

# Wolne komórki raka jelita grubego w otrzewnej

Polec T, Jastrzębski T, Drucis K, Jaśkiewicz J

Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Tomasz Jastrzębski

Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej Gdański Uniwersytet Medyczny

80-952 Gdańsk, ul. Dębinki 7

e-mail: [jasek@post.pl](mailto:jasek@post.pl)

## Streszczenie:

Rozwój rozsiewu wewnątrzotrzewnowego nowotworów rozpoczyna się od pojawienia w jamie otrzewnej komórek raka zdolnych do przeżycia oraz implantacji do komórek mezotelium. Częstość tego zjawiska w przypadku raka jelita grubego nie jest dobrze poznana. W dostępnych badaniach stwierdza się obecność wolnych komórek raka jelita grubego u 3,1% do 42,8% pacjentów. Różnice są dość duże w zależności od badania jednak można stwierdzić że pojawienie się komórek raka w otrzewnej nie jest zjawiskiem rzadkim. Poznanie czynników związanych z obecnością wolnych komórek nowotworowych w jamie otrzewnej u pacjentów z rakiem jelita grubego umożliwi wyselekcjonowanie grupy mogącej odnieść bardzo duże korzyści z zastosowania profilaktycznej chemioterapii dootrzewnowej.

## Summary:

Peritonea carcinomatosis started from one viable cell in peritoneal cavity with is able to implantation to mesothelium layer. How often free cancer cell appear in peritoneal cavity during colorectal cancer is unknown. Several studies describe this frequency at 3,1% to 42,8%. Discrepancy are great but the conclusion is clear: free cancer cell are not rare find at colorectal cancer patients. Knowledge about factors associated with peritoneal free cancer cell will be helpful in selection the group of patient with high risk of peritoneal carcinomatosis development. This group of patients could get special benefits from prophylactic intraperitoneal chemotherapy.

## Wstęp

W populacji polskiej rak jelita grubego jest jednym z najczęstszych nowotworów. Wśród mężczyzn dynamika przyrostu jego zachorowalności jest jedną z najwyższych w Europie [1]. Jednocześnie wyniki leczenia nowotworu są jednymi z gorszych w Europie [2]. Najważniejszymi czynnikami rokowniczymi są: głębokość inwazji w ścianę jelita, obecność przerzutów w węzłach chłonnych oraz wystąpienie przerzutów odległych [3]. Najnowsza klasyfikacja AJCC z 2010 roku rozróżnia różne lokalizacje przerzutów. Jako stopień M1b opisano w niej wystąpienie przerzutów do otrzewnej [4]. Stan ten związany jest z bardzo złym rokowaniem. W przypadku włączenia systemowego leczenia paliatywnego mediana czasu przeżycia nie przekracza 8 miesięcy [5].

Jednak w tej grupie chorych istnieje skuteczna metoda leczenia umożliwiająca uzyskanie przeżyć pięcioletnich na poziomie 27% [6]. Wprowadzona przez Sugarbackera metoda polega na wykonaniu cytoredukcji (CRS – ang. cytoreductive surgery) zmierzającej do usunięcia wszystkich makroskopowych ognisk nowotworu z następczym dootrzewnowym podaniem cytostatyku w podwyższonej temperaturze (HIPEC – ang. hyperthermic intraperitoneal chemotherapy) celem eliminacji mikroprzerzutów [7]. Niestety wraz ze nasileniem zmian w otrzewnej i rozległością zabiegu rośnie liczba ciężkich powikłań [8]. Ogranicza to ich zastosowanie tylko do pacjentów z nisko zaawansowanym rozsiewem wewnątrzotrzewnowym. Nasuwa to pytanie jak wcześniej wykrywać rozsiew wewnątrzotrzewnowy gdyż dotychczasowe metody obrazowania umożliwiają wykryć głównie zmian zaawansowanych. W ostatnich

latach poszukuje się metod które potrafią wykryć chorobę we wczesnym stadium rozsiewu. Próbuje się również określić czynniki ryzyka rozwoju rozsiewu wewnątrzotrzewnowego – PC (ang. peritoneal carcinomatosis) aby wyodrębnić grupę chorych, u których nie ma jeszcze makroskopowego rozsiewu, a którzy obarczeni są wysokim ryzykiem jego rozwoju.

W przypadku nowotworów ginekologicznych czynnikiem takim stała się cytologia popłuczyn z otrzewnej [9,10]. Również w przypadku raka żołądka stwierdzono, że badanie cytologiczne popłuczyn z otrzewnej jest czynnikiem związanym z rozwojem PC [11]. Badanie cytologiczne umożliwia wykrycie grupy pacjentów obarczonych gorszym rokowaniem. Uznaje się że obecność wolnych komórek raka w otrzewnej w przypadku tych nowotworów jest ujemnym czynnikiem prognostycznym. W przypadku raka jelita grubego w ostatnich latach pojawiła się duża liczba doniesień o częstości występowania wolnych komórek raka w otrzewnej oraz ich wpływie na rokowanie [12-28].

## **Patomechanizmy powstawania wszczepów nowotworu w otrzewnej**

Mechanizm rozwoju PC jest badany od wielu. W przypadku penetracji guza przez błonę surowiczą dochodzi do złuszczenia się z jego powierzchni pojedynczych komórek lub ich grup. Złuszczenie się jest spowodowane zmniejszeniem ekspresji molekuł adhezji na komórkach nowotworu [29]. Zjawisko to obserwowane jest zarówno w nowotworach przewodu pokarmowego jaki i jajnika [30,31]. Komórki te mają zdolność implantacji na powierzchni otrzewnej oraz dalszych podziałów [32,33]. Do pojawienia się żywych komórek nowotworu może też dochodzić na drodze jatrogennego lub spontanicznego perforowania guza, oraz w wyniku przecięcia naczyń krwionośnych i limfatycznych w trakcie chirurgicznej procedury usunięcia ogniska pierwotnego [34]. Po dostaniu się do jamy otrzewnej komórki te mogą krążyć wraz z płynem otrzewnowym. W jamie otrzewnej znajduje się niewielka ilość płynu. Jego zadaniem jest ułatwienie przemieszczania się narządów względem siebie. Jego obecność uwarunkowana jest obecnością przesączania przez ściany naczyń krwionośnych otrzewnej. Podlega on cyrkulacji wewnątrz otrzewnej, która uwarunkowana jest obecnością siły grawitacji, ruchami oddechowymi oraz ułożeniem narządów w obrębie jamy otrzewnej [35]. Płyn absorbowany jest przez całą powierzchnię mezotelium. Komórki nowotworowe krążące w płynie otrzewnowym także przemieszczają się wraz z nim. Opisuje się dwa sposoby implantacji komórek nowotworowych do otrzewnej: drogą bezpośredniej inwazji w nabłonek oraz przez struktury limfatyczne błony otrzewnej [36].

Proces implantacji komórek raka do otrzewnej składa się z kilku etapów. Obecne w otrzewnej wolne komórki raka w pierwszej fazie przyczepiają się do powierzchni otrzewnej przy pomocy obecnych na jej powierzchni molekuł adhezji. Następnie penetrują nabłonek i docierają do warstwy podotrzewnowej. W procesie tym uczestniczą oprócz molekuł adhezji również proteazy [36,37].

Drugi mechanizmem powstawania wszczepów w otrzewnej uwarunkowany jest obecnością na jej powierzchni struktur odpowiedzialnych za eliminację z płynu otrzewnowego cząsteczek, które nie mogą przedostać się przez barierę krew-otrzewna. Eliminacja złuszczonych elementów komórkowych i białek następuje przez kanały limfatyczne i pory w obrębie blaszki podstawnej błony otrzewnej. Największa gęstość tych struktur obserwowana jest na brzusznej powierzchni przepony, sieci, więzadło wątrobowo-dwunastniczym, podstawie krezki, zatoce Douglas' oraz przyczepkach sieciowych okrężnicy [38]. W tych lokalizacjach stwierdza się również największą ilość tzw. "milky spots". Są to małe struktury składające się głównie z makrofagów, limfocytów oraz nielicznych komórek plazmatycznych. To w ich bezpośrednim sąsiedztwie lokalizuje się największa ilość porów naczyń limfatycznych. Najprawdopodobniej pełnią one funkcję filtrów limfatycznych podobnie jak węzły chłonne. Opisane wyżej struktury mogą stanowić funkcję pułapki dla krążących w otrzewnej komórek nowotworowych warunkują obecność miejsc predysponowanych do lokalizowania się w nich wszczepów otrzewnowych w przebiegu PC [39]. Miejsca te to okolica kątnicy, prawa powierzchnia otrzewnej przeponowej, więzadło wątrobowo-dwunastnicze, sieć większa, otrzewna ścienna i trzewna miednicy mniejszej [34]. Za udziałem

porów limfatycznych w zasiedlaniu otrzewnej przez komórki nowotworowe przemawia też rzadka lokalizacja zmian w miejscach gdzie struktury te nie występują tzn.: powierzchnia wątroby, śledziony, powierzchnia jelita cienkiego.

## Wolne komórki raka w otrzewnej

Pierwszym krokiem w rozwoju rozsiewu wewnątrzotrzewnowego jest pojawienie się żywych, wolnych komórek nowotworowych w jamie otrzewnej. Rozsiew stwierdzany jest średnio u 7 % pacjentów w chwili rozpoznania raka jelita grubego. U 4-19% do rozwoju peritonitis carcinomatosa (PC) dochodzi w trakcie obserwacji po leczeniu raka jelita grubego, u 44% reoperowanych z powodu wznowy CRC stwierdza się rozsiew nowotworu w otrzewnej, 40-80% pacjentów umierających z powodu raka jelita grubego stwierdza się PC [40]. W grupie pacjentów leczonych z intencją do wyleczenia znalezienie czynników związanych z ryzykiem rozwoju wznowy ma kluczowe znaczenie. Jednym z nich jest obecność wolnych komórek nowotworowych w jamie otrzewnej. Częstość występowania tego zjawiska była przedmiotem badań przedstawionych w Tab 1.

Tab. 1

Autor i rok publikacji	Liczba pacjentów w badaniu	Częstość dodatniej cytologii
Noura i wsp. 2011 [12]	1677	3,1%
In Kyu Lee i wsp. 2009 [13]	189	7,9%
Nishikawa i wsp. 2009 [14]	410	7,6%
Gozalan i wsp. 2007 [15]	67	9%
Kanellos i wsp. 2006 [16]	98	26,3%
Lloyd i wsp. 2006 [17]	125	32,8%
Baskaranathan i wsp. 2004 [18]	281	9,25%
Yamamoto i wsp. 2003 [19]	189	5,8%
Guller i wsp. 2002 [20]	39	17,9%
Vogel i wsp. 2000 [21]	90	35,5%
Wind i wsp. 1999 [22]	88	28%
Hase i wsp. 1998 [23]	88	10,2%
Solomon i wsp. 1997 [24]	103	14,6%
Horattas i wsp. 1997 [25]	50	10%
Buchmann i wsp. 1996 [26]	62	14,5%
Leather i wsp. 1994 [27]	35	42,8%
Kameyama i wsp. 1991 [28]	287	7,3%

Częstość stwierdzania dodatniej cytologii waha się w granicach 3,1 – 42,8%. Rozbieżności w wynikach uwarunkowane są kilkoma czynnikami. Jednym z nich jest różnorodność geograficzna badanych populacji pochodzących Japonii, Europy, Stanów Zjednoczonych. Kolejnym bardzo istotnym czynnikiem jest kwalifikowanie pacjentów w różnych stopniach zaawansowania. Lloyd i wsp. [17] badał tylko pacjentów w I i II stopniu wg AJCC, Yamamoto i wsp. [19] w II i III, Gozalan i wsp. [15], Baskaranathan i wsp. [18], Wind i wsp. [22], Horattas i wsp. [25] w I-IV, pozostali autorzy kwalifikowali do badania pacjentów w I-III stopniu wg AJCC. Część z pacjentów nie została poddana radykalnemu zabiegowi ze

względu na znaczne zaawansowanie choroby [15,25]. Różna była też technika pobrania materiału. Różnice te dotyczyły objętości podawanego i pobieranego płynu w przypadku oceny popłuczyn. W badaniu Yamamoto i wsp. [19] i Hase i wsp. [23] część materiału nie pochodziła z popłuczyn tylko z wysięku otrzewnowego. W badaniach Gozalan i wsp. [15] i Baskaranathan i wsp. [18] materiałem była biopsja odciskowa wykonana z preparatu. Część badań polegała na pobraniu popłuczyn przed usunięciem guza, w części przypadków po jego usunięciu, a w części pobierano materiał i przed i po usunięciu guza pierwotnego. Różne były też techniki obróbki materiału (prędkości i czasy wirowań) użyte barwienia, zastosowanie metod immunohistochemicznych w części badań, czy metody PCR.

W związku z występowaniem różnic metodologicznych obserwowano też różnice dotyczące czynników klinicznych i patologicznych związanych z obecnością wolnych komórek raka w otrzewnej. Hase i wsp. [23] do czynników tych zaliczył: obecność makroskopowego rozsiewu w otrzewnej, obecność przerzutów w wątrobie, obecność powyżej 20ml wolnego płynu w otrzewnej, inwazja nowotworu w głąb ściany jelita przekraczająca mięśniówkę, zmiana makroskopowo owrzodziła szerząca się śródściennie, naciek nowotworu zajmujący powyżej 2/3 obwodu, naciek naczyń limfatycznych. Po uwzględnieniu tylko tych pacjentów którzy poddani zostali leczeniu z intencją wyleczenia (przeszli radykalny zabieg operacyjny) jedyną cechą związaną istotnie z dodatnią cytologią był naciek przekraczający 2/3 obwodu jelita. Baskaranathan i wsp. [18] w swojej pracy zauważył że jedyną cechą związaną z obecnością wolnych komórek raka w raku jelita grubego jest cecha dojrzałość histologiczna guza (cecha G), natomiast nie wykrył korelacji z głębokością inwazji w ścianę jelita. Istotność cechy G została też potwierdzona u innych badaczy, podobnie jak pierścieniowaty naciek ściany jelita, głębokość nacieku w głąb ściany jelita, obecność przerzutów w węzłach chłonnych, obecność wolnego płynu w jamie brzusznej.

W 2008 Rekhraj i wsp. [41] opublikował metaanalizę dostępnych do tego czasu prac nad zagadnieniem istotności obecności wolnych komórek raka jelita grubego w otrzewnej. Dowodzi ona, że obecność wolnych komórek raka w sposób istotny koreluje z ryzykiem wznowy zarówno miejscowej jak i odległej. W przypadku ujemnej cytologii ryzyko wznowy wynosi 25,2% natomiast dodatnia cytologia podnosi to ryzyko do 46,4%. Na podstawie tego badania można też powiedzieć, że dodatnia cytologia wykonana po zabiegu usunięcia guza silniej koreluje z ryzykiem wznowy niż dodatnia cytologia na początku zabiegu chirurgicznego. Prace opublikowane po pojawieniu się metaanalizy [12-14] potwierdzają, że dodatnia cytologia w popłuczynach z otrzewnej jest czynnikiem istotnie zwiększającym ryzyko wznowy.

## Podsumowanie

Cytologia popłuczyn z otrzewnej jest badaniem tanim, szeroko dostępnym i łatwym do wykonania [42]. Jednocześnie jej przydatność kliniczna w nowotworach ginekologicznych i raku żołądka została udowodniona [9-11]. W świetle dostępnych danych dotyczących cytologii w raku jelita grubego można również powiedzieć, że ma ona wartość prognostyczną. Umożliwia ona wykrycie grupy pacjentów obarczonych zwiększonym ryzykiem wznowy, w tym również miejscowej.

Zastosowanie dożylniej chemioterapii w tej grupie pacjentów nie zmniejsza jednak ryzyka rozwoju wznowy wewnątrz jamy otrzewnej [12]. Uwarunkowane jest to słabą penetracją podawanych dożylnie cytostatyków do otrzewnej [43]. Objęcie tej grupy pacjentów dokładniejszą obserwacją może przyczynić się do wcześniejszego wykrycia wznowy w obrębie jamy otrzewnej co zwiększy szanse na wykonanie u nich zabiegu cytoredukcji z następczą dootrzewnową chemioterapią w hipertermii.

Istnieje też możliwość zakwalifikowania tych pacjentów do profilaktycznego podania cytostatyku do jamy otrzewnej. W 1991 roku Kameyama i wsp. [28] opublikował badanie w którym części pacjentów z dodatnią cytologią podał dootrzewnowo mitomycyne c w dawce 20mg. Zaobserwował że postępowanie takie zmniejszyło ryzyko rozwoju wznowy miejscowej w stosunku do grupy która nie otrzymała dootrzewnowej chemioterapii. Również Noura [12] przeprowadził podobne badanie na większej liczbie pacjentów, w którym grupa która otrzymała dootrzewnową chemioterapię miała mniejsze ryzyko wznowy

miejscowej. Badania te zostały przeprowadzone na małych grupach pacjentów (13 i 52 chorych) i nie były badaniami randomizowanymi. Dlatego ich przydatność w formułowaniu zaleceń jest stosunkowo mała. Jednak potencjalny korzystny efekt takiego postępowania mógłby poprawić wyniki leczenia raka jelita grubego. Potrzebne są dalsze badania nad zastosowaniem uzupełniającej chemioterapii dootrzewnowej u pacjentów z wolnymi komórkami raka jelita grubego w otrzewnej.

## Piśmiennictwo

1. Didkowska J, Wojciechowska U, Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2007 roku. Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa 2009
2. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Knijn A, Marchesi F, Capocaccia R; EUROCARE Working Group. EUROCARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer*. 2009;45:931-91.
3. Gospodarowicz M, Benedet L, Hutter RV, Fleming I, Henson DE, Sobin LH. History and international developments in cancer staging. *Cancer Prev Control*. 1998;2:262-8.
4. AJCC Cancer Staging Handbook. 7th Edition. Springer-Verlag, Chicago 2010;173-206.
5. Klaver YL, Lemmens VE, Creemers GJ, Rutten HJ, Nienhuijs SW, de Hingh IH. Population-based survival of patients with peritoneal carcinomatosis from colorectal origin in the era of increasing use of palliative chemotherapy. *Ann Oncol* 2011 Feb 23. [Epub ahead of print]
6. Elias D, Gilly F, Boutitie F, Quenet F, Bereder JM, Mansvelt B, Lorimier G, Dubè P, Glehen O. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study. *J Clin Oncol*. 2010;28:63-8.
7. Sugarbaker PH. Surgical treatment of peritoneal carcinomatosis: 1988 Du Pont lecture. *Can J Surg*. 1989;32:164-70.
8. Saxena A, Yan TD, Morris DL. A critical evaluation of risk factors for complications after cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy for colorectal peritoneal carcinomatosis. *World J Surg* 2010;34:70-8.
9. Wethington SL, Barrena Medel NI, Wright JD, Herzog TJ. Prognostic significance and treatment implications of positive peritoneal cytology in endometrial adenocarcinoma: Unraveling a mystery. *Gynecol Oncol*. 2009;115:18-25.
10. Ziselman EM, Harkavy SE, Hogan M, West W, Atkinson B. Peritoneal washing cytology. Uses and diagnostic criteria in gynecologic neoplasms. *Acta Cytol*. 1984;28:105-110.
11. Schott A, Vogel I, Krueger U, Kalthoff H, Schreiber HW, Schmiegel W, Henne-Bruns D, Kremer B, Juhl H. Isolated tumor cells are frequently detectable in the peritoneal cavity of gastric and colorectal cancer patients and serve as a new prognostic marker. *Ann Surg*. 1998;227:372-9.
12. Noura S, Ohue M, Shingai T, Kano S, Ohigashi H, Yano M, Ishikawa O, Takenaka A, Murata K, Kameyama M. Effects of intraperitoneal chemotherapy with mitomycin C on the prevention of peritoneal recurrence in colorectal cancer patients with positive peritoneal lavage cytology findings. *Ann Surg Oncol*. 2011;18:396-404.
13. Lee IK, Kim do H, Gorden DL, Lee YS, Sung NY, Park GS, Kim HJ, Kang WK, Park JK, Ahn CH, Kim JG, Jeon HM, Oh ST. Prognostic value of CEA and CA 19-9 tumor markers combined with cytology from peritoneal fluid in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2009;16:861-70.
14. Nishikawa T, Watanabe T, Sunami E, Tsuno NH, Kitayama J, Nagawa H. Prognostic value of peritoneal cytology and the combination of peritoneal cytology and peritoneal dissemination in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2009;52:2016-21.
15. Gozalan U, Yasti AC, Yuksek YN, Reis E, Kama NA. Peritoneal cytology in colorectal cancer: incidence and prognostic value. *Am J Surg*. 2007;193:672-5.
16. Kanellos I, Zacharakis E, Kanellos D, Pramateftakis MG, Betsis D. Prognostic significance of CEA levels and positive cytology in peritoneal washings in patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2006;8:436-40.
17. Lloyd JM, McIver CM, Stephenson SA, Hewett PJ, Rieger N, Hardingham JE. Identification of

- early-stage colorectal cancer patients at risk of relapse post-resection by immunobead reverse transcription-PCR analysis of peritoneal lavage fluid for malignant cells. *Clin Cancer Res.* 2006;12:417-23.
18. Baskaranathan S, Philips J, McCredden P, Solomon MJ. Free colorectal cancer cells on the peritoneal surface: correlation with pathologic variables and survival. *Dis Colon Rectum.* 2004;47:2076-9.
  19. Yamamoto S, Akasu T, Fujita S, Moriya Y. Long-term prognostic value of conventional peritoneal cytology after curative resection for colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2003 ;33:33-7.
  20. Guller U, Zajac P, Schnider A, Bösch B, Vorburger S, Zuber M, Spagnoli GC, Oertli D, Maurer R, Metzger U, Harder F, Heberer M, Marti WR. Disseminated single tumor cells as detected by real-time quantitative polymerase chain reaction represent a prognostic factor in patients undergoing surgery for colorectal cancer. *Ann Surg.* 2002;236:768-75
  21. Vogel P, Rüschoff J, Kümmel S, Zirngibl H, Hofstädter F, Hohenberger W, Jauch KW. Prognostic value of microscopic peritoneal dissemination: comparison between colon and gastric cancer. *Dis Colon Rectum.* 2000;43:92-100
  22. Wind P, Norklinger B, Roger V, Kahlil A, Guin E, Parc R. Long-term prognostic value of positive peritoneal washing in colon cancer. *Scand J Gastroenterol.* 1999;34:606-10.
  23. Hase K, Ueno H, Kuranaga N, Utsunomiya K, Kanabe S, Mochizuki H. Intraperitoneal exfoliated cancer cells in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1998;41:1134-40.
  24. Solomon MJ, Egan M, Roberts RA, Philips J, Russell P. Incidence of free colorectal cancer cells on the peritoneal surface. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:1294-8.
  25. Horattas MC, Evasovich MR, Topham N. Colorectal carcinoma and the relationship of peritoneal cytology. *Am J Surg.* 1997;174:334-7.
  26. Buchmann P, Christen D, Moll C, Flury R, Sartoretti C. Tumor cells in peritoneal irrigation fluid in conventional and laparoscopic surgery for colorectal carcinoma. *Swiss Surg.* 1996;Suppl 4:45-9 [abstract].
  27. Leather AJ, Kocjan G, Savage F, Hu W, Yiu CY, Boulos PB, Northover JM, Phillips RK. Detection of free malignant cells in the peritoneal cavity before and after resection of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1994;37:814-9.
  28. Kameyama M, Fukuda I, Imaoka S, Masutani S, Ohigashi H, Sasaki Y, Kabuto T, Ishikawa O, Furukawa H, Koyama H, et al. Prevention of peritoneal dissemination after colorectal surgery--significance of MMC administration in abdominal cavity. *Gan To Kagaku Ryoho.* 1991;18:1808-11. Japanese.
  29. Pocard M, Debruyne P, Bras-Gonçalves R, Mareel M, Dutrillaux B, Poupon MF. Single alteration of p53 or E-cadherin genes can alter the surgical resection benefit in an experimental model of colon cancer. *Dis Colon Rectum.* 2001;44:1106-12.
  30. Yonemura Y, Nojima N, Kaji M, Fujimura T, Itoh H, Ninomiya I, Miyazaki I, Endo Y, Sasaki T. E-cadherin and urokinase-type plasminogen activator tissue status in gastric carcinoma. *Cancer.* 1995;76:941-53.
  31. Elloul S, Elstrand MB, Nesland JM, Tropé CG, Kvalheim G, Goldberg I, Reich R, Davidson B. Snail, Slug, and Smad-interacting protein 1 as novel parameters of disease aggressiveness in metastatic ovarian and breast carcinoma. *Cancer.* 2005;103:1631-43.
  32. Fermor B, Umpleby HC, Lever JV, Symes MO, Williamson RC. Proliferative and metastatic potential of exfoliated colorectal cancer cells. *J Natl Cancer Inst.* 1986;76:347-9.
  33. Weiss L. Metastatic inefficiency: intravascular and intraperitoneal implantation of cancer cells. *Cancer Treat Res* 1996;82:1-11.
  34. Sugarbaker PH. Observations concerning cancer spread within the peritoneal cavity and concepts supporting an ordered pathophysiology. *Cancer Treat Res.* 1996;82:79-100.
  35. Gore RM, Newmark GM, Thakrar KH, Mehta UK, Berlin JW. Pathways of abdominal tumour spread: the role of the subperitoneal space. *Cancer Imaging.* 2009;9:112-20.
  36. Kusamura S, Baratti D, Zaffaroni N, Villa R, Laterza B, Balestra MR, Deraco M. Pathophysiology and biology of peritoneal carcinomatosis. *World J Gastrointest Oncol.* 2010;2:12-8.
  37. Ceelen WP, Bracke ME. Peritoneal minimal residual disease in colorectal cancer: mechanisms,

- prevention, and treatment. *Lancet Oncol.* 2009;10:72-9.
38. Yonemura Y, Kawamura T, Bandou E, Tsukiyama G, Endou Y, Miura M. The natural history of free cancer cells in the peritoneal cavity. In: Gonzalez-Moreno S., editors. *Advances in Peritoneal Surface Oncology*. Berlin, Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2007. pp.11-23
39. Sacchi G, Di Paolo N, Venezia F, Rossi A, Nicolai GA, Garosi G. Possible role of milky spots in mesothelial transplantation. *Int J Artif Organs.* 2007;30:520-6.
40. Koppe MJ, Boerman OC, Oyen WJ, Bleichrodt RP. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: incidence and current treatment strategies. *Ann Surg.* 2006;243:212-22.
41. Rekhraj S, Aziz O, Zacharakis E, Ziprin P. Peritoneal cytology in colorectal cancer: incidence and prognostic value. *Am J Surg.* 2008;196:617-8
42. Schott A, Vogel I, Krueger U, Kalthoff H, Schreiber HW, Schmiegel W, et al. Isolated tumor cells are frequently detectable in the peritoneal cavity of gastric and colorectal cancer patients and serve as a new prognostic marker. *Ann Surg* 1998;227:372-9.
43. de Bree E, Witkamp AJ, Zoetmulder FA. Intraperitoneal chemotherapy for colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2002;79:46-61.