**Grupo 2**) mejoraron sus expectativas de supervivencia y tuvieron una mediana de OS parecida a los pacientes con CTC favorable en todas las extracciones (**Grupo 1**). La figura muestra también que niveles de CTC no favorables tras el inicio de la terapia redujeron de forma significativa la supervivencia global (**Grupo 3** y **Grupo 4**).

### 3.3.4 Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MPC

Se utilizaron análisis de regresión univariante de Cox para evaluar la asociación de los siguientes parámetros de pretratamiento con la PFS y la OS: etapa de la enfermedad en el momento del diagnóstico (1-4), edad del paciente (≥70 ó <70 años), estado ECOG antes del inicio de la nueva línea de terapia (0-2), puntuación Gleason (2-10), nivel de hemoglobina dentro de ± 30 días de la extracción en línea base (g/dL, continuo), nivel de albúmina dentro de ± 30 días de la extracción en línea base (g/dL, continuo), nivel de testosterona en el momento de la extracción en línea base (ng/mL, continuo), nivel de LDH en el momento de la extracción en línea base (IU/mL, continuo), nivel de fosfatasa alcalina en el momento de la extracción en línea base (IU/mL, continuo), nivel de PSA en el momento de la extracción en línea base (ng/mL, continuo), tiempo de duplicación de PSA pretratamiento (meses, continuo), velocidad de PSA pretratamiento (ng/mL/mes, continuo), línea de terapia (1ª, 2ª, 3ª, 4ª, 5ª ó 6ª), tipo de terapia (taxotere incluido o no), presencia de enfermedad medible (sí o no), presencia de metástasis ósea (sí o no), presencia de metástasis en vísceras (sí o no), y nivel de CTC en línea base (≥5 CTC/7,5 mL o <5 CTC/7,5 mL) y recuentos de CTC de seguimiento en las semanas 2-5, 6-8, 9-12 y 13-20.

Para estos análisis, los tiempos transcurridos para PFS y OS fueron calculados a partir del momento de la extracción de sangre en la línea base. Los resultados de la regresión Cox (esto es, la relación de riesgos y el intervalo de confianza del 95% asociado, el valor chi-cuadrado y los valores p asociados) para la capacidad de los parámetros de predecir independientemente la PFS y la OS se proporcionan en la **Tabla 26,** así como el número de pacientes en cada evaluación.

**Tabla 26: Análisis de regresión univariante de Cox en pacientes con MPC**

| Parámetro | Categorías | | N.º de pacientes con MPC | Riesgo PFS desde la línea base | | Riesgo OS desde la línea base | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positivo | Negativo | | HR | Valor p [2] | HR | Valor p [2] |
| Etapa en el diagnóstico primario | 4 vs. 3 vs. 2 vs. 1 | | 121 | 0,88 | 0,206 | 0,83 | 0,174 |
| Edad en la extracción de sangre en la línea base | ≥ 70 | <70 | 231 | 0,96 | 0,764 | 1,28 | 0,178 |
| Estado ECOG en la entrada en el estudio | 2 vs. 1 vs. 0 | | 222 | 1,34 | 0,011 | 2,36 | <0,001 |
| Puntuación Gleason | 10 a 2 | | 208 | 1,01 | 0,919 | 1,02 | 0,717 |
| Tiempo de duplicación de PSA pretratamiento (meses) | Continuo | | 230 | 0,97 | 0,542 | 0,97 | 0,664 |
| Velocidad de duplicación de PSA pretratamiento (ng/mL/mes) | Continuo | | 230 | 1,00 | 0,200 | 1,00 | 0,544 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) | Continuo | | 221 | 0,87 | 0,002 | 0,71 | <0,001 |
| Albúmina en línea base (g/dL) | Continuo | | 214 | 0,99 | 0,748 | 1,02 | 0,557 |
| Testosterona en línea base (ng/mL) [1] | Continuo | | 223 | 1,07 | 0,900 | 2,71 | 0,060 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1] | Continuo | | 219 | 1,001 | <0,001 | 1,002 | <0,001 |
| Fosfatasa alcalina en línea base (IU/mL) [1] | Continuo | | 223 | 1,00 | 0,158 | 1,0008 | 0,001 |
| Línea de terapia | Continuo (1-6) | | 231 | 1,23 | 0,003 | 1,28 | 0,003 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | Sí | No | 229 | 0,57 | <0,001 | 0,59 | 0,006 |
| ¿Enfermedad medible? | Sí | No | 230 | 1,00 | 0,993 | 1,28 | 0,181 |
| ¿Metástasis ósea? | Sí | No | 227 | 1,02 | 0,933 | 2,22 | 0,057 |
| ¿Metástasis en vísceras? | Sí | No | 230 | 1,01 | 0,918 | 1,26 | 0,216 |
| PSA en línea base (ng/mL) [1] | Continuo | | 231 | 1,00 | 0,746 | 1,00 | 0,907 |
| PSA 2-5 semanas (ng/mL) [1] | Continuo | | 207 | 1,00 | 0,819 | 1,00 | 0,794 |
| PSA 6-8 semanas (ng/mL) [1] | Continuo | | 167 | 1,00 | 0,426 | 1,00 | 0,654 |
| PSA 9-12 semanas (ng/mL) [1] | Continuo | | 155 | 1,00 | 0,684 | 1,00 | 0,324 |
| PSA 13-20 semanas (ng/mL) [1] | Continuo | | 143 | 1,00 | 0,639 | 1,00 | 0,205 |
| Reducción de PSA 2-5 semanas desde línea base (%) [1] | <30% | ≥ 30% | 207 | 1,56 | 0,006 | 1,24 | 0,318 |
| Reducción de PSA 6-8 semanas desde línea base (%) [1] | <30% | ≥ 30% | 167 | 2,21 | <0,001 | 2,27 | 0,001 |
| Reducción de PSA 9-12 semanas desde línea base (%) [1] | <30% | ≥ 30% | 155 | 2,76 | <0,001 | 2,30 | <0,001 |
| Reducción de PSA 13-20 semanas desde línea base (%) [1] | <30% | ≥ 30% | 143 | 2,69 | <0,001 | 3,19 | <0,001 |
| Número CTC de la línea base | ≥ 5 | <5 | 219 | 1,62 | 0,001 | 3,33 | <0,001 |
| Número CTC 2-5 semanas | ≥ 5 | <5 | 203 | 2,34 | <0,001 | 4,46 | <0,001 |
| Número CTC 6-8 semanas | ≥ 5 | <5 | 163 | 3,29 | <0,001 | 3,66 | <0,001 |
| Número CTC 9-12 semanas | ≥ 5 | <5 | 149 | 3,23 | <0,001 | 5,82 | <0,001 |
| Número CTC 13-20 semanas | ≥ 5 | <5 | 144 | 4,82 | <0,001 | 7,18 | <0,001 |

[1] Determinado a partir de la extracción de suero en la misma fecha que la extracción de sangre para CTC
[2] Valor p de la prueba de Wald de la estadística Z

### 3.3.5 Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MPC

Se realizaron análisis de regresión multivariante de Cox para evaluar la capacidad predictiva independiente del recuento de CTC ajustando para los efectos de los factores clínicos importantes conocidos que son estadísticamente significativos en los análisis univariantes. Se halló que los valores de CTC son importantes datos pronósticos en la mayor parte de los momentos de PFS y OS (**Tabla 27**).

**Tabla 27: Análisis de regresión multivariante de Cox en pacientes con MPC**

| Parámetro | N.º de pacientes | Riesgo PFS desde la línea base | | Riesgo OS desde la línea base | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | HR | Valor p [2] | HR | Valor p [2] |
| **CTC línea base (<5 vs. ≥5)** | 188 | 1,14 | 0,455 | 1,92 | 0,009 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,00 | 0,982 | 1,46 | 0,032 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) [3] | | 0,88 | 0,027 | 0,81 | 0,007 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1, 3] | | 1,0007 | 0,018 | 1,002 | <0,001 |
| Fosfatasa alcalina en línea base (IU/mL) [1, 3] | | --- | --- | 1,00 | 0,410 |
| Línea de terapia (1ª a 6ª) | | 1,14 | 0,145 | 1,07 | 0,547 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | | 0,63 | 0,009 | 0,70 | 0,139 |
| | | | | | |
| **CTC 2-5 semanas (<5 vs. ≥5)** | 173 | 1,48 | 0,041 | 2,91 | <0,001 |
| Reducción de PSA 2-5 semanas desde línea base (≥30% vs. <30%) [1] | | 1,40 | 0,077 | 1,13 | 0,637 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 0,97 | 0,836 | 1,46 | 0,054 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) [3] | | 0,93 | 0,246 | 0,89 | 0,141 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1, 3] | | 1,002 | 0,002 | 1,003 | <0,001 |
| Fosfatasi alcalina di riferimento (IU/mL) [1, 3] | | --- | --- | 1,00 | 0,622 |
| Línea de terapia (1ª a 6ª) | | 1,11 | 0,274 | 1,11 | 0,399 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | | 0,75 | 0,133 | 0,80 | 0,397 |
| | | | | | |
| **CTC 6-8 semanas (<5 vs. ≥5)** | 139 | 2,14 | <0,001 | 2,13 | 0,009 |
| Reducción de PSA 6-8 semanas desde línea base (≥30% vs. <30%) [1] | | 1,88 | 0,002 | 2,38 | 0,007 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,04 | 0,810 | 1,52 | 0,088 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) [3] | | 0,97 | 0,695 | 0,79 | 0,013 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1, 3] | | 1,002 | 0,003 | 1,004 | <0,001 |
| Fosfatasi alcalina di riferimento (IU/mL) [1, 3] | | --- | --- | 1,00 | 0,780 |
| Línea de terapia (1ª a 6ª) | | 1,37 | 0,001 | 1,35 | 0,035 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | | 0,80 | 0,278 | 1,45 | 0,276 |
| | | | | | |
| **CTC 9-12 semanas (<5 vs. ≥5)** | 125 | 1,74 | 0,015 | 3,94 | <0,001 |
| Reducción de PSA 9-12 semanas desde línea base (≥30% vs. <30%) [1] | | 2,23 | <0,001 | 1,46 | 0,221 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 1,21 | 0,307 | 1,89 | 0,004 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) [3] | | 0,93 | 0,322 | 0,97 | 0,758 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1, 3] | | 1,00 | 0,190 | 1,003 | <0,001 |
| Fosfatasa alcalina en línea base (IU/mL) [1, 3] | | --- | --- | 1,00 | 0,989 |
| Línea de terapia (1ª a 6ª) | | 1,25 | 0,052 | 1,11 | 0,499 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | | 0,97 | 0,903 | 1,26 | 0,486 |
| | | | | | |
| **CTC 13-20 semanas (<5 vs. ≥5)** | 123 | 2,95 | <0,001 | 3,75 | 0,001 |
| Reducción de PSA 13-20 semanas desde línea base (≥30% vs. <30%) [1] | | 1,97 | 0,002 | 1,52 | 0,275 |
| Estado ECOG en línea base (0 vs. 1 vs. 2) | | 0,98 | 0,919 | 1,98 | 0,002 |
| Hemoglobina en línea base (g/dL) [3] | | 1,03 | 0,723 | 0,87 | 0,232 |
| LHD en línea base (IU/mL) [1, 3] | | 1,00 | 0,380 | 1,003 | <0,001 |
| Fosfatasa alcalina en línea base (IU/mL) [1, 3] | | --- | --- | 1,00 | 0,078 |
| Línea de terapia (1ª a 6ª) | | 1,25 | 0,050 | 1,06 | 0,751 |
| Tipo de terapia (Taxotere: sí/no) | | 1,04 | 0,882 | 0,90 | 0,770 |

**[1] Determinado a partir de la extracción de suero en la misma fecha que la extracción de sangre para CTC**
**[2] Valor p de la prueba de Wald de la estadística Z**
**[3] Evaluado como parámetro continuo**

### 3.4 Uso de CTC para la monitorización del estado clínico de pacientes con cáncer de próstata metastásico

#### 3.4.1 Relación entre supervivencia, CTC y valoración de la enfermedad mediante PSA

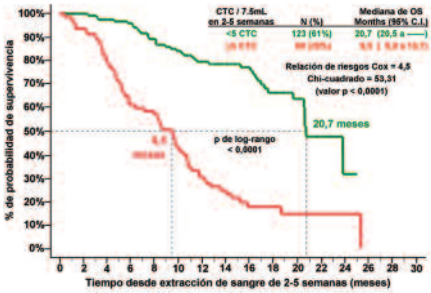
Actualmente, la reducción de PSA es uno de los principales medios para determinar la respuesta a la terapia de los pacientes con MPC. Para establecer la relación entre el estado clínico según lo determine la relación PSA-CTC, se midió la reducción del ≥30% o del ≥50% de PSA y CTC 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia y se comparó a la supervivencia global.

Para el análisis Kaplan-Meier, los tiempos de OS transcurridos se calcularon a partir del momento de la extracción de sangre. Los pacientes fueron segmentados en grupos Favorable según un CTC <5 en el momento de la evaluación y una reducción del ≥30% de PSA desde la línea base en el momento de la evaluación. Los pacientes fueron segmentados en grupos No favorable según un CTC ≥5 y una reducción de PSA de <30% desde la línea base en el momento de la evaluación.

La **Figura 27** muestra los resultados del análisis 2-5 semanas tras el inicio de la terapia, la **Figura 28** del análisis 6-8 semanas tras el inicio de la terapia, la **Figura 29** del análisis 9-12 semanas tras el inicio de la terapia y la **Figura 30** del análisis 13-20 semanas tras el inicio de la terapia.

**Figura 27: OS de pacientes con MPC 2-5 semanas después del inicio de la terapia**

**A. CTC 2-5 semanas**




**B. Reducción de PSA de ≥30% a las 2-5 semanas**

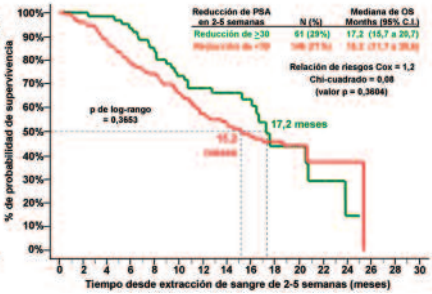
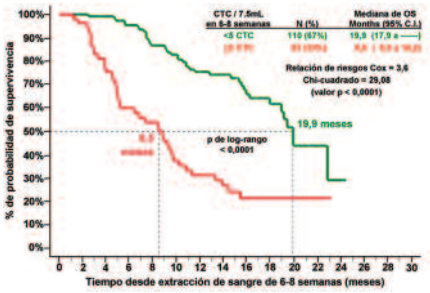



**Figura 28: OS de pacientes con MPC 6-8 semanas después del inicio de la terapia**

**A. CTC 6-8 semanas**




**B. Reducción de PSA de ≥30% a las 6-8 semanas**

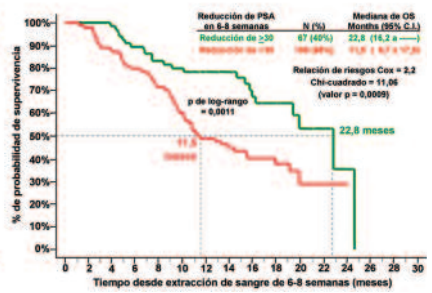
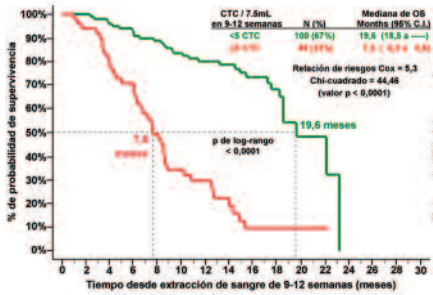



**Figura 29: OS de pacientes con MPC 9-12 semanas después del inicio de la terapia**

**A. CTC 9-12 semanas**




**B. Reducción de PSA de ≥30% a las 9-12 semanas**

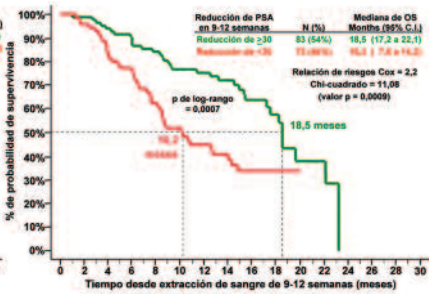
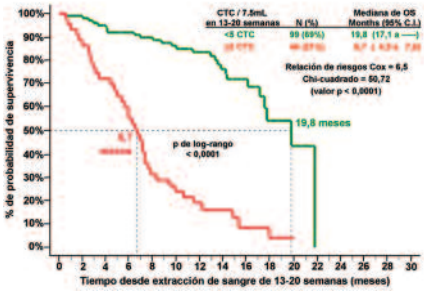
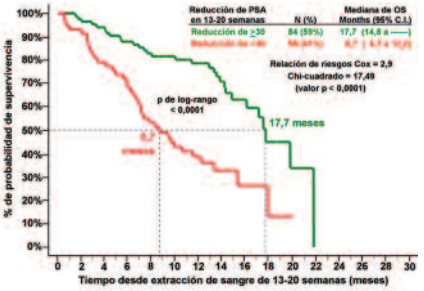


**Figura 30: OS de pacientes con MPC 13-20 semanas después del inicio de la terapia**

**A. CTC 13-20 semanas**




**B. Reducción de PSA de ≥30% a las 13-20 semanas**




La **Tabla 28** ilustra la comparación de la mediana de la supervivencia global en diferentes momentos tras la terapia con CTC, una reducción de PSA del 30% y un a reducción de PSA del 50%.

**Tabla 28: Comparación de la mediana de OS entre los grupos de CTC Favorable y No favorable y los grupos de reducción de PSA.**

| Momento | CTC/7,5 mL | | | | | | Reducción de PSA del 30% PSA desde línea base | | | | | | Reducción de PSA del 50% PSA desde línea base | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | ≥5 (%) | Mediana de OS | | Valor p de log-rango | HR | N | <30 (%) | Mediana de OS | | Valor p de log-rango | HR | N | <50 (%) | Mediana de OS | | Valor p de log-rango | HR |
| | | | <5 | ≥5 | | | | | ≥30% | <30% | | | | | ≥50% | <50% | | |
| 2-5 semanas | 203 | 39% | 20,7 | 9,5 | <0,0001 | 4,5 | 207 | 71% | 17,2 | 15,2 | 0,3653 | 1,2 | 207 | 83% | 17,5 | 16,2 | 0,5599 | 1,2 |
| 6-8 semanas | 163 | 33% | 19,9 | 8,5 | <0,0001 | 3,6 | 167 | 60% | 22,8 | 11,5 | 0,0011 | 2,2 | 167 | 75% | 22,8 | 14,4 | 0,0117 | 2,1 |
| 9-12 semanas | 149 | 33% | 19,6 | 7,6 | <0,0001 | 5,3 | 155 | 46% | 18,5 | 10,2 | 0,0007 | 2,2 | 155 | 59% | 19,6 | 10,8 | 0,0006 | 2,3 |
| 13-20 semanas | 143 | 31% | 19,8 | 6,7 | <0,0001 | 6,5 | 142 | 41% | 17,7 | 8,7 | <0,0001 | 2,9 | 142 | 46% | 17,7 | 9,9 | 0,0001 | 2,6 |

Los datos de la **Figura 27** hasta la **Figura 30** y en la **Tabla 28,** ilustran una diferencia altamente significativa en la supervivencia global entre pacientes con CTC No favorable y CTC Favorable en todos los momentos analizados, mientras que las evaluaciones de PSA no fueron significativas hasta 6-8 semanas tras el inicio de la terapia. Aunque las diferencias entre la mediana de OS entre los grupos de reducción de PSA Favorable (reducción de PSA de ≥30% ó ≥50% desde la línea base) y No favorable (reducción de PSA de <30% ó <50% desde la línea base) fueron significativas, la separación entre los grupos de CTC Favorable (<5 CTC) y No favorable (≥5 CTC) fue mayor y significativa en todos los momentos posteriores al inicio de la terapia.

### 3.4.2 Concordancias entre los cambios de CTC y PSA en pacientes con MPC

Actualmente, una reducción de PSA de ≥30% ó ≥50% suele utilizarse para evaluar la progresión de la enfermedad en pacientes con cáncer de próstata metastásico. En consecuencia, para establecer la relación entre CTC y los cambios de PSA se crearon tablas dos por dos de observaciones concordantes y discordantes entres los cambios de CTC y PSA para cada momento posterior al inicio de la terapia. Aunque se calcularon las comparaciones del cambio de CTC a PSA en ambas magnitudes, sólo se comunicaron los datos del cambio CTC frente a PSA ≥30%. Esta decisión se basa en una reciente publicación (*J Nat Ca Inst.* 98 (8):p.516-521, 2006) que demuestra que una caída de PSA del 30% en 3 meses mostraba una asociación más estrecha con la reducción del riesgo de muerte que una reducción de PSA del 50%. Además, una comparación de resultados orientados al paciente y orientados a la observación de la reducción de PSA de 30% y 50% frente a los análisis de CTC no demostró diferencias sustanciales en el % de concordancia positivo, en el % de concordancia negativo y en la concordancia global en ninguno de los momentos observados.

El laboratorio central analizó muestras de suero de un total de 197, 159, 146 y 138 pacientes y obtuvo resultados de CTC evaluables 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas después del inicio de la terapia, respectivamente. Para determinar la respuesta de un paciente a la terapia, se calculó el cambio porcentual de PSA a partir de la línea base en cada uno de los momentos posteriores al inicio de la terapia. Para los cambios de PSA en cada momento, el grupo Favorable fue definido como con pacientes con una reducción de PSA de ≥30% y el grupo No favorable como con pacientes con una reducción de PSA de <30%. Para CTC en cada momento, el grupo Favorable fue definido como con pacientes con <5 CTC por 7,5 mL y el grupo No favorable como con CTC ≥5.

Debido a que los resultados de CTC frente a PSA de las comparaciones orientadas al paciente entre CTC y la reducción de PSA de ≥30% en las 2-5 semanas y 13-20 semanas desde el inicio de la terapia mostraron la discordancia y la concordancia más significativa, respectivamente, estos datos se muestran en la **Tabla 29** y en la **Tabla 30,** respectivamente.

**Tabla 29: Comparación orientada a pacientes con MPC de CTC y reducción de PSA de 30% a las 2-5 semanas**

| % de reducción de PSA desde la línea base a las 2-5 semanas posteriores al inicio de la terapia | CTC 2-5 semanas después del inicio de la terapia | | Total |
|---|---|---|---|
| | <5 CTC/7,5 mL | ≥5 CTC/7,5 mL | |
| Reducción de PSA de ≥30% | 50 | 11 | **61** |
| Reducción de PSA de <30% | 69 | 67 | **136** |
| **Total** | **119** | **78** | **197** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 49% | 41% | 58% |
| % Concordancia negativo | 82% | 70% | 91% |
| Valor predictivo positivo | 86% | 76% | 93% |
| Valor predictivo negativo | 42% | 33% | 51% |
| Concordancia global | 59% | 52% | 66% |
| Razón de probabilidades | 4,4 | 2,1 | 9,2 |

**Tabla 30: Comparación orientada a pacientes con MPC de CTC y reducción de PSA del 30% a las 13-20 semanas**

| % de reducción de PSA desde la línea base a las 13-20 semanas posteriores al inicio de la terapia | CTC 13-20 semanas después del inicio de la terapia | | Total |
|---|---|---|---|
| | <5 CTC | ≥5 CTC | |
| Reducción de PSA de ≥30% | 72 | 9 | **81** |
| Reducción de PSA de <30% | 23 | 34 | **57** |
| **Total** | **95** | **43** | **138** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 60% | 46% | 72% |
| % Concordancia negativo | 89% | 80% | 95% |
| Valor predictivo positivo | 79% | 64% | 90% |
| Valor predictivo negativo | 76% | 66% | 84% |
| Concordancia global | 77% | 69% | 84% |
| Razón de probabilidades | 11,8 | 4,9 | 28,3 |

Los resultados de una comparación "orientada al paciente" de CTC y cambios de PSA usando un umbral de reducción de ≥30% a 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia combinada se muestran en la **Tabla 31.**

**Tabla 31: Comparación orientada a la observación de MPC entre CTC y una reducción de PSA del 30%.**

| % de reducción de PSA desde la línea base tras el inicio de la terapia | CTC tras el inicio de la terapia | | Total |
|---|---|---|---|
| | <5 CTC | ≥5 CTC | |
| Reducción de PSA de ≥30% | 243 | 41 | **284** |
| Reducción de PSA de <30% | 175 | 181 | **356** |
| **Total** | **418** | **222** | **640** |

| Medición | Estimación | Inferior IC 95% | Superior IC 95% |
|---|---|---|---|
| % Concordancia positivo | 51% | 46% | 56% |
| % Concordancia negativo | 86% | 81% | 89% |
| Valor predictivo positivo | 82% | 76% | 86% |
| Valor predictivo negativo | 58% | 53% | 63% |
| Concordancia global | 66% | 62% | 70% |
| Razón de probabilidades | 6,1 | 4,1 | 9,1 |

La concordancia global entre CTC y los cambios de PSA en los diferentes momentos posteriores al inicio de la terapia iban del 59% al 77% cuando se comparaba con una reducción de PSA de ≥30%, y del 52% al 75% cuando se comparaba con una reducción de PSA de ≥ 50%, lo que indica que había una discordancia entre el CTC y los

cambios de PSA en un ~25% al 40% de los pacientes.

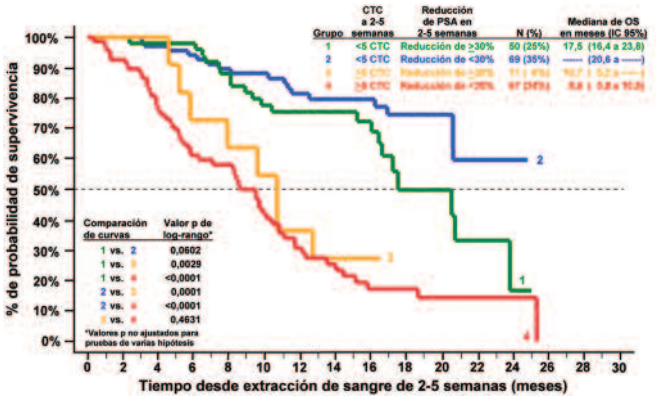
### 3.4.3 Combinación de niveles de CTC y reducción de PSA para predecir OS en pacientes con MPC

Para determinar cuál de los resultados discordantes reflejaba mejor el pronóstico del paciente, se comparó la valoración de CTC y los cambios de PSA 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas después del inicio de la terapia con la supervivencia global. Los tiempos de OS transcurridos fueron calculados a partir de la extracción de sangre que se evaluaba. Para el análisis Kaplan-Meier mostrado en la **Figura 31,** (paneles A, B, C y D), los pacientes fueron segmentados en cuatro grupos en base a su recuento de CTC y a la reducción de PSA 2-5 semanas, 6-8 semanas, 9-12 semanas y 13-20 semanas tras el inicio de la terapia, respectivamente:

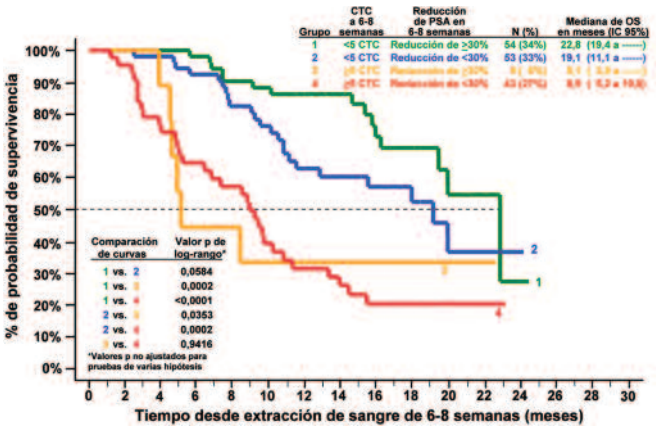
- Grupo 1 (curva **verde**), pacientes con CTC <5 en el momento de la evaluación y una reducción de PSA de ≥30% desde la línea base hasta el momento de la evaluación;
- Grupo 2 (curva **azul**), pacientes con CTC <5 en el momento de la evaluación y una reducción de PSA de <30% desde la línea base hasta el momento de la evaluación;
- Grupo 3 (curva **naranja**), pacientes con CTC ≥5 en el momento de la evaluación y una reducción de PSA de ≥30% desde la línea base hasta el momento de la evaluación;
- Grupo 4 (curva **roja**), pacientes con CTC ≥5 en el momento de la evaluación y una reducción de PSA de <30% desde la línea base hasta el momento de la evaluación.

**Figura 31: Combinación de niveles CTC y cambios de PSA para predecir la OS 2-5 semanas (Panel A), 6-8 semanas (Panel B), 9-12 semanas (Panel C) y 13-20 semanas (Panel D) tras el inicio de la terapia**

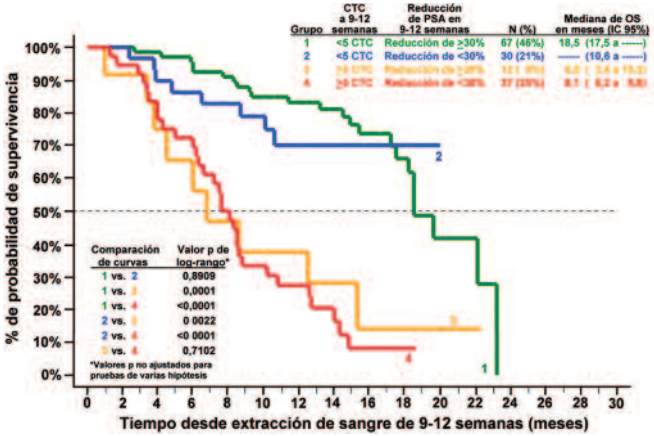
**A. 2-5 semanas**



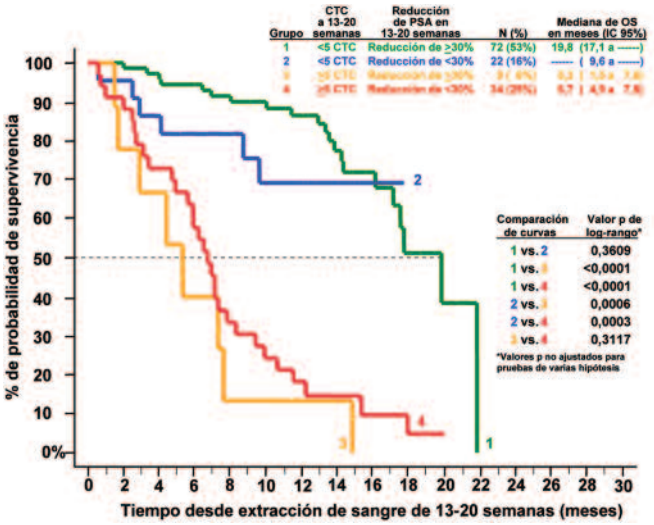

**B. 6-8 semanas**



**C. 9-12 semanas**




**D. 13-20 semanas**




La **Figura 31** muestra que los pacientes con CTC ≥5 en cualquier punto tras el inicio de la terapia tenían una probabilidad mucho mayor de morir antes, independientemente de los cambios de los niveles de PSA desde la línea base. Los pacientes con un CTC ≥5 en todos los momentos (**Grupo 3** y **Grupo 4**) tenían la mediana de supervivencias globales más corta, que no eran significativamente diferentes. No obstante, la mediana de OS de estos dos grupos era significativamente diferente si se comparaba con la de los pacientes con CTC <5 en todos los momentos (**Grupo 1** y **Grupo 2**). Estos dos grupos (**Grupo 1** y **Grupo 2**) tenían la mediana de supervivencias globales más larga, que no eran significativamente diferentes. El hallazgo importante se ilustra en la **Figura 31,** y es que aunque una reducción de PSA en algunos puntos tras el inicio de la terapia puede tener significancia para la predicción de la supervivencia, el CTC favorable en cualquier momento era más preciso que la evaluación de PSA. La implicación práctica es el uso del análisis de CTC para la evaluación de la probabilidad de supervivencia de los pacientes con MPC. En los casos donde el CTC y el cambio de PSA eran discordantes, el CTC proporcionó la valoración más precisa para el pronóstico.

## HISTORIAL DE REVISIONES

| Fecha de revisión | Código de componente | Descripción de los cambios técnicos |
|---|---|---|
| 2017-07-06 | e631600005_ES | • Se ha añadido LBL-0018 al número de componente<br>• Se ha ampliado el sufijo a e631600005_ES<br>• Se ha actualizado el nombre de la empresa "JANSSEN DIAGNOSTICS, una división de JANSSEN PHARMACEUTICA NV'" a 'Menarini Silicon Biosystems Inc.'<br>• Se han actualizado los nuevos atributos corporativos, incluidos:<br>– logotipo de Menarini Silicon Biosystems<br>– dirección de EC/REP<br>– dirección de fabricación<br>• Fecha de revisión actualizada |
| 2017-04-01 | e631600004_ES | • Se ha ampliado el sufijo e631600004_ES<br>• Información de patente actualizada<br>• Fecha de revisión actualizada |
| 2016-04-20 | e631600003_ES | • Se ha ampliado el sufijo e631600003_ES<br>• Se han eliminado todas las apariciones de marca comercial registrada MAGNEST<br>• Se ha actualizado la sección 'LIMITACIONES':<br>– se ha agregado la precaución de restricción de ventas según la ley federal de los EE. UU.<br>• Se ha actualizado la sección 'GLOSARIO DE SÍMBOLOS':<br>– se han eliminado todos los idiomas, excepto el inglés<br>• Se ha actualizado el nombre de empresa BVBA a 'JANSSEN DIAGNOSTICS, una división de JANSSEN PHARMACEUTICA NV' |
| 2015-05-22 | e631600002_ES | • Se ha añadido LBL-0018 en los números de referencia<br>• Se ha ampliado el sufijo e631600002_ES<br>• Se ha actualizado la sección ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES:<br>– El paso 7 referente a la azida de sodio se ha cambiado de 'Advertencia' a 'Precaución'<br>– Se han eliminado las frases de riesgo y seguridad R22 y S28<br>• Se han añadido la sección y las declaraciones 'PELIGROS Y PRECAUCIONES':<br>• Se ha eliminado la declaración de síntomas de la sobrexposición a ProClin® 300<br>• Sección 'GLOSARIO DE SÍMBOLOS':<br>– Se ha reemplazado el pictograma de nocivo por el pictograma de advertencia<br>– Se ha actualizado el pictograma de riesgo biológico<br>• Se ha actualizado la dirección |
| 2013-08-29 | e631600001_ES | Técnicamente equivalente a e631500023_ES, con los siguientes cambios:<br>• Se le ha asignado un número de componente nuevo<br>• Se han actualizado los nuevos atributos corporativos, incluidos:<br>– logotipo de Janssen<br>– dirección de fabricación<br>– dirección de EC/REP<br>– números de teléfono<br>– sitio web<br>• Se han eliminado todos los casos de CELLSPOTTER® Analyzer<br>• Se han actualizado todos los casos de "tubo cónico CELLSEARCH® a tubos cónicos de centrífuga (15 mL) CELLSEARCH®<br>• Se han actualizado todos los casos de CELLSEARCH® Kit a CELLSEARCH® CTC Kit<br>• Sección **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**:<br>– actualizada la información de contaminación por arrastre de células a "5000 o mayor"<br>• Sección **Janssen Technical & Customer Support**:<br>– actualizados todos los casos de Veridex, LLC a Janssen Diagnostics, LLC<br>– actualizada la declaración de patente en EE. UU.<br>• Sección **GLOSARIO DE SÍMBOLOS**:<br>– añadido el símbolo de fecha de fabricación y el texto "Fecha de fabricación"<br>• Fecha de revisión actualizada |

Menarini Silicon Biosystems Inc.
10355 Science Center Drive, Suite 210
San Diego, CA 92121
USA
documents.cellsearchctc.com
Teléfono: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II® y AUTOPREP® son marcas registradas de Menarini Silicon Biosystems Inc. Esta tecnología, incluidos los productos y/o los componentes asociados, así como los procedimientos y sistemas de instrumental aquí descritos están protegidos por patentes de EE.UU. y por las correspondientes patentes internacionales y solicitudes de patentes pendientes, entre las que se incluyen: números de patente en EE. UU. 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982; 6,790,366; 7,011,794 y 7,332,288.

## GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido empleados en estas instrucciones o en el etiquetado asociado.

Usar antes de
AAAA-MM-DD o AAAA-MM

Código de lote

Número de serie

Precaución, consulte los documentos adjuntos

Fecha de fabricación

Fabricante

Contiene suficiente para < n > pruebas

Advertencia

Número de catálogo

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Límite de temperatura

Riesgos biológicos

Consulte las instrucciones de uso

Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

EC REP
Menarini Silicon Biosystems SpA
Via Giuseppe Di Vittorio 21B/3
40013 Castel Maggiore (Bologna)
Italy

CE

Menarini Silicon Biosystems Inc.
10355 Science Center Drive, Suite 210
San Diego, CA 92121
USA
documents.cellsearchctc.com
Teléfono: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

MENARINI silicon biosystems