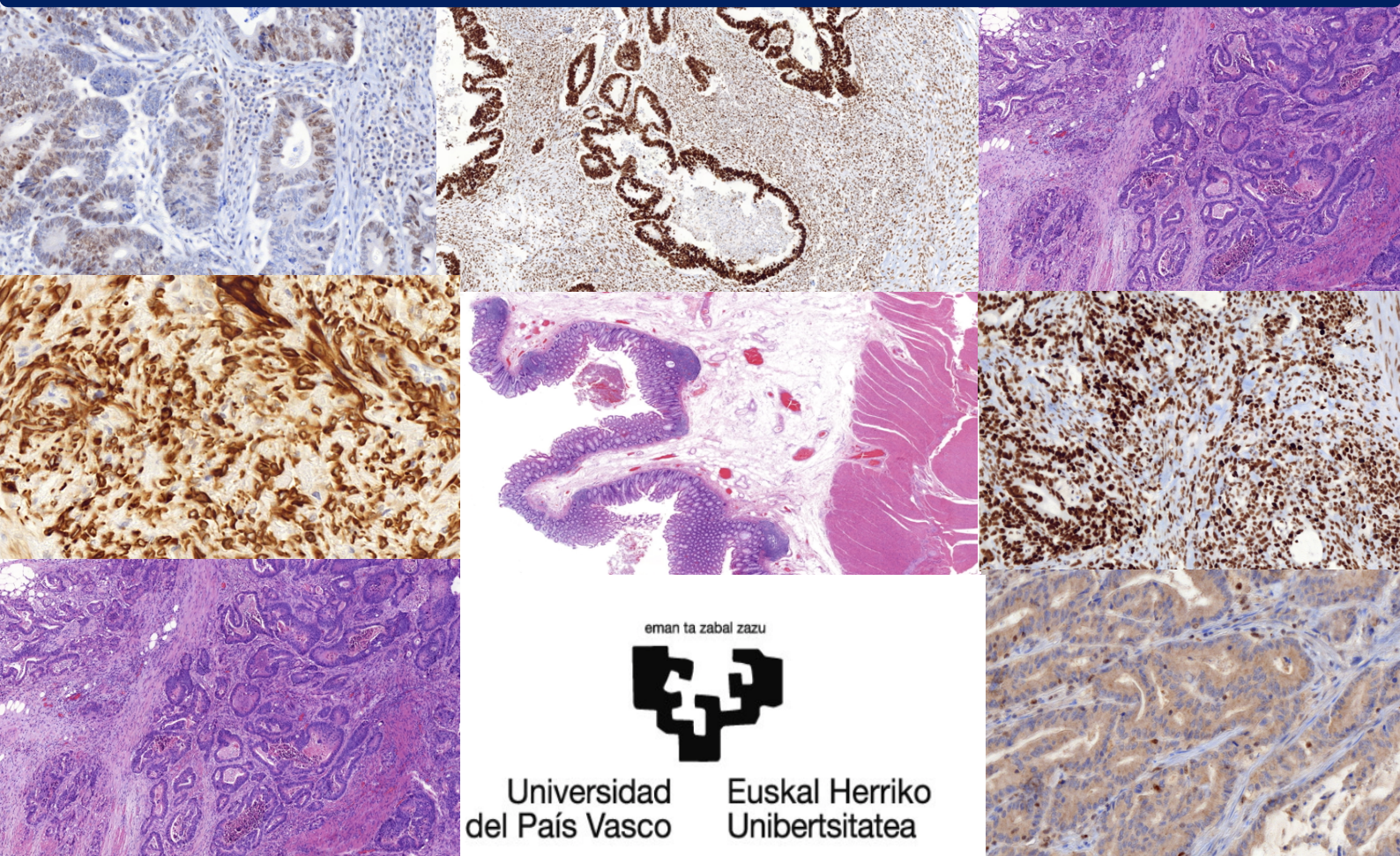


ADENOCARCINOMA DE COLON. CORRELACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS INMUNO-HISTO-PATOLÓGICO-MOLECULARES, LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO Y LA SUPERVIVENCIA

Adriano Pablo Martínez Aracil

Hospital Universitario Araba – Universidad del País Vasco

2023



eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

TESIS DOCTORAL:

Adenocarcinoma de Colon. Correlación de las características inmuno-histo-patológico-moleculares, la respuesta al tratamiento y la supervivencia.

LEIOA, 2023

DIRECTORES:

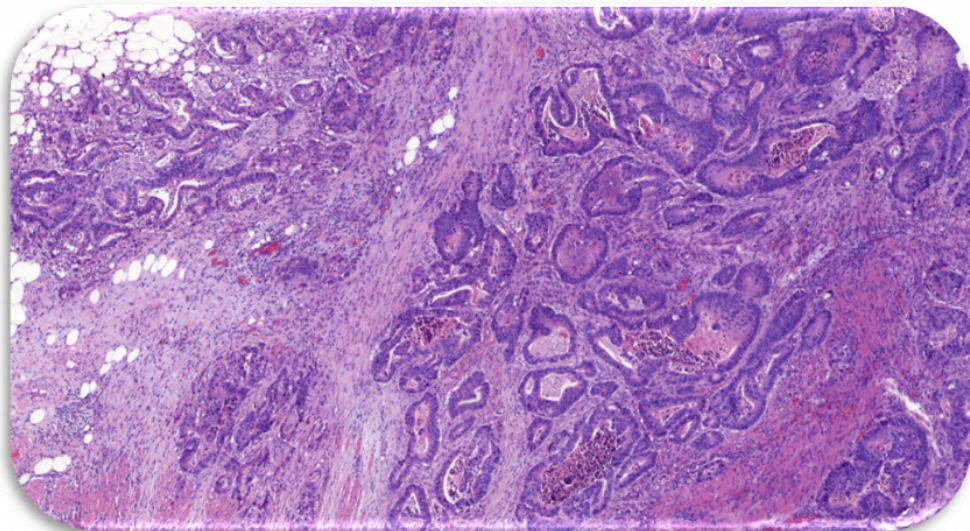
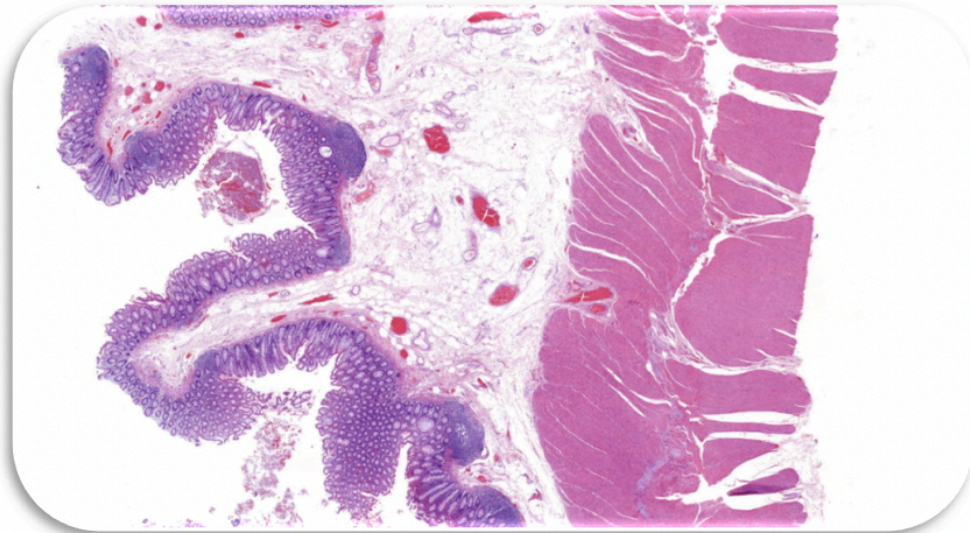
Dra. Guiomar Pérez de Nanclares Leal

Dr. José Javier Aguirre Anda

TUTORA:

Dra. Guiomar Pérez de Nanclares Leal

AGRADECIMIENTOS



Agradecimientos

La primera página de este gran proyecto en el que nos embarcamos en 2019 y la última que escribo. Probablemente y aunque me olvide de alguien, quiero recalcar que este proyecto no habría sido posible sin la ayuda y/o el apoyo de vosotros. Comenzaré de forma lineal según os fuisteis cruzando en el camino.

Primero, me gustaría agradecer la confianza y el apoyo continuo que he recibido por parte de mis dos directores: Jota y Guiomar.

A Guiomar, por haber sido una guía y tutora a la hora de iniciarme en el mundo de la investigación. Tu eficiencia a la hora de lidiar con cualquier asunto burocrático, tu forma de trabajar con plazos muy bien estipulados y tu paciencia a la hora de corregir el trabajo, ha tenido un gran impacto en que este trabajo haya llegado a su fin. Sin duda, no me olvidaré de tus consejos ni de tu apoyo constante.

A José Javier, gracias por tu capacidad de trabajo y por tu espíritu de querer mejorar y aprender siempre. Sin duda me has ayudado mucho a mejorar el enfoque clínico de la tesis, a trabajar de forma rigurosa y a intentar comprender aspectos de estadística que tanto dominas. En definitiva, eres una de las personas más importantes que me llevo de Vitoria por haber sido siempre un compañero que me ha tratado con un tremendo respeto y mucho cariño, haciendo que mi paso por el servicio fuese más agradable.

A Álvaro, Iñigo, Erika, Nancy y Mada, por ser unos compañeros de despacho magníficos. Habéis sido un apoyo en los momentos en los que este proyecto (al que sabéis que tanto tiempo he dedicado) tenía fugas. Vuestros ánimos y ayuda siempre que lo he requerido ha sido fundamental.

Muchas gracias al personal técnico de anatomía patológica, por haber dedicado tiempo libre a ayudarme a realizar cortes y tinciones de inmunohistoquímica. Aunque me habéis ayudado todas siempre que os lo he pedido, me gustaría agradecer especialmente a Nuria y a losune.

Este proyecto no hubiese sido posible sin el tiempo y dedicación de aquellas personas que trabajan en el laboratorio de genética. En especial me gustaría agradecer a Arrate, Karol, Julen, África y Pol porque sin ellos, no habríamos obtenido los resultados de mutación para TP53.

Agradecimientos

A todos vosotros, que habéis trabajado conmigo desde el mismo centro, muchísimas gracias.

Ahora agradecer a gente, que sin trabajar conmigo, me ha ayudado a darle calidad al trabajo y me han apoyado siempre.

A todos los “Casananienses”. Nuestra familia en Vitoria. Habéis hecho sentirme como en casa. Vuestro apoyo y ánimos en tiempos complicados ha sido crucial para que este proyecto haya podido concluirse. Seguiremos viéndonos año a año si ponéis de vuestra parte... ¿Vamos haciendo la lista para el año que viene?

A MIR TEAM, y en concreto a mi amigo y compañero de carrera Ricardo Gadea, por apoyarme y supervisarme a la hora de redactar el apartado de tratamiento quirúrgico. Además, por siempre ayudarme a transformar los problemas en soluciones, manteniendo una actitud positiva siempre.

A mi prima Reyes Villanueva, por ser la diseñadora de todas las figuras de este proyecto. Tu ayuda con el uso de las nuevas tecnologías me ha ayudado a plasmar con un toque ilustrativo las imágenes que tenía en mi cabeza.

A mis padres y mi hermano por estar siempre a mi lado, apoyándome y ayudándome. Sin duda alguna vuestro apoyo, valores y educación son las responsables de que yo haya llegado donde estoy.

A Raquel Soria, la persona que lleva 6 años a mi lado. Te has convertido en el pilar central de todas las decisiones que tomo. Tu actitud positiva, la complicidad que tenemos y las ganas de estar juntos, son los ingredientes perfectos para que cualquier proyecto que empecemos sea un éxito. Me has apoyado y animado en aquellos momentos difíciles. Hemos convivido 4 años y hemos aprendido que juntos somos capaces de cualquier cosa.

DEDICATORIA

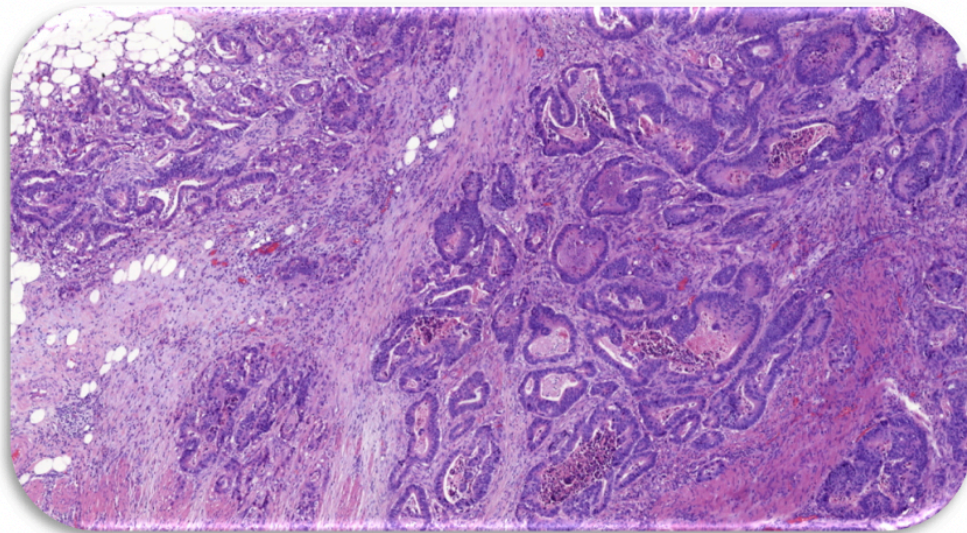
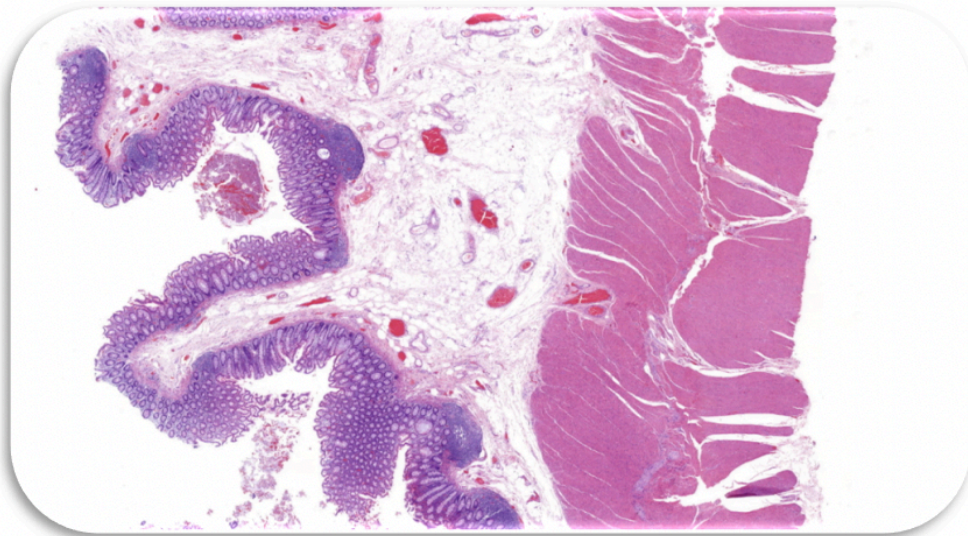
A mis tíos Juanma y Mar, mi primo Nacho y Reyes,

A mis padres,

Mi hermano Alberto,

Raquel

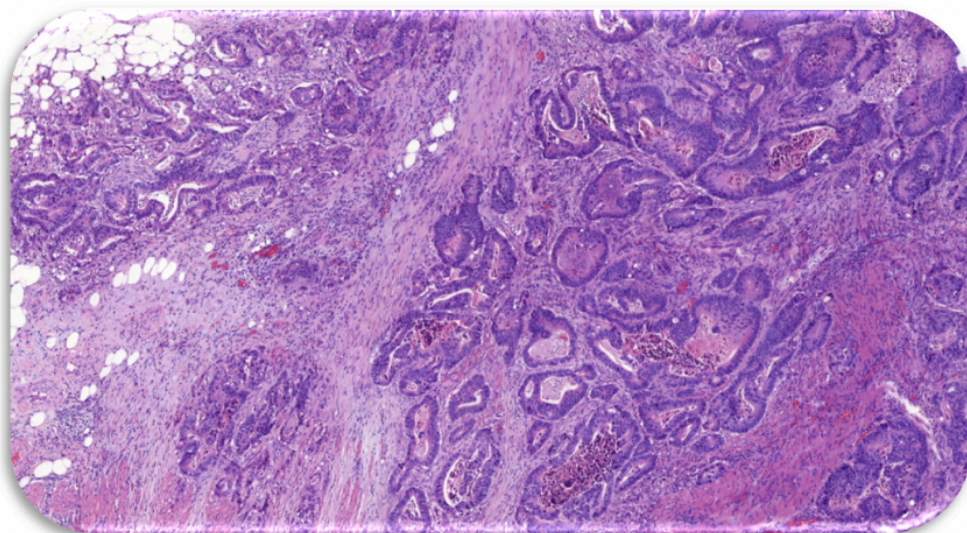
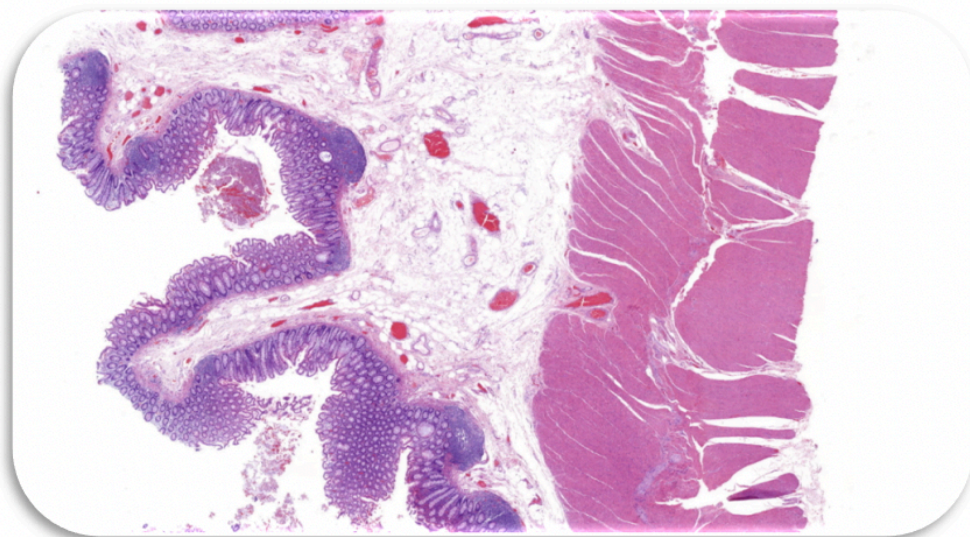
GLOSARIO



- 5-FU: 5-Fluorouracilo
- ACF: Aberración de criptas focales
- ADC: Adenocarcinoma
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- AINES: Antiinflamatorio no esteroideos
- AJCC: *American Joint Committee on Cancer* (Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer)
- APC: *Adenomatous Polyposis Coli*
- CAP: Colegio Americano de Patología
- CA 19.9: Antígeno carbohidratado 19.9
- CCR: Cáncer colorrectal
- CCRHNP: Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico
- CDX2: *Caudal Type Homeobox 2* (Proteína causal homeobox 2)
- CEA: Antígeno carcinoembrionario
- CIMP-high: *CpG Island Methylator Phenotype- high* (Fenotipo metilador alto en las islas CpG)
- CIMP-low: *CpG Island Methylator Phenotype- low* (Fenotipo metilador bajo en las islas CpG)
- COX-2: Ciclooxygenasa 2
- dMMR: *Deficient Mismatch Repair* (Proteínas reparadoras con función deficiente)
- EGF: *Epidermal Growth Factor* (Factor de crecimiento epidérmico)
- EGFR: *Epidermal Growth Factor Receptor* (Receptor del factor de crecimiento epidérmico)
- EMS: Estabilidad de microsatélites
- GDP: Guanosín difosfato
- GTP: Guanosín trifosfato
- IARC: *International Agency for Research on Cancer* (Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer)
- ICI: Inhibidor de puntos de control inmunitario
- IHQ: Inmunohistoquímica
- IMC: Índice de Masa Corporal

- IMS: Inestabilidad de microsatélites
- IMS-H: Alta inestabilidad de microsatélites
- IMS-L: Baja inestabilidad de microsatélites
- INC: Inestabilidad cromosómica
- LOH: *Loss of Heterozygosity* (Pérdida de heterocigosidad)
- MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinases* (Proteína cinasas activadas por mitógenos)
- MMR: *Mismatch Repair* (Proteínas reparadoras)
- NCCN: *National Comprehensive Cancer Network* (Red Nacional Integral del Cáncer)
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PAF: Poliposis adenomatosa familiar
- PAFA: Poliposis adenomatosa familiar atenuada
- PAM: Poliposis asociada a MutYH
- pMMR: *Proficient Mismatch Repair* (Proteínas reparadoras funcionantes)
- SOH: Sangre oculta en heces
- STR: *Short Tandem Repeat* (Secuencias cortas repetidas)
- TAC: Tomografía axial computerizada
- TEM: *Transanal Endoscopic Microsurgery* (Microcirugía Transanal Endoscópica)
- TIL: *Tumour Infiltrating Lymphocytes* (Linfocitos que infiltran el tumor)
- TGF- β : *Transforming Growth Factor Beta* (Factor de crecimiento transformante Beta)
- TNM: *Tumour Node Metastasis* (Tumor, Ganglio y Metástasis)

RESUMEN



El cáncer colorrectal (CCR) es en la actualidad una de las neoplasias malignas más prevalentes, constituyendo una de las principales causas de mortalidad por cáncer en países desarrollados. En Euskadi es el tumor de mayor incidencia en ambos sexos.

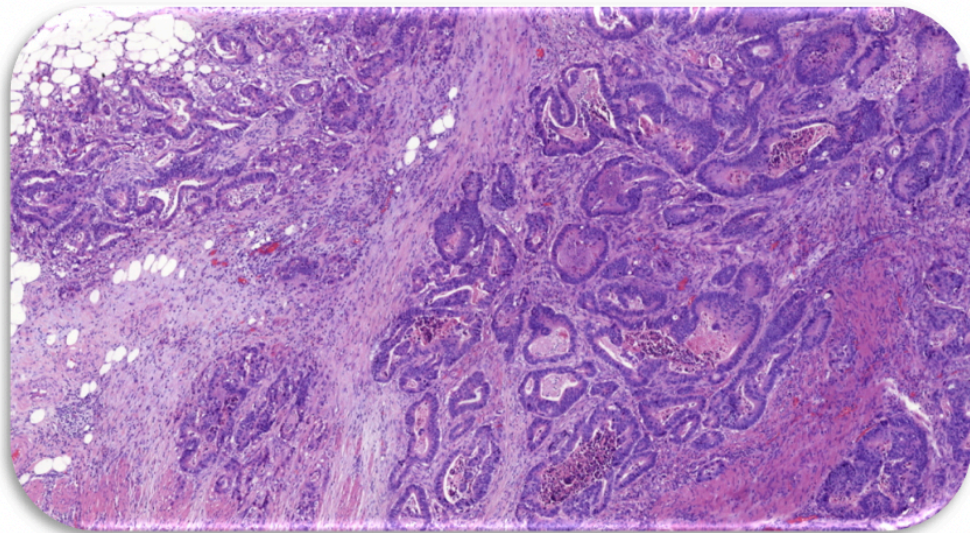
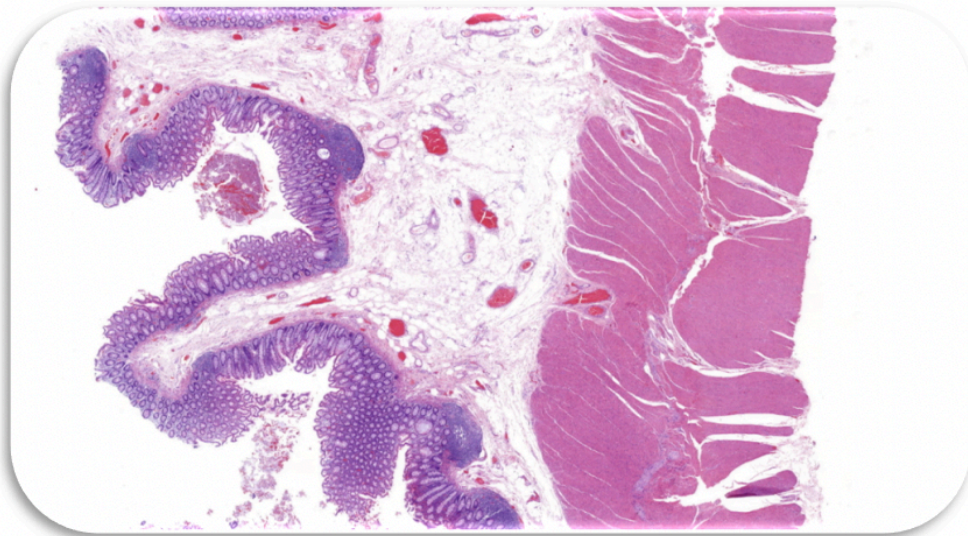
Pese a que los factores de riesgo para el CCR han sido ampliamente estudiados y definidos, no se ha determinado con claridad el motivo por el cuál existen diferencias en la probabilidad de supervivencia en pacientes con el mismo diagnóstico y tratamiento.

El pronóstico de los pacientes con cáncer colorrectal resecable se basa actualmente en los criterios histopatológicos de invasión tumoral de acuerdo con el sistema de clasificación TNM *del American Joint Committee on Cancer* (AJCC) y de la Unión Internacional para el Control del Cáncer (UICC) y en las características de la diferenciación de células tumorales. Este sistema proporciona información pronóstica útil pero incompleta ya que el resultado clínico puede variar sustancialmente entre los pacientes dentro de la misma etapa de tumor histológico.

Por otro lado, cada vez se solicitan diagnósticos más precisos, que además de las características histomorfológicas, también incluyan información genética de los tumores que permitan aplicar tratamientos personalizados.

Por esta razón, surgió nuestro interés en analizar tanto los factores clínico-demográficos de cada paciente como las características histopatológicas y moleculares de cada tumor con el objetivo de encontrar una combinación de parámetros capaz de explicar las diferentes respuestas al tratamiento de acuerdo a los objetivos de la medicina individualizada.

ÍNDICE

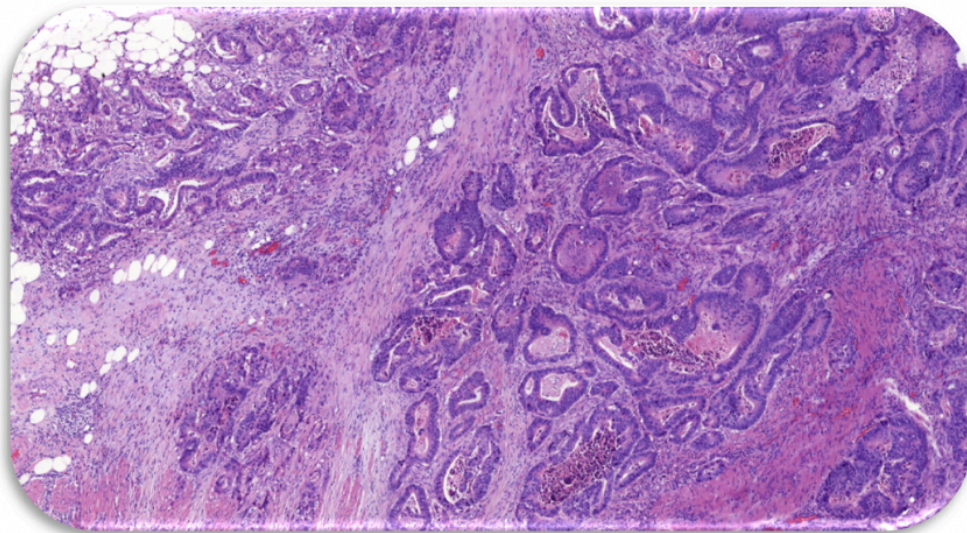
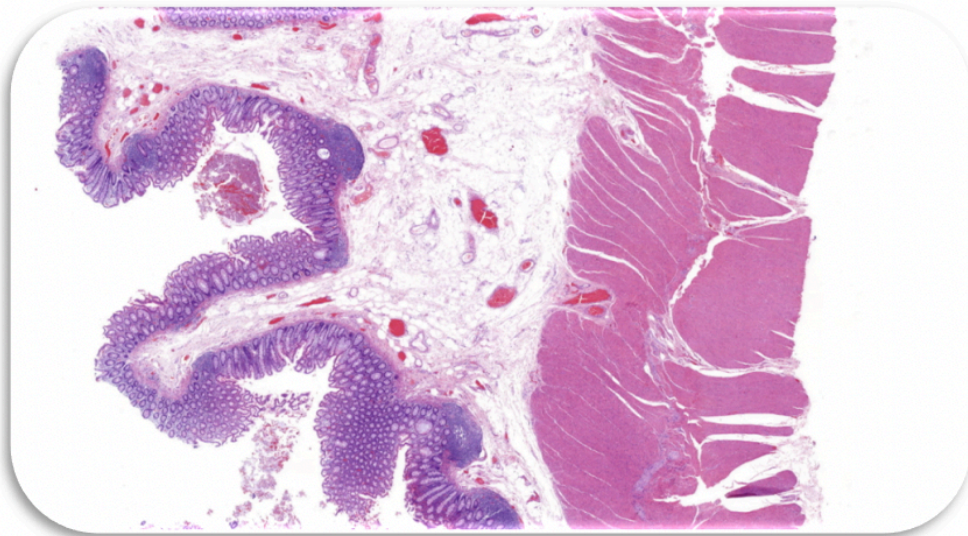


| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. Impacto Epidemiológico del cáncer colorrectal | 3 |
| 2. Factores de riesgo de cáncer colorrectal | 5 |
| 2.1. Factores genéticos/adquiridos | 5 |
| 2.2. Factores Ambientales..... | 16 |
| 3. Patogenia del cáncer colorrectal | 22 |
| 3.1. Secuencia Adenoma-Carcinoma | 22 |
| 3.2. Vía de inestabilidad Cromosómica (INC)..... | 24 |
| 3.3. Vía de inestabilidad de microsatélites (IMS)..... | 29 |
| 3.4. Vía de metilación de promotores (vía serrada):..... | 30 |
| 4. Diagnóstico | 32 |
| 4.1. Clínico | 32 |
| 4.2. Cribado | 33 |
| 4.3. Técnicas y pruebas de imagen: colonoscopia, biopsia y tomografía axial computerizada..... | 33 |
| 4.4. Diagnóstico anatomopatológico: histología, inmunohistoquímica y patología molecular..... | 34 |
| 4.4. Estadificación Sistema Tumor, Nodo, Metástasis (TNM)..... | 38 |
| 5. Tratamientos Disponibles | 39 |
| 5.1. Resección transanal endoscópica (TEM)..... | 39 |
| 5.2. Cirugía..... | 40 |
| 5.3. Quimioterapia..... | 42 |
| 5.4. Inmunoterapia | 44 |
| 5.5. Radioterapia | 44 |
| 5.6. Algoritmo de decisión terapéutica para cáncer colorrectal..... | 45 |
| 6. Factores pronósticos del CCR | 47 |
| 6.1. Clasificación dentro del Sistema TNM | 47 |
| 6.2. Invasión linfovascular y perineural | 48 |
| 6.3. Márgenes de resección | 48 |
| 6.4. Grado histológico de diferenciación | 48 |
| 6.5. Subtipo Histológico | 49 |

| | |
|---|----|
| 6.6. Perfil Inmunohistoquímico | 49 |
| 6.7. Budding tumoral | 53 |
| 6.8. Perforación y obstrucción intestinal | 54 |
| 6.9. Tumor residual tras cirugía..... | 55 |
| 6.10. Efecto del tratamiento | 55 |
| 6.11. Depósitos tumorales | 56 |
| 6.12. Marcadores tumorales..... | 56 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 59 |
| 3. OBJETIVOS | 63 |
| 1. Objetivo principal | 65 |
| 2. Objetivos específicos | 65 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS | 67 |
| 1. Pacientes | 69 |
| 2. Selección y trabajo de bloques..... | 69 |
| 3. Inmunohistoquímica | 70 |
| 4. Proceso de escaneo de muestras | 71 |
| 5. Cuantificación de la inmunotinción de p53 y CDX2 mediante el programa QuPath | 72 |
| 6. Cuantificación de proteínas reparadoras y budding tumoral..... | 74 |
| 7. Procesos de biología molecular..... | 74 |
| 7.1. Extracción de ADN desde tejido | 74 |
| 7.2. Cuantificación de ADN..... | 75 |
| 7.3. Estudio de inestabilidad de microsatélites..... | 75 |
| 7.4. Estudio de pérdida de heterocigosidad | 76 |
| 7.5. Análisis de mutaciones en <i>TP53</i> | 76 |
| 7.6. Estudio de hipermetilación de <i>MLH1</i> mediante MS-MLPA..... | 79 |
| 7.7. Estudio de mutaciones en <i>BRAF</i> y <i>KRAS</i> | 79 |
| 8. Elaboración de base de datos..... | 80 |
| 9. Análisis estadístico..... | 80 |
| 5. RESULTADOS | 83 |
| 1. Pacientes: diagnóstico y evolución..... | 85 |
| 2. Caracterización histológico-inmuno-molecular de los tumores | 89 |

| | |
|--|-----|
| 2.1. Localización de los tumores | 91 |
| 2.2. Tamaño tumoral | 95 |
| 2.3. Grado histológico | 96 |
| 2.4. Tumor budding | 98 |
| 2.5. Invasión perineural | 99 |
| 2.6. Invasión vascular | 99 |
| 2.7. Extensión tumoral | 99 |
| 2.8. Invasión ganglionar linfática | 100 |
| 2.9. Vías de carcinogénesis | 100 |
| 2.10. Otros marcadores inmunohistoquímicos | 104 |
| 3. Relación entre las variables inmunohistopatológicas y la evolución tumoral en términos de supervivencia | 107 |
| 6. DISCUSIÓN | 117 |
| 1. Diagnóstico clínico y anatomopatológico | 119 |
| 2. Evolución y pronóstico | 132 |
| 3. Limitaciones del estudio | 138 |
| 7. CONCLUSIONES | 141 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 145 |
| 9. ANEXOS | 185 |

1. INTRODUCCIÓN



El cáncer, se define como una enfermedad que puede aparecer en cualquier órgano o tejido del cuerpo. Ocurre cuando células atípicas crecen de manera descontrolada, invadiendo estructuras u órganos vecinos. Esto se denomina metástasis y es la principal causa de muerte entre los pacientes que sufren esta patología¹. El cáncer es una enfermedad muy prevalente en la actualidad en los países desarrollados.

Se denomina cáncer colorrectal (CCR) cuando la proliferación está presente en el colon y/o recto². La neoplasia o proliferación celular más común del colon es el adenoma, siendo éste el precursor de la gran mayoría de neoplasias epiteliales del intestino grueso². Por su parte, el tumor más frecuente es el adenocarcinoma (ADC) de colon, con una frecuencia de 90%³. Aunque la gran mayoría de casos sean diagnosticados como adenocarcinoma, existen diferentes subtipos, que serán comentados más adelante.

1. Impacto Epidemiológico del cáncer colorrectal

Según los datos del proyecto GLOBOCAN de 2018⁴, la incidencia a nivel mundial del CCR ocupa la tercera posición en ambos sexos (1.849.518 nuevos casos, 10,2% del total) tras cáncer de mama y pulmón; la tercera en varones (1.026.215 casos, 10,9% del total) tras el cáncer de pulmón y próstata y la segunda en mujeres (823.303, 9,5% del total) tras el cáncer de mama.

Supone la quinta causa de muerte en ambos sexos (890.793 muertes, 9,2% del total) por detrás del cáncer de pulmón, mama, hígado, y estómago; es la cuarta causa de muerte en varones (484.224, 9,0% del total) tras el cáncer de pulmón, hígado y estómago; y la tercera causa de muerte en mujeres (396.568, 9,5%) tras el cáncer de mama y de pulmón, como se puede ver en la Figura 1.

En la población española el CCR representa la mayor incidencia (37.172 nuevos casos, 13,7% del total), seguido de mama, próstata y pulmón, y supone la segunda causa de muerte entre todas las neoplasias⁵.

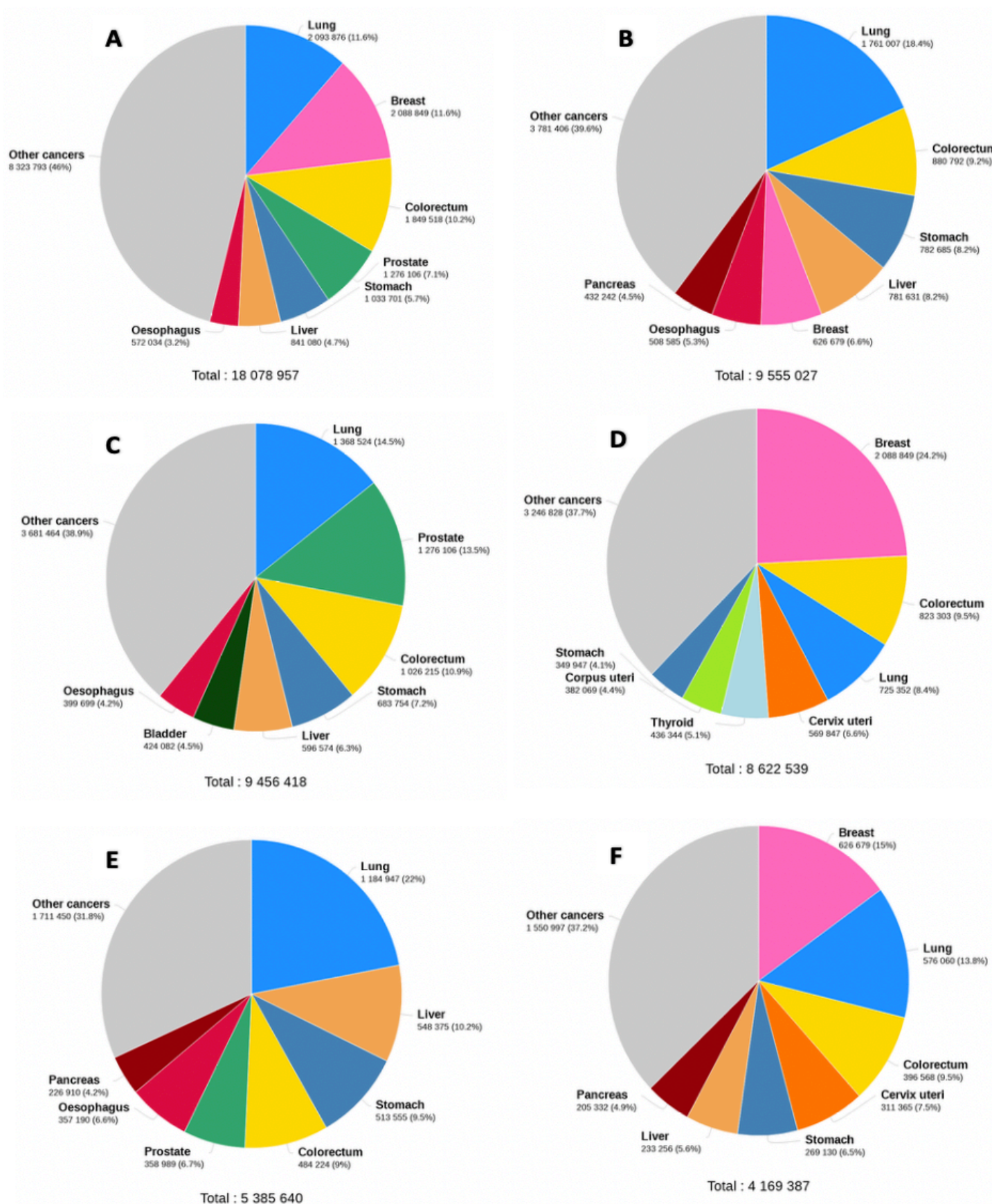


Figura 1: (A): Incidencia tumoral en el 2018 para ambos sexos; (B): Número estimado de muertes por tumores en el 2018; (C): Incidencia tumoral en el 2018 en varones; (D): Incidencia tumoral en el 2018 en mujeres; (E): Número estimado de muertes causadas por tumor en el año 2018 en varones; (F): Número estimado de muertes causadas por tumor en el año 2018 en mujeres. Datos extraídos de Globocan⁴.

Por último en relación a la frecuencia de esta enfermedad nuestra región, según los últimos datos aportados por el Gobierno Vasco, en el año 2015 se diagnosticaron 13.643 nuevas neoplasias en Euskadi⁶. El CCR es el tumor con mayor incidencia para ambos sexos con 1.952 casos (14,3%), seguido por mama con 1679, próstata con 1538, y en cuarto lugar el cáncer de pulmón y bronquios con 1.536 casos.

En varones, el cáncer de próstata ocupa el primer lugar en incidencia con 1.538 casos, seguido del cáncer de colon con 1.192 y cáncer de pulmón, bronquios y tráquea con 1.161 casos. En mujeres el primer lugar lo ocupa el cáncer de mama con 1.662 casos, seguido del cáncer de colon con 760 y por último cáncer de tráquea, bronquios y pulmón con 375 casos.

Respecto a la mortalidad, con datos recogidos en el año 2017, supone la segunda causa de muerte en ambos sexos (782 muertes, 12,6% del total) por detrás del cáncer de mama en mujeres y tráquea, bronquios y pulmón en varones⁶.

2. Factores de riesgo de cáncer colorrectal

Existen diversos ítems que pueden aumentar el riesgo de sufrir un CCR. Se dividen principalmente en dos grupos: factores adquiridos (aquellos factores que no son modificables) y factores ambientales (aquellos factores que sí son modificables, pudiendo alterar la probabilidad de desarrollar la enfermedad).

Los factores hereditarios (adquiridos) pueden determinar la susceptibilidad del individuo a padecer adenomas y cáncer de colon, mientras que los factores ambientales determinan cuáles de los individuos predispuestos genéticamente desarrollarán adenomas pequeños, adenomas grandes y finalmente, cáncer colorrectal⁷.

2.1. Factores genéticos/adquiridos

El CCR es una enfermedad maligna de causa esporádica en un 70% de los casos, aproximadamente un 20-30% tienen un componente familiar asociado (del que todavía no se han determinado las mutaciones que lo causan) y un 3-5% de son considerados hereditarios⁸. Las formas hereditarias de CCR más conocidas son la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y el cáncer colorrectal hereditario no polipósico (CCRHNP). Estos síndromes se detectan entre el 6-10% de todos los CCR en pacientes menores de

50 años, es decir, la incidencia sería 2/100.000 habitantes mundialmente⁹. Como mencionan Medina Pabón *et al* en su reciente publicación, existen otros síndromes más infrecuentes que también pueden predisponer a padecer el CCR¹⁰, que serán mencionados mas adelante.

2.1.1. Cáncer Colorrectal Hereditario Polipósico

Se denomina cáncer colorrectal hereditario polipósico a aquellos síndromes que cursan con poliposis y asocian un mayor riesgo de desarrollo de CCR. Entre ellos se encuentran: PAF, poliposis adenomatosa familiar atenuada (PAFA), poliposis asociada a *MutYH* (PAM), síndrome de Peutz Jeghers, síndrome de poliposis juvenil, síndrome de Cowden y poliposis serrada sésil¹⁰.

A su vez se dividen en síndromes adenomatosos y hamartomatosos. Los adenomas son lesiones frecuentes que suelen ser asintomáticas. La importancia de su diagnóstico temprano radica en que actúan como precursores de la mayoría de lesiones epiteliales del intestino grueso. Se definen morfológicamente como “proliferaciones displásicas clonales del epitelio colónico”². Por su parte, los hamartomas se definen como sobrecrecimiento de células y tejidos nativos a la localización anatómica donde ocurren. En el tubo digestivo, los hamartomas típicamente incorporan componentes epiteliales y estromales².

2.1.1.1. Síndromes hereditarios adenomatosos

a) Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF)

La PAF tiene una incidencia en nuestro medio de 1/8000 recién nacidos vivos¹¹, siendo el síndrome de poliposis adenomatosa más común. Sin embargo, únicamente es responsable del 1% del total de los CCR's^{12,13}.

Es el segundo síndrome hereditario asociado a CCR más frecuente tras el síndrome de Lynch¹⁰. Se manifiesta en pacientes que heredan de forma autosómico dominante mutaciones germinales en el gen *APC*, localizado en el cromosoma 5q21¹². Este gen codifica para una proteína supresora de tumores que afecta a la adhesión y migración celular regulando la B-catenina en la vía de señalización Wnt^{12,14}.

El 100% de las personas con alteraciones germinales en *APC* desarrollarán CCR entre los 40-50 años^{12,15}. En muchos casos no existirán antecedentes familiares; según

Valle *et al.* hasta en un 20% de pacientes con este síndrome, la mutación será de novo¹⁰. Además, un gran número de CCRs esporádicos presentan mutaciones somáticas en *APC*, como primer paso en la secuencia de transformación adenoma-carcinoma.

El diagnóstico clínico de PAF se establece ante el hallazgo de más de 100 adenomas o más de 10 en un paciente con historia familiar^{12,16}. Los adenomas comienzan a desarrollarse en la adolescencia y normalmente aparecen en colon izquierdo^{12,14}.

Este síndrome también puede asociar múltiples manifestaciones extracolónicas como revisan Valle y colaboradores¹²:

- Adenomas del tracto gastrointestinal superior (95%).
- Pólipos de glándula fúndica (80-90%).
- Osteomas (80%).
- Hipertrofia congénita del pigmento de la retina (75%).
- Quistes epidermoides (50%).
- Anomalías dentales (17%).
- Quistes desmoides (15-30%).
- Adenomas adrenocorticales (5%).
- En menor número, pueden asociar tumores de la vía biliar, carcinoma papilar de tiroides, hepatoblastoma y meduloblastoma.

Debido a la cantidad de entidades que puede causar, existen dos subvariantes de la PAF. Por una parte, el síndrome de Gardner, que se caracteriza por osteomas, anomalías dentales, quistes epidérmicos y tumores de partes blandas (además de poliposis colónica); por otra, el síndrome de Turcot tipo 2, que se asocia con defectos del sistema nervioso central y enfermedad desmoide hereditaria (además de poliposis colónica)¹⁴.

El tratamiento de elección para pacientes que tengan PAF es la colectomía antes de que desarrollen la neoplasia^{12,16}.

b) Poliposis adenomatosa familiar atenuada (PAFA)

Se ha descrito un subgrupo de PAF que se denomina “atenuada” (PAFA), en la cual, los pacientes tienen una sintomatología más leve, es decir, desarrollan poliposis

con menor número de pólipos (<100) y además se desarrollan más tardíamente (alrededor de la 4ª - 5ª década de vida), por lo que probablemente tengan menor riesgo de desarrollar CCR¹² y de hacerlo, sería en la 6ª - 7ª década de vida^{12,14}.

Como en el caso anterior, está causada por alteraciones en el gen *APC*, por lo que también pueden asociar manifestaciones extracolónicas, siendo los pólipos gástricos los más frecuentes¹⁷. Los pacientes con PAFA no desarrollan hipertrofia congénita del pigmento de la retina.

Los adenomas en estos pacientes suelen estar presentes próximos a la flexura esplénica y presentan una configuración macroscópica más plana¹⁸.

Tras el diagnóstico, debe de hacerse anualmente una colonoscopia para poder mantener el control del crecimiento de pólipos y extirpar aquellos que se encuentren^{12,16}.

c) Poliposis asociada a *MutYH* (PAM)

La poliposis asociada a *MutYH* (PAM) es un síndrome causante de un bajo número de casos de CCR (menor al 1%¹⁹) y con alta penetrancia. Su edad media de diagnóstico es a los 48 años^{12,20} y a su vez, estos pacientes suelen desarrollar CCR a una edad media de 50 años^{10,19,21-24}. Presenta una herencia autosómico recesiva¹⁰ y está causado por mutaciones bialélicas en el gen *MutYH*, que codifica para una proteína encargada de reparar el daño oxidativo¹⁹.

El diagnóstico clínico de esta entidad es difícil por sí solo, debido a la variabilidad de manifestaciones clínicas que tiene esta enfermedad. Cuando se diagnostica, la mayoría de pacientes (90%) con poliposis asociada a *MUTYH* tiene < 100 adenomas (10-100)^{10,25}, el 10% restante, tendrían más de 100 pólipos pero no asociados a mutación en *APC*^{26,27}.

Histológicamente el tumor suele localizarse en colon proximal, asocia componente mucinoso y hay un aumento de linfocitos que infiltran el tumor¹⁰. Otras de las manifestaciones clínicas que pueden asociarse a este síndrome son: tumores gástricos, duodenales, de ovario, de vejiga, mama, endometrio, piel y glándula tiroides. Además, aumenta el número de pólipos duodenales, de glándula fúndica y de quistes

mandibulares y los pacientes pueden desarrollar hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina^{26,28-31}.

En un 64% de los pacientes con CCR asociado a poliposis MUTYH, es posible identificar también la mutación somática Gly12Cys de *KRAS*¹⁰. Es por este motivo que se recomienda el análisis de *KRAS* en el tejido tumoral de pacientes con CCR asociado a este síndrome dado que, como veremos posteriormente, las alteraciones en *KRAS* pueden determinar el tratamiento³²⁻³⁴.

Su diagnóstico clínico suele realizarse por colonoscopia. El tratamiento sería el mismo que el de la PAFA, control endoscópico y resección de todos los pólipos que aparezcan^{12,16}.

Por tanto, como hemos visto, la PAM y la PAF/A comparten múltiples características clínicas, sin embargo, se diferencian en el gen causante de la enfermedad y el tipo de herencia mendeliana²⁷, como podemos observar en la Tabla 1.

Tabla 1: Diagnóstico diferencial entre PAF, PAFA y PAM. AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesiva.

| | PAF | PAFA | PAM |
|---|------------|------------|--------------|
| Pólipos | >100 | <100 | < o > de 100 |
| Hipertrofia congénita del epitelio de retina | Sí | No | Sí |
| Gen implicado | <i>APC</i> | <i>APC</i> | <i>MutYH</i> |
| Tipo de Herencia | AD | AD | AR |

2.1.1.2. Síndromes hereditarios hamartomatosos

a) Síndrome de Peutz Jeghers

Se trata de un síndrome raro, con herencia autosómica dominante y alta penetrancia, caracterizado por la presencia de poliposis hamartomatosa a lo largo de todo el tracto gastro-intestinal. Su incidencia se estima en 1/35.000-1/300.000³⁵, y como en los anteriores síndromes, la presencia de mutación aumenta la predisposición de padecer CCR en un 39%, seguido de un aumento del 32-54% de cáncer de mama en las mujeres portadoras³⁵. Este síndrome, además se relaciona con un riesgo incrementado a tumores pancreáticos, gástricos, uterinos, de cérvix, pulmón, ovario y testículos^{12,35}.

La mutación puede encontrarse en un gen localizado en el cromosoma 19 y que se conoce con dos nombres (*LKB1* y *STK11*), cuya función es actuar como supresor de tumores^{12,36}.

Las dos manifestaciones clásicas de este síndrome son pigmentación cutánea en el 95% de los casos y los mencionados pólipos gastro-intestinales de tipo hamartomatoso⁹. Las lesiones cutáneas, suelen aparecer antes de los 5 años de edad, siendo las lesiones de la mucosa oral las primeras en presentarse (durante el primer año). Se distribuyen por labios, región perioral y perianal, mucosa oral y nasal, palmas y plantas³⁵. No suelen asociar transformación maligna.

Respecto a los pólipos hamartomatosos, suelen desarrollarse durante la primera década de vida, teniendo un bajo riesgo de malignidad. Suelen aparecer en el tracto gastro-intestinal, sobre todo en el yeyuno³⁵. La edad media de diagnóstico es a los 23 años y frecuentemente ocurre cuando un pólipo gastrointestinal produce obstrucción o invaginación del tubo digestivo (hasta en un 69% de pacientes)³⁵. Los pólipos también pueden ocasionar sangrado, produciendo anemias que no responden al tratamiento.

Los criterios diagnósticos están establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y se basan en la presencia de, al menos, dos de los tres ítems³⁵:

- Historia familiar
- Múltiples máculas pigmentadas en las zonas descritas anteriormente
- Pólipos intestinales hamartomatosos

Al no existir un tratamiento para esta patología, se recomienda vigilancia endoscópica y pruebas de imagen de manera periódica^{12,35}.

b) Síndrome PTEN

Los síndromes asociados a PTEN están causados por alteraciones en el gen *PTEN* que se localiza en el cromosoma 10q23. *PTEN* es un gen supresor tumoral que tiene como función inhibir la vía mTOR y la MAPK³⁷. Los síndromes causados por estas alteraciones presentan herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta (80%)³⁷.

Se conocen hasta cuatro síndromes clínicamente distintos³⁸:

- Síndrome de Cowden
- Síndrome de Bannayan-Rilley-Ruvalcaba
- Síndrome de Proteus
- Síndrome Proteus like

La malignización únicamente ha sido demostrada en el síndrome de Cowden³⁸. Este síndrome es más frecuente en mujeres adultas, mientras que el síndrome Bannayan-Riley-Ruvalcaba es más frecuente en niños varones¹².

La prevalencia para el síndrome de Cowden, se estima que es 1/200.000-250.000 casos^{39,40}. Sin embargo, debido a que muchas de sus manifestaciones son comunes en la población general, se cree que puede estar infradiagnosticado³⁸.

Las manifestaciones cutáneas son la manifestación clínica más frecuente, incluyendo triquilemomas, pápulas papilomatosas y queratosis acro-plantar⁴¹. Estas manifestaciones cutáneas se relacionan con la edad, estando presentes en el 99% de los individuos que alcanzan la tercera década de vida³⁸. El segundo hallazgo clínico observado con mayor frecuencia es la patología de tiroides, que afecta al 66-75% de los pacientes. Esta patología puede ser benigna o maligna (aumento de prevalencia del 10% de carcinomas papilares y foliculares)⁴².

Además, el síndrome de Cowden asocia con menor frecuencia enfermedad de Lhermitte-Duclos, macrocefalia, dolicocefalia, pólipos gastrointestinales hamartomatosos y acantosis glicogénica^{37,38,40}. Muestra un aumento del 13% de riesgo de desarrollar CCR comparado con la población general⁹.

Otro ítem destacable es que los individuos afectados, desarrollan neoplasias multifocales y bilaterales en órganos pares (mamas) tanto en hombres como mujeres^{38,43}. Hay estudios que indican que las mujeres tienen un aumento entre 25-50% de desarrollar cáncer de mama a lo largo de su vida^{38,44,45}.

El síndrome de Bannayan-Rilley-Ruvalcaba cursa con clínica de manera muy precoz, por ello tiende a ser diagnosticado en la edad temprana. Clínicamente se puede observar macrocefalia, lipomatosis, hemangiomas, pólipos intestinales hamartomatosos, máculas pigmentadas en el pene, alto peso al nacimiento, miopatía

de músculo proximal, laxitud articular, pectus excavatum, escoliosis y discapacidad intelectual^{38,46}.

Por su parte, el síndrome de Proteus es una enfermedad hamartomatosa muy variable, compleja y muy rara, con tan solo 120 casos descritos en el mundo^{38,47}. Se caracteriza por un crecimiento rápido y progresivo de varios tejidos, dando lugar a hamartomas, nevus de tejido conectivo y epidérmicos e hiperostosis. Hay algunos tipos de tumores muy raros como el cistoadenoma de ovario, tumores testiculares, tumores del sistema nervioso central y adenomas monomórficos de parótida que, cuando están presentes, nos pueden ayudar a realizar este diagnóstico³⁸.

Es de suma relevancia realizar a estos pacientes una mamografía anual y resonancia a partir de los 30 años, ecografía anual de tiroides, biopsias endometriales periódicas, colonoscopias cada 5 años y revisiones dermatológicas periódicas. Debido a que el riesgo de desarrollar tumores de mama se acerca al de portadores BRCA, la mastectomía profiláctica es una opción, al igual que la histerectomía por el alto riesgo de cáncer de endometrio¹².

c) Síndrome de poliposis juvenil

El síndrome de poliposis juvenil es una enfermedad de herencia autosómico dominante causada por mutaciones en línea germinal en *SMAD4* y *BMPRI1A*^{12,48}. Es rara, con una incidencia de 1/100.000-1/160.000⁴⁹, siendo la edad media del diagnóstico de 9 años.

Se caracteriza por la presencia de pólipos hamartomatosos juveniles en el tracto gastrointestinal. Estos pólipos, a diferencia de otros hamartomas, carecen de músculo liso y son la lesión colorrectal más común en niños, no teniendo significado patológico cuando se encuentran de forma aislada^{12,16}.

Los pacientes con este síndrome, tienen un 20% más de riesgo de desarrollar tumores gástricos y un 39% de riesgo de desarrollar CCR^{9,50-52}. La afectación del colon ocurre siempre, mientras que el estómago y el intestino delgado pueden estar afectados en un 50% de los pacientes¹².

Los criterios diagnósticos son^{9,53}:

- Presencia de más de 5 pólipos juveniles en el colon y/o recto.
- Presencia de cualquier número de pólipos juveniles en el tracto digestivo incluyendo el estómago.
- La presencia de cualquier número de pólipos juveniles junto con historia familiar de síndrome de poliposis juvenil.

Para poder hacer el diagnóstico de la enfermedad, se precisa que al menos uno de los criterios mencionados se cumpla⁵⁰.

Se han descrito múltiples anomalías congénitas asociadas a este síndrome en un 10-20% de los casos: defectos cardiacos, macrocefalia, labio leporino, malformaciones genitourinarias, telangiectasias y malformaciones gastrointestinales y pulmonares^{12,51}.

Clínicamente cursa principalmente con sangrado y prolapso rectal, aunque también puede aparecer anemia, dolor abdominal, invaginaciones intestinales, diarrea, y espontánea eliminación anal de los pólipos^{9,54}.

En los pacientes con mutaciones en *SMAD4* es más probable que se desarrollen pólipos gástricos y telangiectasias hemorrágicas hereditarias^{12,51}.

La edad media de aparición de CCR es a los 44 años^{12,52}, por ello es muy importante hacer colonoscopias y gastroscopias cada 1-3 años empezando a los 12 años en familiares de primer grado portadores de alteración genética y una vez identificados los pólipos, pasar a controles anuales^{12,55}.

2.1.2. Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico

El CCRHNP (también llamado Síndrome de Lynch) presenta un patrón de herencia autosómico dominante, y está causado por mutaciones en línea germinal o epimutaciones en las regiones del Ácido desoxirribonucleico (ADN) codificante de las proteínas reparadoras (MMR) *MLH1* (hasta 90%), *MSH2* (hasta 90%), *MSH6* (10%) y *PMS2* (muy rara)⁵⁶. Tiene una incidencia del 2-4% sobre el total de los casos de CCR y una alta penetrancia⁵⁶. Es el CCR hereditario más frecuente⁹.

Las MMR se comportan como supresores tumorales. El cáncer aparece cuando tras presentar en línea germinal una alteración en estos genes (incluyendo mutaciones

puntuales, deleciones o metilación de las islas CpG) se inactiva somáticamente el alelo nativo en la célula diana, por ejemplo la célula del epitelio colónico^{10,57-60}. La completa inactivación del gen MMR en el tumor causa una reducción de la función de las proteínas MMR, perdiendo el control de la regulación del ciclo celular^{61,62}.

Suele debutar a los 44 años de media, presentando adenomas de forma muy localizada, que suelen ser planos y encontrarse en colon derecho⁹. A menudo cursan con múltiples tumores sincrónicos y metacrónicos en endometrio (en mujeres jóvenes)⁶³, estómago, ovario, páncreas, uréter, pelvis renal, glioblastomas cerebrales, tracto biliar, tumores de intestino delgado, carcinomas sebáceos y queratoacantoma⁹. Su diagnóstico clínico requiere que la PAF sea descartada.

A nivel histológico, los tumores con inestabilidad de microsatélites se caracterizan por ser^{10,64}:

- tumores mucinosos pobremente diferenciados
- presentar características de anillo de sello o de patrón medular
- presentar un exceso de linfocitos infiltrando el tumor (TILs)
- tener un curso de crecimiento rápido

A nivel inmunohistoquímico, se caracteriza por ausencia de tinción nuclear en alguna de las proteínas reparadoras (MLH1 y/o PMS2, MSH2 y/o MSH6).

El diagnóstico clínico es un reto debido a la ausencia de signos clínicos patognomónicos, por lo que un estudio genético es imprescindible para establecer un diagnóstico de certeza. Para seleccionar qué pacientes serían candidatos al estudio genético, se deben de seguir los criterios de Bethesda y Ámsterdam, que se basan en antecedentes familiares y edades de diagnóstico^{9,65}, establecidos inicialmente en el año 1991 en Ámsterdam⁶⁶ y modificados en los Acuerdos de Bethesda, que se discutieron en el año 2004⁶⁷. Su manejo es una exhaustiva revisión ginecológica y digestiva.

2.1.2.1. Síndrome de Muir Torre

El síndrome de Muir-Torre presenta herencia autosómico dominante, y se considera una variante fenotípica del CCRHNP. También está causado por mutaciones en los genes codificantes de las proteínas reparadoras⁶⁸. Su incidencia es de 1/5.000.000 según el Globocan 2018^{9,69}.

Las características de este síndrome son la aparición de lesiones sebáceas en la piel y de neoplasias viscerales, siendo el CCR la más frecuente⁹, pudiendo estar o no presentes en el mismo paciente, pero sí en la familia.

Los pacientes que tienen este síndrome, se deben realizar revisiones cutáneas y digestivas anuales. La colonoscopia se debe iniciar a los 18 años mientras que la gastroscopia a los 25. Además está indicado que los hombres se hagan revisiones de testículo y próstata anuales y que las mujeres se realicen mamografías y ecografías transvaginales⁶⁸.

2.1.2.2. Síndrome de Turcot

El síndrome de Turcot es una entidad muy rara con un patrón de herencia que puede ser autosómico dominante, recesivo o esporádico⁷⁰. Se caracteriza por la asociación de tumores cerebrales y CCR. Existen dos variantes:

- Tipo 1: 20-25% de los casos, relacionado con defectos en proteínas reparadoras (MMR)^{9,71}. En este tipo, los pólipos intestinales son más grandes, pero en menor número y pueden malignizar. Los tumores cerebrales suelen ser glioblastoma o astrocitoma⁷².
- Tipo 2: 75-80% de los casos, causados por mutaciones en el gen *APC*^{9,73}. En este tipo hay predisposición a desarrollar meduloblastoma⁷².

En la Tabla 2 se resumen las principales características de los síndromes tanto familiares como esporádicos causantes de CCR.

Introducción

Tabla 2: Tabla comparativa con los síndromes más frecuentes asociados a CCR. AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesiva.

| SÍNDROME | HERENCIA | GEN | EDAD MEDIA AL DIAGNÓSTICO | RIESGO a CCR | INCIDENCIA | LESIÓN HISTOLÓGICA |
|-------------------------------|----------|-------------------------------|---------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------------|
| Síndrome de Lynch | AD | <i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2</i> | 45 | 50-80% | 1/370-1/2.000 ⁷⁴ | adenomas |
| PAF | AD | <i>APC</i> | 40 | 100% | 1/13.000-1/18.000 ^{12,14} | adenomas |
| PAM | AR | <i>MUTYH</i> | 48 | 43-100% | 1/10.000-1/40.000 ⁷⁵ | adenomas |
| Síndrome de Peutz Jeghers | AD | <i>STK11</i> | 44 | 39% | 1/35.000-1/300.000 ³⁵ | hamartoma |
| Síndrome de poliposis juvenil | AD | <i>SMAD4 /BMPR 1A</i> | 35 | 39-68% / 21% | 1/15.000-1/100.000 ⁴⁹ | hamartoma |
| Síndrome de Cowden | AD | <i>PTEN</i> | 45 | 9-16% | 1/200.000-1/250.000 ^{39, 40} | hamartoma |
| CCR Esporádico | - | -- | 67 | 4.3% | ≈1/2.500 ⁷⁶ | adenomas |

2.2. Factores Ambientales

2.2.1. Modificables

2.2.1.1. Alimentación

La dieta es uno de los factores que más puede influir en el aumento de riesgo de desarrollar un CCR⁷⁷.

a) Carne, Grasa y Pescado

La carne roja tiene valores muy elevados de hierro hemo, que no solamente daña el ADN, sino que también incrementa la presencia de carcinógenos llamados N-nitrosos⁷⁸. Asimismo, la carne cocinada a altas temperaturas conlleva la formación de hidrocarburos policíclicos aromáticos que también son cancerígenos^{78,79}.

Las dietas ricas en grasas saturadas y colesterol, también se han asociado a un aumento del riesgo de desarrollar CCR debido a que se produce un aumento de secreción de ácidos biliares⁷⁸. Estos generan una mayor cantidad de especies reactivas de nitrógeno y de oxígeno que a su vez, producen daño en el ADN, aumento de mutaciones a nivel celular y disminución del mecanismo de apoptosis celular, aumentando así aún más el riesgo de mutaciones^{80,81}.

Por el contrario, el pescado reduce el riesgo de carcinogénesis debido a la presencia de ácidos grasos omega 3, que son capaces de reducir la proliferación de las células epiteliales presentes en la mucosa colónica y tienen propiedades anti-inflamatorias^{77,82}. Además, el pescado contiene vitamina D y selenio que son dos sustancias con propiedades anti-cancerígenas^{77,83}.

b) Fibra

Un estudio afirma que los pacientes con dietas altas en fibra (más de 20g/día), sobre todo compuestas por cereales, desarrollan CCR con menor frecuencia⁸⁴. Además, también reduce la mortalidad en aquellos pacientes que habiendo sido diagnosticados de un CCR, aumentan la fibra en su dieta⁸⁴. Por último, hay datos que indican que por cada 10 gramos de incremento de fibra, se disminuye un 10% el riesgo de desarrollar CCR⁸⁴.

c) Frutas y Verduras

El consumo de frutas y verduras también se considera beneficioso e importante para prevenir el cáncer, debido a que contienen un alto contenido en fibra, vitaminas, minerales y antioxidantes⁸⁵ que reducen el riesgo de desarrollo de un CCR.

d) Calcio y Vitamina D

El calcio promueve la apoptosis de células colónicas⁸⁶, teniendo un efecto protector para el desarrollo de CCR. La vitamina D, tiene una doble función antineoplásica: por un lado tiene sus propios mecanismos antineoplásicos y por otro facilita la absorción del calcio⁸⁷.

e) Azúcares y Carbohidratos Refinados

Existen estudios sobre el efecto del consumo de azúcar⁸⁵ y de carbohidratos refinados⁸⁸ y el riesgo de desarrollar CCR. Según estos, las dietas con un contenido elevado de carbohidratos y azúcares producen un exceso de insulina, que se relaciona con un aumento del tejido adiposo, conduciendo a la obesidad. Ésta a su vez, se asocia a un aumento de riesgo de padecer un CCR (como se detalla posteriormente). Además, la insulina es un factor de crecimiento que actúa sobre las células epiteliales presentes en el colon incrementando también dicho riesgo⁸⁹.

f) Café

El consumo de café ha demostrado tener un efecto protector inversamente proporcional para el desarrollo de CCR, es decir, cuanto más se consume, menor riesgo a cáncer o mayor efecto protector⁹⁰. Esto se debe a que el café contiene componentes antimutagénicos y anticarcinogénicos^{90,91}. Además, el consumo de café induce una disminución en la secreción de ácidos biliares, que se ha visto que promueven la carcinogénesis^{90,92,93}.

Por último hay que destacar que el café se relaciona con un aumento en la motilidad colónica y esto también ha demostrado ser efecto protector en el CCR^{90,94}.

g) Estilo de vida

Diversos estudios epidemiológicos sugieren que el CCR se asocia más que ningún otro cáncer no sólo con la dieta sino también con el estilo de vida, por ello modificarlo pueden ayudar a prevenirlo⁹⁵.

h) Obesidad

La obesidad aumenta el riesgo de desarrollar CCR entre un 7-60%⁹⁶. Los mecanismos por los que se produce este aumento no están claros, pero se postula que la obesidad al producir un aumento de resistencia insulínica, puede desarrollar diabetes en el paciente, por lo que incrementaría sus concentraciones sistémicas de insulina y como ya se ha comentado previamente, la insulina es un factor de crecimiento que actúa sobre las células epiteliales presentes en el colon^{89,96}.

El aumento de adipocitos también se relaciona con el CCR debido al aumento de síntesis de ácidos grasos⁹⁶. Así por ejemplo, la producción endógena de ácidos grasos saturados de cadena corta se ha identificado como posible factor protector frente a neoplasias de colon, ya que entre sus funciones destaca inducir la apoptosis y regular la acetilación de histonas, eventos importantes en la proliferación celular^{97,98}, mientras que los de cadena media, como el láurico y mirístico, se asocian con un mayor riesgo de desarrollar CCR debido a que inducen la expresión de Ciclooxygenasa 2 (COX-2), que a su vez causa inflamación aumentando las probabilidades de desarrollar un tumor⁹⁸⁻¹⁰⁰. Por su parte, algunos ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido eicosapentaenoico, podrían disminuir el riesgo de sufrir CCR al inhibir la COX-2, aumentar la actividad apoptótica, activar la proteína C kinasa, la angiogénesis y reducir los ácidos biliares fecales^{98,101}.

i) Tabaquismo

El tabaco asocia un incremento del 13.18% el riesgo a desarrollar CCR comparado con pacientes no fumadores¹⁰², debido principalmente al número elevado de sustancias cancerígenas que presenta¹⁰². El riesgo es dosis-dependiente, es decir cuanto más se fuma, más riesgo de desarrollar un CCR, habiendo estudios que indican que las personas que cesan su consumo, en 20 años igualan su riesgo al de la población general¹⁰². Los efectos del tabaco en CCR son más evidentes en varones y alcohólicos¹⁰².

Los CCR en pacientes fumadores se desarrollan con mayor frecuencia en el recto¹⁰². Hay diversas hipótesis para estos hallazgos¹⁰²: la nicotina aumenta la movilidad colónica pero no la rectal y/o los carcinógenos del tabaco se concentran más en el recto.

Además el tabaco aumenta un 14% la mortalidad si el paciente es fumador cuando se le realiza el diagnóstico de CCR¹⁰³.

j) Alcohol

El alcohol ha mostrado ser factor de riesgo para el desarrollo de CCR. Cada 10g alcohol/día aumenta el riesgo de CCR en un 7%¹⁰⁴. El tipo de alcohol consumido es relevante, un estudio mostró que aquellas personas que consumían cerveza y licores tenían mayor riesgo de CCR que las que consumían vino¹⁰⁵. Los CCR causados por ingesta de alcohol suelen aparecer en colon izquierdo y recto¹⁰⁵.

k) Actividad física

El ejercicio, no solo reduce un 24% la aparición de un CCR¹⁰⁶, sino que además, una vez diagnosticado y tratado, reduce el riesgo de recurrencia en un 28% si el paciente realiza 150 minutos de ejercicio a la semana. Además mejora el tiempo de recuperación^{95,107}.

Por su parte, la realización de la misma cantidad de ejercicio (150 minutos/semana) pre-diagnóstico, se relaciona con una disminución de mortalidad del 14%¹⁰⁷.

2.2.1.2. Medicamentos

a) Anticonceptivos orales

En aquellas mujeres usuarias de anticonceptivos orales, con antecedentes familiares de CCR, se ha observado una potencial reducción de riesgo de sufrir CCR y en aquellas mujeres que consumían dos bebidas alcohólicas diarias, se produce una disminución del riesgo de sufrir CCR comparado con la media general. Este último supuesto resulta paradójico ya que el alcohol por sí solo aumenta el riesgo de desarrollar CCR, sin embargo se ha descrito que esto puede ser debido a la interacción del alcohol y los anticonceptivos con los niveles de folatos y a su implicación con el proceso de la carcinogénesis¹⁰⁸.

b) Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Dado el conocido y mencionado papel de los procesos inflamatorios en el desarrollo de las neoplasias¹⁰⁹, comenzó a investigarse el efecto que los fármacos antiinflamatorios en este proceso^{110,111}.

Así, múltiples estudios, recogidos por Gu *et al.*, aseguran que la aspirina puede disminuir la incidencia y la mortalidad del CCR en la población general¹¹¹. El mecanismo por el cual los AINES reducirían el riesgo a CCR es que, como se ha mencionado en el apartado de ácidos grasos, éstos también inhiben COX-2¹¹¹⁻¹¹³.

2.2.2. Factores no modificables

2.2.2.1. Enfermedad Inflamatoria Intestinal

Los pacientes con larga historia de enfermedad inflamatoria intestinal, debido al continuo daño que sufre la mucosa, tienen un riesgo superior a la población general de desarrollar CCR¹¹⁴. Sin embargo, gracias al correcto tratamiento que reciben estos pacientes y a los programas de cribado, el número de tumores causados por esta patología está disminuyendo¹¹⁴⁻¹¹⁹.

2.2.2.2. Envejecimiento

El principal factor de riesgo para el CCR es la edad, ya que el 90% de los casos son pacientes mayores de 50 años. Por este motivo, los pacientes sin antecedentes personales o familiares de riesgo comienzan el cribado de sangre oculta en heces a partir de esta edad⁵.

La población vasca, ha pasado de tener un 10% de habitantes por encima de 65 años en el 1986 a tener un 18,6% en el año 2010, es por ello, que este ítem cobra especial importancia¹²⁰⁻¹²².

2.2.2.3. Desarrollo de CCR previo

Un estudio realizado por Andreoni *et al.*¹²³, determinó que los factores que aumentaban el riesgo de recaída eran el tamaño tumoral y el número de ganglios afectados. Por tanto, concluyeron que lo más importante para evitar una recaída es conseguir que tras la cirugía no quede tumor residual en el paciente, estado conocido como R0, ya que un 82% de pacientes R0 frente a un 35% de pacientes R1 (aquellos en los que quirúrgicamente había sido imposible resear la totalidad del tumor) permanecían vivos sin recaída¹²³.

Además en dicho estudio, se observó que, si bien un mayor porcentaje de tumores de recto sufrían recaída (14% frente a 6% en colon), la supervivencia global entre los dos grupos no cambiaba^{123,124}.

3. Patogenia del cáncer colorrectal

A modo de resumen, podríamos decir que la mayoría de los CCR son, como se ha mencionado previamente, de origen esporádico (en el 70% de los casos), mientras que el 20-30% asocian un componente familiar y el 3-5% se debe a la presencia de alteraciones germinales⁸. Entre las formas esporádicas, la mayoría de los tumores (70-85%) presentan inestabilidad cromosómica (INC), un 10-15% presentan alteraciones en la metilación de promotores y un 5% inestabilidad de microsatélites (IMS)¹²⁵.

3.1. Secuencia Adenoma-Carcinoma

El desarrollo de cáncer colorrectal precisa que una célula acumule múltiples alteraciones genéticas y posteriormente genere clones donde cada nueva célula tendrá una ventaja en el crecimiento. Esta ventaja podría concederle una tasa de proliferación superior, una disminución en las tasas de apoptosis, o ambas al mismo tiempo¹²⁶. La mayoría de los CCR necesitan de 6 a 10 eventos clonales para alcanzar el fenotipo de malignidad de un cáncer, el cual también requiere de la adquisición de características metastáticas¹²⁶.

Vogelstein *et al.* describieron por primera vez en 1988 el mecanismo molecular mediante el cual un adenoma benigno se transforma en un carcinoma maligno¹²⁷. Dos años después, en 1990, Fearon y Vogelstein propusieron un modelo genético de la carcinogénesis de CCR que ha servido como paradigma de la progresión tumoral¹²⁸ (Figura 2). Este modelo se mantiene en la actualidad.

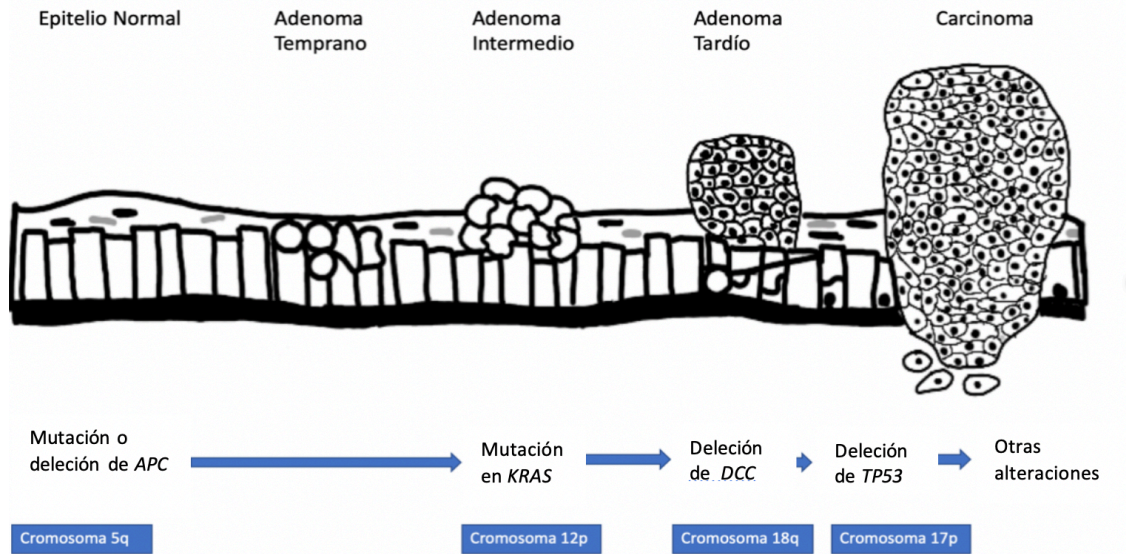


Figura 2: Alteraciones moleculares requerida para la carcinogénesis del CCR mediante la vía de inestabilidad cromosómica, según el modelo de Fearon y Vogelstein^{128,129}. Imagen adaptada de Grady¹²⁹.

Debemos tener en cuenta que las células están bajo un riguroso escrutinio que asegura la integridad del genoma. Durante la proliferación celular, el ciclo celular posee unos puntos de control, que permiten a determinados mecanismos celulares revisar como se está llevando a cabo la replicación celular y detenerla si identificase alguna anomalía. La entrada en el proceso apoptótico celular será inducida para prevenir la diseminación del error, si los daños producidos en una célula fuesen elevados. De este modo, se intenta prevenir la aparición de mutaciones que pudiesen desencadenar neoplasias¹³⁰. Pero cuando se producen defectos o mutaciones *de novo* en los genes de control celular y en los implicados en la replicación celular, se favorece la progresión a carcinoma, como se puede ver en la Figura 2. Así, la inestabilidad genómica es crítica en el desarrollo de la neoplasia. Si no se diera el fenómeno de inestabilidad genómica el incremento de mutaciones a lo largo de la vida de una persona no sería suficiente para llegar a desarrollar lesiones cancerosas¹³¹.

Histológicamente, la secuencia adenoma - carcinoma colorrectal describe el desarrollo secuencial del cáncer¹³², comenzando con aberraciones en las criptas focales (ACF), lesiones consideradas pre-neoplásicas y continuando con la aparición de los adenomas. Estos pueden crecer y llegar a convertirse en carcinomas¹³³. Este desarrollo desde precursores benignos hasta lesiones malignas se asocia a la acumulación de defectos genéticos, debido a la inestabilidad genómica.

Existen diversos mecanismos moleculares por los cuales se lleva a cabo esta inestabilidad, y que actualmente siguen estudiándose para intentar conocerse completamente¹³⁴. Actualmente, se distinguen tres categorías principales: el grueso de los casos (70-85%)^{125,135} presenta inestabilidad cromosómica (INC), caracterizada por la pérdida de heterocigosidad y aneuploidías en el material tumoral¹²⁶; el 20% restante, pertenece a la alteración de metilación de promotores de islotes CpG o vía serrada¹³⁶ (15%) y a inestabilidad de microsatélites (5%) (IMS). En el caso de los dos últimos, aunque en ambos pueda identificarse inestabilidad de microsatélites, su mecanismo de acción es diferente. Mientras que los hipermetiladores de islotes CpG activan o silencian la expresión de ciertos genes (*BRAF* y *MLH1* entre otros)¹³⁷, los tumores por IMS se producen por un defecto en las proteínas reparadoras a la hora de reconocer bases desapareadas en la nueva hebra de ADN durante el proceso de replicación¹³⁸.

Los microsatélites, también conocidos como STR (*Short Tandem Repeats*), son pequeñas secuencias de ADN en las que se repite de forma consecutiva un fragmento de ADN cuyo tamaño oscila entre dos y seis pares de bases. Aproximadamente un 3% del genoma humano está formado por microsatélites. Debido a su estructura repetitiva, están predispuestos a un alto índice de variaciones de tamaño. La IMS ocurre cuando, en el tejido tumoral, aparecen un número de repeticiones de nucleótidos que no coinciden con su homónimo en tejido no tumoral¹³⁹.

Hay que tener en cuenta que las vías por las que un tumor puede proliferar, ya sea asociada a INC o a IMS son excluyentes. Esto nos hace pensar que cualquiera de las dos formas es capaz, por ella misma, de permitir el desarrollo de un CCR y que la presencia de una inestabilidad genómica es mandatoria para que se genere una neoplasia¹³⁸.

3.2. Vía de inestabilidad Cromosómica (INC)

Como se ha comentado, el 70-85% de los CCR se desarrollan mediante la vía de inestabilidad cromosómica y, además, está relacionada con un peor pronóstico¹⁴⁰.

Se caracteriza por cambios en el número de los cromosomas (aneuploidías) o anomalías estructurales, pérdida de heterocigosidad (LOH, *loss of heterozygosity*) y

mutaciones en genes supresores de tumores y protooncogenes¹³⁵. Estas alteraciones son causadas por defectos en los mecanismos de control del ciclo celular.

El desarrollo de un proceso neoplásico en intestino grueso por la vía de INC, según el modelo propuesto por Fearon y Vogelstein¹²⁸ (Figura 2), comienza con la mutación en el gen *APC*, conllevando la aparición de un adenoma benigno en el epitelio del intestino grueso. Tras este primer evento, ocurrirá una mutación en el gen *KRAS* que producirá un incremento en la tasa de proliferación, contribuyendo a la formación de un adenoma avanzado^{135,141,142}. La transformación maligna subsecuente es dirigida por más mutaciones en el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), *PIK3CA* (mutada en 15-25% de CCR¹⁴³ y *TP53*¹⁴⁴⁻¹⁴⁸).

Asimismo, para que un tumor adquiriera la habilidad de metastatizar, se requieren cambios adicionales¹⁴². Se ha calculado que hay hasta 80 genes mutados en cada tumor colorrectal, sin embargo hay un pequeño grupo de mutaciones (inferior a 15) que son las verdaderamente responsables de llevar a cabo esta génesis tumoral^{149,150}.

3.2.1. Gen *APC*

El gen *APC*, localizado en el cromosoma 5q21, contiene 21 exones y múltiples dominios funcionales^{151,152}. Este gen codifica la proteína APC que actúa como supresor tumoral, participando en la regulación de la vía de señalización Wnt, la adhesión intercelular, el ciclo celular y la apoptosis^{151,152}.

La pérdida de la función normal de APC se asocia con una serie de fallos en la mitosis, contribuyendo a la INC. Durante la metafase del ciclo celular, se organizan las cromátidas hermanas para que puedan ser correctamente distribuidas a las células hijas. Existen una serie de complejos proteicos que participan en este proceso, por ejemplo, el cinetocoro. La proteína APC se relaciona con el cinetocoro, supervisando la correcta disposición de los cromosomas en la placa ecuatorial para su correcta segregación. Si la proteína APC está alterada, no es capaz de detectar anomalías en los cromosomas durante esta fase de alineamiento de la metafase, y el proceso mitótico continuará, permitiendo incluso una anómala distribución de cromosomas, pudiendo así generar una INC¹⁵³.

Las mutaciones somáticas en *APC* se observan en un 5% de criptas aberrantes displásicas, en un 30-70% de adenomas esporádicos y hasta en 72% de tumores esporádicos¹⁴⁸. Esto nos indica que la pérdida funcional de *APC* es un evento muy precoz en el proceso de carcinogénesis^{148,154-156}. Además, la hipermetilación del promotor de *APC* representa un mecanismo alternativo para la inactivación de este gen, habiéndose descrito en un 18% de los adenomas y CCR primarios¹⁵⁷.

3.2.2. *KRAS*

La familia de proteínas RAS son un grupo de proteínas que se unen a GTP en su forma activa^{143,158,159}. Entre ellas se encuentran *KRAS*, *NRAS* y *HRAS*^{158,160}, siendo *KRAS* y *NRAS* las que se encuentran mutadas en cáncer de colon en un 40 y 5% de los casos, respectivamente¹⁴³.

La vía de señalización RAS, mostrada en la Figura 3, es una vía de señalización celular regulada, cuyo fin es controlar diferentes funciones entre las que se encuentran el crecimiento y la supervivencia celular¹⁵⁸. Su mecanismo de funcionamiento consiste en un ligando que se une a un receptor tirosin kinasa, como en el caso de la figura 3, en la que se observa la unión de factor de crecimiento epidérmico (EGF) a su ligando. Cuando se produce dicha unión, se desencadenan una serie de procesos, en los que SOS desplaza una molécula de guanósín difosfato (GDP) de la superficie de RAS, permitiendo que las moléculas de GTP se unan a este receptor y se produzca la activación^{143,158}. Esta molécula de RAS activa, actúa sobre la cascada RAF-MEK-ERK, activando factores de transcripción y transcribiendo genes implicados en la proliferación celular. Asimismo, actúa sobre la vía PI3K, que se encarga de inactivar proteínas pro apoptóticas suprimiendo la apoptosis celular¹⁶¹. En condiciones normales, la proliferación celular está controlado por proteínas GTPasas que se encargan de hidrolizar GTP a GDP cuando es necesario¹⁴³.

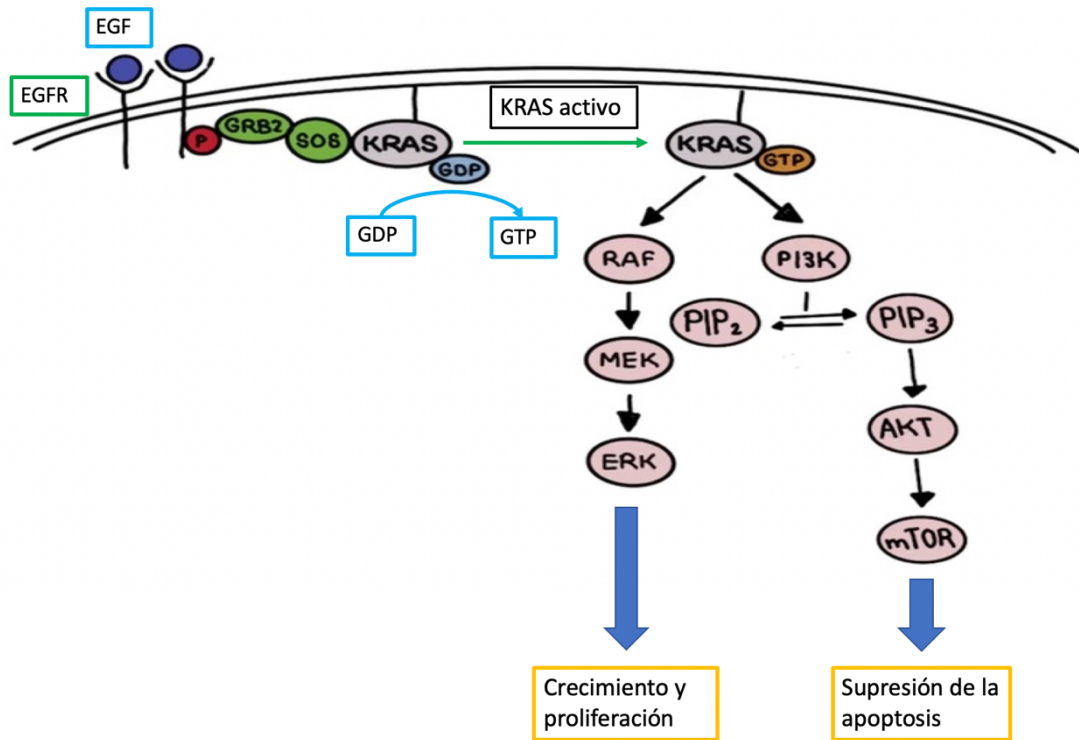


Figura 3: Vía de señalización RAS-RAF^{158,162}

Cuando ocurren mutaciones en la proteína RAS, se producen cambios conformacionales que impiden que la proteína GTPasa pueda hidrolizar GTP a GDP y, por tanto, la vía de proliferación estaría continuamente funcionando, promoviendo el crecimiento y proliferación celular e inhibiendo la apoptosis. La vía PI3K, es muy compleja, pero se puede resumir con que se activa tras la unión de RAS a la subunidad p110. Esta vía se inactiva cuando el gen supresor de tumores PTEN produce la defosforilación de PIP₃-PIP₂.

Las mutaciones en *KRAS*, no suelen darse en adenomas precoces, mientras sí se encuentran en un 60-95% de pólipos sin displasia y pólipos hiperplásicos. Esto indica que esta mutación por sí sola no es precursora de adenomas y cáncer o que la ventaja en el crecimiento que proporciona no es suficiente para que se produzca carcinogénesis^{148,163,164}. Por otra parte, destacar que esta mutaciones en este gen se encuentra presente en un 30-50% de CCR y en adenomas avanzados en un porcentaje similar^{148,165}.

Analizar el gen *KRAS*, tiene importancia de cara al tratamiento que recibe el paciente, ya que sus mutaciones predisponen a resistencias en los fármacos que se unen al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que suelen emplearse en primera línea. Por ello en aquellos casos que el paciente muestre *KRAS* nativo, podrá recibir terapias novedosas que actúan sobre el receptor EGFR, como cetuximab o panitumumab^{158,166,167}.

3.2.3. P53

El gen *TP53* se considera el gen que con mayor frecuencia se encuentra mutado en los cánceres humanos, hasta en un 50% de los casos^{168,169}. Se localiza en el cromosoma 17p y está formado por 11 exones y 10 intrones¹⁷⁰. En su forma “*wild type*” o nativa contiene 393 aminoácidos y diversos dominios funcionales. Actúa induciendo la expresión de genes que ralentizan el ciclo celular, disminuyendo así la velocidad de este proceso, para dar tiempo a que se reparen los errores introducidos durante la replicación. En situaciones en las que el daño es demasiado grande para ser reparado, p53 induce la expresión de genes pro-apoptóticos. Así pues, está considerado como un supresor tumoral y coordinador central de la respuesta celular al estrés, regulando un gran número de genes que actúan como reguladores en múltiples procesos de señalización¹⁷¹, entre ellos se incluyen daño al ADN, señales de proliferación aberrante y estrés oxidativo¹⁴⁸. P53 se encuentra mutada en un 4-26% de adenomas, 50% de adenomas con focos de invasión y en el 50-75% de CCR^{171,172}, definiendo su rol en la transición de un adenoma a un CCR¹⁷³.

Como ya hemos comentado previamente, la mutación de p53 suele ser un suceso tardío en la vía tradicional y, por ello, causa el avance de una lesión pre-invasiva a invasiva, relacionándose estrechamente con la progresión y el desenlace hacia un CCR esporádico. Desde que en el año 1989, Vogelstein *et al*¹⁴⁴ determinasen que las mutaciones en p53 podrían estar relacionadas con la transición de un adenoma a un carcinoma colorrectal, estando por ello implicadas en el principio de la tumor génesis, se han realizado múltiples estudios para intentar extraer conclusiones que pudiesen servir para entender mejor el manejo, pronóstico y tratamiento de estos pacientes. Desde entonces y hasta el año 2012 no se había conseguido alcanzar un consenso entre los diferentes grupos: mientras que unos afirmaron que las mutaciones en p53 y la

pérdida de heterocigosidad en 17p, se relacionaban con un peor pronóstico¹⁷⁴⁻¹⁷⁷, otros lo relacionaban con un buen pronóstico¹⁷⁸⁻¹⁸¹ o indicaban que la mutación en p53 no tenía implicación pronóstica¹⁸²⁻¹⁸⁵. Sin embargo, desde entonces y hasta la actualidad, existe una corriente mayoritaria que afirma que las mutaciones en p53 se relacionan con un peor pronóstico que aquellos tumores con p53 nativa^{171,186-192}.

Las mutaciones en la mayoría de genes supresores tumorales suelen ser deleciones o de tipo *nonsense*¹⁹³, mientras que en p53, la mayoría (en torno a 75%) de las mutaciones de *TP53* son mutaciones *missense*¹⁸⁷. Según Murnyák *et al*¹⁸⁷, estas mutaciones ocasionan la síntesis de una proteína inactiva con una vida media muy larga que puede detectarse con una positividad intensa por inmunohistoquímica en un 88% de los casos. Por su parte, las pocas variantes de pérdida de función (tipo *nonsense*) suelen asociarse con ausencia total de tinción.

Al tratar de establecer el pronóstico del paciente en función de la presencia de mutación, unos autores reportan que no hay diferencia entre las mutaciones *missense* y las *nonsense* en cuanto a supervivencia y tiempo libre de enfermedad¹⁸⁶, mientras que otros autores señalan que aquellos casos con pérdida total de tinción, es decir, mutaciones *nonsense* tendrán peores resultados de supervivencia¹⁹⁰. Lo que sin duda queda patente es que las mutaciones, ya sea por pérdida de tinción o sobreexpresión, se relacionan con peor respuesta y supervivencia en los diferentes órganos estudiados, como son colon^{194,195}, esófago^{186,190}, ovario¹⁹⁶, hígado¹⁹² y mama^{189,191}.

3.3. Vía de inestabilidad de microsatélites (IMS)

El sistema de proteínas reparadoras MMR se compone por 7 proteínas: hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3 hMSH6, hPMS1 y hPMS2¹³⁸. Entre ellas, hay que destacar hMLH1 y hMSH2, ya que son proteínas vitales para el correcto funcionamiento de las MMR¹³⁸. Éstas forman parejas específicas constituyendo así cinco heterodímeros funcionales (hMSH2/hMSH3; hMSH2/hMSH6; hMLH1/hPMS1; hMLH1/hPMS2; hMLH1/hMLH3)^{138,197}.

Mientras se replica el ADN, la ADN polimerasa puede cometer errores en secuencias repetitivas como los microsatélites¹³⁸. Ante este error es cuando las MMR actuarían, reparando estos errores. Por ello, cuando ocurre una alteración en este

sistema de reparación, se altera el número de repeticiones de las secuencias repetitivas, dando origen al fenómeno de IMS¹³⁸.

3.4. Vía de metilación de promotores (vía serrada):

La mayoría de los casos de CCR con alta inestabilidad de microsatélites (IMS-H), se producen de manera esporádica a través de la vía serrada debido a alteraciones epigenéticas y posterior silenciamiento del gen *MLH1*¹³⁶, generalmente, acompañada de mutación en *BRAF*¹⁹⁸.

Esta vía es la que más recientemente se ha descrito, responsable de hasta un 10-15%¹²⁵ de todos los CCRs esporádicos¹⁹⁹⁻²⁰². Además se cree que es la responsable de la gran mayoría de los CCRs con IMS que ocurren de forma esporádica²⁰³. Tiene unas características endoscópicas y anatomopatológicas específicas. A nivel histológico muestran epitelio serrado²⁰³; y a nivel endoscópico, suelen encontrarse en colon proximal, morfológicamente muestran una ligera elevación, su tamaño suele ser mayor de 5 mm, tienen un recubrimiento de mucina y suelen mostrar un color pálido²⁰⁴. Además, a nivel endoscópico se ha visto que cuando las lesiones muestran una morfología semi-pediculada, elevaciones irregulares, depresiones centrales y aspecto rojizo se asocia a lesión serrada con displasia/carcinoma²⁰⁴.

Su diagnóstico es muy importante debido a que su presencia se relaciona con mayor riesgo de tumores sincrónicos²⁰³ y aparición de tumores en los intervalos entre colonoscopias²⁰⁵.

Las alteraciones moleculares propias de la vía serrada han permitido identificar dos subtipos²⁰²:

- Vía serrada sésil: Suele mostrar de forma precoz una alteración en el protooncogén *BRAF* y mostrar el fenotipo *CpG Island Methylator Phenotype high (CIMP-high)*, que consiste en la progresión neoplásica debida a la metilación aberrante en los promotores de genes supresores tumorales. Presenta fenotipo de IMS-H secundaria a metilación del promotor de *MLH1*. El adenoma serrado sésil es la lesión preneoplásica central en esta vía y la localización típica de los CCR en estos pacientes suele ser el colon proximal.

- Vía serrada alternativa: Suele mostrar mutaciones en el protooncogén *KRAS*, con un fenotipo metilador más bajo (*CIMP-low*). Suele acompañar metilación del promotor de *MGMT*. La característica histológica en esta vía no está tan clara, pero se cree que es el adenoma serrado tradicional.

3.4.1. *BRAF*

La vía RAS/RAF/MEK, descrita previamente, también conocida como “*mitogen-activated protein kinase*” (MAPK) juega un papel esencial en la proliferación, diferenciación, supervivencia y apoptosis celular (Figura 3)^{143,162}.

La proteína RAF está compuesta por una familia (aRAF/bRAF/cRAF), donde BRAF es la que muta con más frecuencia y la que más potentemente activa la vía MEK^{162,206,207}. Cuando un tumor presenta mutación en *BRAF*, esto excluye la posibilidad de que tenga mutación en *KRAS* y viceversa, al tratarse de vías alternativas^{143,162}.

El protooncogén *BRAF*, se localiza en el cromosoma 7 y se compone de 18 exones. El 95% de las mutaciones ocurren como consecuencia del intercambio de una valina por ácido glutámico (*BRAF:V600E*) generando una proteína constitutivamente activa. Esta activación, muy similar a la que ocurre cuando *KRAS* se encuentra mutado, es observada hasta en un 7% de todos los tumores¹⁶², siendo más frecuente en mujeres y en tumores situados en colon derecho²⁰⁸.

Las mutaciones en *BRAF* están presentes en el 5-15% de los CCRs metastásicos, el 60% son pobremente diferenciados e histológicamente suelen ser del subtipo mucinoso²⁰⁸, además se asocian con IMS-H por su relación con el fenotipo metilador o vía serrada. Los casos con peor pronóstico, son aquellos con estabilidad de microsatélites (EMS) independientemente del estado de BRAF, seguido por IMS con BRAF mutado y por último IMS con BRAF nativo como se puede ver en la Figura 4^{162,209-212}. En el caso de tener un paciente con un tumor IMS-H, la presencia de *BRAF:V600E* descartaría la sospecha de síndrome de Lynch^{143,209}. Sin embargo, ante casos de ausencia de tinción para MLH1 y *BRAF* nativo, se debería continuar con los estudios moleculares para analizar la presencia de hipermetilación de su promotor (véase apartado de diagnóstico)^{209,213}.

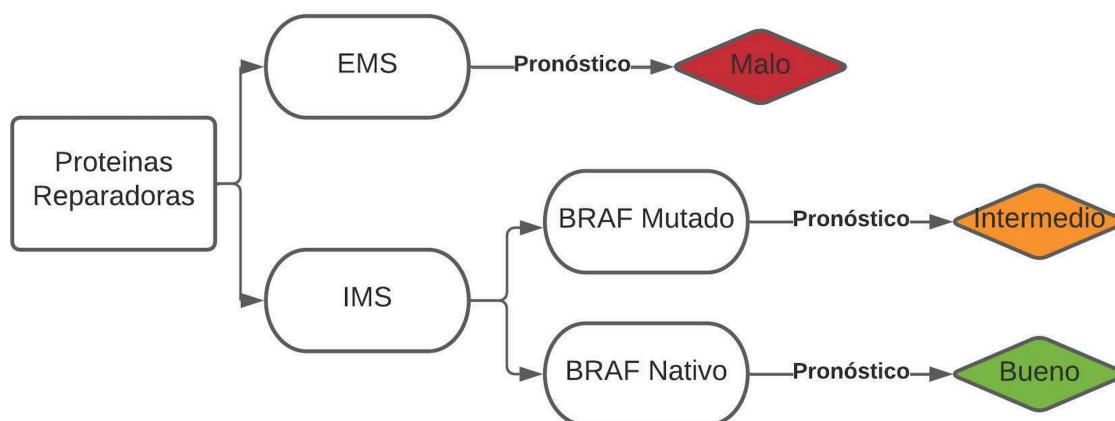


Figura 4: Relación entre el pronóstico en base a la presencia de inestabilidad de microsatélites (EMS: estable; IMS; inestable) y de mutaciones en BRAF

Las características de los carcinomas colorrectales primarios con mutación *BRAF*:V600E incluyen: localización en colon derecho, diagnóstico a edades avanzadas, predominancia del sexo femenino, aspecto mucinoso junto con histología pobremente diferenciada y metástasis peritoneales o ganglionares^{162,214–216}.

4. Diagnóstico

En este apartado, se desarrollan las causas y métodos empleados en el diagnóstico de CCR. Se describe además, la importancia que tiene y ha tenido la implantación del cribado para la población, ya que el CCR no suele manifestar una sintomatología patognomónica⁹. Se profundiza en las posibles pruebas de imagen que se realizan y la rentabilidad diagnóstica que tienen. Finalmente se incidirá en el papel de la histología para el diagnóstico y filiación del CCR.

4.1. Clínico

El CCR, en sus estadios iniciales, no suele manifestar síntomas, por lo que suele diagnosticarse cuando el paciente se realiza la prueba de cribado de sangre oculta en heces.

Únicamente un 50% de los pacientes desarrollan sintomatología⁹ y ésta suele depender de la localización del tumor. Los tumores en colon derecho cursan normalmente con sintomatología inespecífica, es decir: fatiga, pérdida de peso, anemia... mientras que los de colon izquierdo cursan con alteración en el ritmo deposicional, distensión abdominal, hematoquecia, tenesmo...^{217,218}.

4.2. Cribado

Dada la alta prevalencia de CCR^{4,218}, muchos países han desarrollado programas de cribado mediante el análisis de sangre oculta en heces (SOH). Esta prueba se realiza a partir de los 50 años idealmente una vez al año o como mínimo cada tres años según recomiendan las guías de la sociedad europea de oncología²¹⁸. Se ha descrito que su correcta realización puede disminuir un 16% el riesgo de mortalidad por CCR y un 20% de la incidencia si la prueba se realiza anualmente²¹⁹. Los pacientes que obtienen un resultado positivo se someten a la prueba endoscópica para determinar el motivo de sangrado y realizarse una biopsia si fuese necesario. Sin embargo, en aquellos pacientes que tengan antecedentes familiares de CCR, se recomienda directamente realizar colonoscopia²²⁰.

En el País Vasco, el programa de cribado en el año 2019 tuvo un 71.2% de participación (sobre una población de 624.471 personas según Eustat 2020). La tasa de positivos en la prueba de sangre oculta en heces fue de 4.6%. De ellas, un 93.3% de las colonoscopias que se realizaron fueron diagnósticas, confirmando la efectividad de esta prueba de cribado²²¹.

4.3. Técnicas y pruebas de imagen: colonoscopia, biopsia y tomografía axial computerizada

La colonoscopia consiste en introducir una lente articulada por el ano, para visualizar el intestino grueso hasta la válvula ileocecal, en busca de alguna lesión. En caso de identificar una lesión, se puede biopsiar con la pinza que lleva en el extremo distal y remitir para su análisis anatomopatológico. Como ventaja principal, destacar que puede ser un método diagnóstico y terapéutico²¹⁸.

La tomografía axial computerizada (TAC) es la prueba radiológica de elección cuando se quiere realizar un correcto estadiaje en un paciente con diagnóstico de CCR²¹⁸. Suele ser de gran ayuda de cara a programar la cirugía para conseguir un resultado óptimo, al poder identificar la infiltración tumoral fuera del aparato digestivo. Esta prueba también puede utilizarse para realizar una colonoscopia virtual, conocido como ColoTac, en aquellos pacientes en los que la colonoscopia no pueda completarse²¹⁸. Sin embargo, aunque los resultados son muy buenos, no lo son tanto

como los de la endoscopia y además no permite la toma de biopsias, por ello la colonoscopia sigue siendo el *gold standard*²²².

4.4. Diagnóstico anatomopatológico: histología, inmunohistoquímica y patología molecular

La displasia es un término que significa crecimiento desordenado y que se caracteriza por atipia citológica y arquitectural²²³. Se considera atipia citológica cuando las células con displasia presentan pleomorfismo y aumento de la ratio núcleo/citoplasma, generalmente hiper cromático. La atipia arquitectural se determina ante la pérdida de la morfología oval de las glándulas del colon sano que pasa a presentar unos contornos más afilados. Cuando la displasia (que puede ser de bajo o alto grado) atraviesa la capa muscular de la mucosa, se diagnostica como adenocarcinoma². A nivel histológico, la mayoría de tumores en colon son adenocarcinomas de tipo usual (75-80%)².

La inmunotinción de las proteínas reparadoras se ha transformado en un ítem imprescindible a la hora de diagnosticar y tratar a un paciente con CCR. Los paneles más comunes incluyen el estudio de MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, cuya tinción es nuclear y su presencia se correlaciona, generalmente, con ausencia de IMS. Cuando alguna de ellas muestra una pérdida de tinción con control interno positivo²²⁴ (los linfocitos se deberían teñir siempre) se indicará que el tumor presenta pérdida de tinción para las proteínas reparadoras específicas. Son muchos los microsatélites que podrían estudiarse debido a la alta presencia de estos en nuestro genoma. Sin embargo, en el año 1996 se acordó en Bethesda el panel que debería analizarse y que incluye dos microsatélites mononucleotídicos (*BAT25* y *BAT26*) y tres microsatélites dinucleotídicos (*D2S123*, *D5S356* y *D17S250*)^{225,226}. Dependiendo del número de microsatélites que se vean afectados, se pueden asociar diferentes grados de inestabilidad. Por ello, cuando se observa 2 o más microsatélites inestables, se dice que el tumor tiene IMS-H, es decir un alto (*high*) índice de inestabilidad. Por el contrario, cuando únicamente se encuentra inestabilidad en un marcador, se dirá que el tumor tiene un índice de inestabilidad bajo o IMS-L (*low*). Por último, cuando no haya ningún marcador afecto se afirmará que el tumor tiene estabilidad de microsatélites EMS²²⁶.

Se puede comprobar la presencia de IMS mediante técnicas de inmunohistoquímica (enfocadas en el estudio de las proteínas reparadoras) o de biología molecular. Aunque empleando la primera, se detectarían la mayoría de casos con IMS, siempre es recomendable combinar ambas técnicas si se puede financiar¹⁹⁸, además, no debemos olvidar que hay casos con IMS no causados por alteración en las proteínas reparadoras¹³⁶.

Por lo general, los tumores con IMS-H suelen presentarse en colon derecho, ser pobremente diferenciados, con mayor acumulación de mucina extracelular, tener un aumento de (TILs), mejor pronóstico y una mayor incidencia en pacientes más jóvenes²²⁷⁻²²⁹.

Si las proteínas MSH2, MSH6 o PMS2 muestran ausencia de tinción, se puede sospechar tanto la presencia de una alteración somática como una germinal, causante del síndrome de Lynch. Sin embargo, si la ausencia de tinción es de MLH1, podría indicar que la carcinogénesis se ha producido a través de la vía de metilación de promotores o vía serrada o bien por la vía de proteínas reparadoras y tratarse de un síndrome de Lynch. Para resolver este origen, Adar *et al*²¹⁰ han establecido un protocolo (Figura 5) a realizar en aquellos tumores que muestren ausencia de tinción de MLH1, comenzando con el análisis de *BRAF* debido a ser técnicamente más sencillo y económicamente más accesible. En caso de ausencia de alteración, se continuaría con los estudios de hipermetilación de *MLH1*^{210,230}. Si este también fuese negativo, se debería realizar el estudio germinal para descartar o confirmar el síndrome de Lynch¹³⁹.

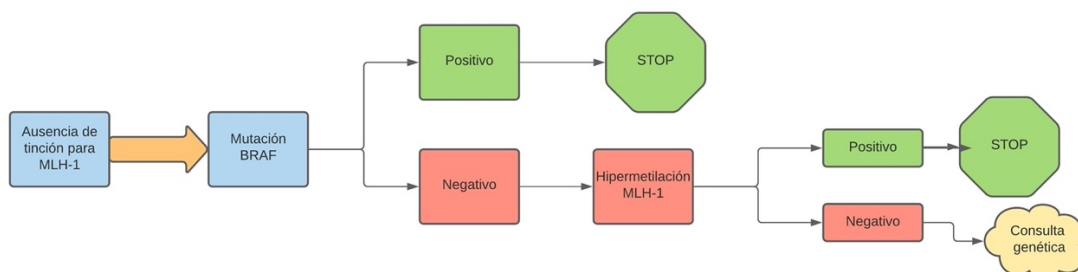


Figura 5: Algoritmo diagnóstico a aplicar en los casos de inmunotinción negativa para MLH1, basado en coste/efectividad propuesto por Adar *et al.*²¹⁰

Además, la realización de técnicas de inmunohistoquímica frente a las proteínas reparadoras puede resultar importante para predecir el pronóstico y/o la respuesta que tendrá el paciente a diferentes tratamientos, como veremos más adelante.

A su vez, recientemente se ha descrito el concepto de heterogeneidad para la interpretación de la inmunotinción de las proteínas reparadoras^{224,231-233}. Podríamos definirla como, la presencia en un mismo cristal de áreas tumorales con tinción, junto con áreas tumorales sin tinción o tinción con menor intensidad, siempre que los controles no pierdan intensidad y sean positivos (excepto la heterogeneidad técnica). Según la bibliografía^{224,231-233}, existen 4 tipos de heterogeneidad que deben de tenerse en cuenta para realizar un correcto diagnóstico:

- Heterogeneidad Técnica: Mantenimiento/pérdida de tinción con controles negativos (será desarrollado posteriormente).
- Heterogeneidad Intraglandular/biológica: Dentro de una misma glándula zonas con tinción y sin tinción.
- Heterogeneidad Clonal/Geográfica: Mantenimiento o pérdida de tinción en glándulas completas o grupos de glándulas.
- Heterogeneidad Compartimental: Mantenimiento y pérdida de tinción en áreas o secciones grandes del tumor (bloques diferentes).

En el año 2014, Joost *et al*²³¹ revisaron la concordancia existente entre la inmunohistoquímica (IHQ) y las técnicas de IMS en las 14 muestras que presentaron heterogeneidad de tinción reclutadas entre 2007 y 2012. Así, observaron que:

- 3 presentaban heterogeneidad de tinción con IMS
- 2 presentaban heterogeneidad de tinción sin IMS
- 7 presentaron alteración de la metilación del promotor *MLH1* con pérdida completa de tinción para *MLH1/PMS2* y heterogeneidad para *MSH2* Y *MSH6*.
- 2 presentaron heterogeneidad en la tinción *MLH1/PMS2* con hipermetilación de *MLH1* heterogénea donde las áreas con tinción de *MLH1* no mostraron hipermetilación de *MLH1* mientras que había hipermetilación en las áreas sin tinción.

Chen *et al*²²⁴ revisaron un total de 3.310 casos, e identificaron nueve con heterogeneidad para MSH6. De éstos, seis presentaban hipermetilación de MLH1, uno portaba una mutación de *MLH1* en línea germinal y los otros dos presentaban sendas mutaciones de *PMS2* en línea germinal. Los autores concluyeron que la presencia de heterogeneidad de MSH6 puede ser debida a mutaciones somáticas en *MSH6* secundarias a otro defecto en una proteína reparadora (como hipermetilación de *MLH1* o mutación en *PMS2*).

Por tanto, los resultados de Joost *et al.* y de Chen *et al.* muestran que si bien no afecta a un número muy elevado de tumores, el fenómeno de heterogeneidad ocurre preferentemente en tumores que presentan hipermetilación para *MLH1*, aunque también podrían deberse a expresión variable del epítipo, mutaciones de segundo hit, hipoxia, estrés oxidativo, problema de técnica, haber recibido quimio o radioterapia previa^{224,231}.

Estos hallazgos fueron muy relevantes ya que entran en contradicción con la normativa actual del Colegio Americano de Patología que indica que “cualquier positividad en los núcleos de las células tumorales es considerado como expresión intacta (normal²³⁴)”. En los casos en que se identifique tinción heterogénea, debería de reportarse y determinar si esa heterogeneidad es debida a un defecto en alguna de las proteínas reparadoras.

En el año 2020, Greenberg *et al*²³³ añadieron el ya mencionado concepto de heterogeneidad técnica y afirmaron que la mayoría de los casos de heterogeneidad de tinción suele ser debida a este problema. Además, en su estudio, todos los casos que mostraron heterogeneidad geográfica presentaban IMS. Este grupo, también indicó la necesidad de realizar paneles moleculares cuando no estuviese claro el patrón de inmunotinción.

Por otra parte, en los últimos años, la IHQ frente a la proteína caudal homebox 2 (CDX2) va adquiriendo un papel relevante²³⁵ como marcador sensible y específico para el diagnóstico de CCR²³⁶⁻²³⁸, habiéndose descrito una asociación inversa entre la tinción de CDX2 y el grado histológico²³⁷⁻²⁴³. La ausencia de tinción para este marcador se relaciona con aumento de características de agresividad como estado avanzado, pobre diferenciación, invasión vascular, inestabilidad de microsatélites, presencia de mutación

en *BRAF*, hipermetilación de CpG a nivel del genoma y/o peor supervivencia global a 5 años^{235,240,251,242,244–250}.

4.4. Estadificación Sistema Tumor, Nodo, Metástasis (TNM)

El sistema *Tumor-Node-Metastasis* (TNM) es un sistema de estadiaje estandarizado, desarrollado en 1957 y actualizado regularmente, por la *American Joint Comitee on Cancer (AJCC)*^{252,253} con el objetivo de unificar el manejo y establecer el pronóstico del paciente oncológico a nivel mundial^{252,254}. Este sistema describe una serie de parámetros entre los que se encuentran: profundidad de invasión tumoral, número de ganglios linfáticos afectos y si hay otros órganos afectos²⁵².

La T hace referencia al tamaño del tumor principal, sus dimensiones y su invasión a los tejidos, de esta manera^{255,256}:

- pTx: El tumor no puede ser evaluado.
- pT0: no se evidencia tumor.
- pTis: carcinoma *in situ*, carcinoma intramucoso (afectación de la lámina propia sin extensión a la muscular de la mucosa).
- pT1: el tumor invade la submucosa (a través de la muscular de la mucosa, pero no atraviesa la muscular propia).
- pT2: el tumor atraviesa la muscular propia.
- pT3: el tumor invade la muscular propia hacia los tejidos peri rectales
- pT4: el tumor invade el peritoneo visceral o invade o se adhiere a un órgano o estructura adyacente
 - o pT4a: el tumor invade a través del peritoneo visceral
 - o pT4b: el tumor invade directamente o se adhiere a otros órganos o estructuras.

La N hace referencia al número de ganglios linfáticos afectados. Para poder dar un valor “N” se necesita encontrar al menos 12 ganglios^{255–257}:

- pNx: los ganglios linfáticos no pueden ser evaluados.
- pN0: no hay presencia de tumor en los ganglios linfáticos.
- pN1: de 1-3 ganglios linfáticos están afectados por el tumor o hay presencia de depósitos tumorales sin evidencia de afectación ganglionar.

- pN1a: un ganglio linfático está afectado por tumor.
- pN1b: 2 o 3 ganglios linfáticos están afectados por el tumor.
- pN1c: ningún ganglio linfático está afectado por el tumor, pero hay depósitos tumorales en la subserosa, mesenterio o tejidos mesorrectales.
- pN2: 4 o más ganglios linfáticos están afectados.
 - pN2a: 4-6 ganglios linfáticos están afectados por la invasión tumoral.
 - pN2b: 7 o más ganglios linfáticos están afectados por la invasión tumoral.

La M se usa para identificar la presencia de metástasis a distancia del tumor primario. Se le llama metástasis cuando el tumor se disemina más allá de los ganglios linfáticos^{255,256}.

- M0: no se evidencia signos de metástasis.
- M1: se evidencian signos de metástasis.
 - M1a: metástasis en un sitio u órgano sin metástasis peritoneal.
 - M1b: metástasis en dos o más sitios sin afectación peritoneal.
 - M1c: metástasis peritoneal.

En su última versión, la octava edición, pese a mantener la extensión de la enfermedad como parámetro más importante, se han incorporado marcadores biológicos y moleculares que, además de clasificar, permiten orientar sobre el pronóstico del paciente²⁵². Además, gracias al sistema TNM, es posible catalogar los tumores y tratar a los pacientes acorde al grado de extensión de su patología.

5. Tratamientos Disponibles

5.1. Resección transanal endoscópica (TEM)

La resección transanal endoscópica o TEM (*Transanal endoscopic microsurgery*) es un proceso mínimamente invasivo que permite acceso al recto. Fue desarrollado en la década de los 80 por el profesor Gerhard Buess²⁵⁸. La técnica consiste en introducir un endoscopio rígido por el ano y resecar la lesión de manera mínimamente invasiva, reduciendo la morbilidad²⁵⁹. Si la lesión está por encima del sigma puede que no sea posible emplear esta técnica dada la rigidez del endoscopio²⁵⁹.

Serán candidatos a esta técnica aquellos tumores que sean bien-moderadamente diferenciados, sin invasión linfovascular ni perineural²⁶⁰. Es decir, únicamente aquellos tumores que sean hasta pT1 serán candidatos a esta técnica. Para confirmar que el tumor no sobrepasa la submucosa, es mandatorio realizar previamente una resonancia magnética o una ecografía transrectal²⁵⁹.

Aunque la mayoría de los autores afirma que en casos de tumores que tienen características de alto riesgo (Budding alto, invasión linfovascular o perineural, presencia de contenido mucinoso...) la TEM debería de ir acompañada de un tratamiento neoadyuvante o adyuvante, el consenso es pleno en afirmar que los tumores que sean pT2, deberían ser candidatos a cirugía²⁶¹⁻²⁶⁵. A su vez, se necesitan más estudios para llegar a conclusiones firmes sobre el manejo de pacientes con tumores de alto riesgo y que se les realice una TEM^{259,262,266-268}. En tumores muy grandes (3-4cm) también se desaconseja la técnica debido a que el gran tamaño de los pólipos puede afectar al procedimiento, impidiendo una resección total y por tanto, aumentando las tasas de recurrencia²⁵⁹.

A su vez, es mandatorio realizar previamente una resonancia magnética o una ecografía transrectal para garantizar que el tumor solo penetra superficialmente la pared rectal, ya que la técnica no está indicada si el tumor sobrepasa la submucosa²⁵⁹.

Las complicaciones más frecuentes tras la realización de TEM incluyen sangrado, dehiscencia de suturas, necesidad de conversión a cirugía abierta, retención urinaria e incontinencia fecal²⁵⁹.

5.2. Cirugía

En estadios precoces, la cirugía se reserva para casos que no sean candidatos a cirugía endoscópica y si el tumor se encontrase a menos de 2mm del margen de resección. También se aplica la cirugía para estadios II y III²⁶⁰.

En pacientes con tumores que no obstruyen el tránsito digestivo, la cirugía programada consiste normalmente en una resección parcial o segmentaria del colon, pudiendo cambiar y ser más amplia según las características o localización del tumor²⁶⁹.

En pacientes con obstrucción, las opciones terapéuticas incluyen:

- En paciente clínicamente estable, o sin una oclusión completa, en tumores de colon descendente (no muy distales) con las características adecuadas, se puede intentar implantar una prótesis de colon de manera endoscópica para resolver la complicación, y poder demorar la cirugía unas semanas para realizarla en mejores condiciones²⁷⁰.
- En paciente que no se puede demorar la cirugía, con un mal estado clínico (mal estado general, deshidratación grave), en los que se descarta la opción endoscópica o hay otras complicaciones asociadas:
 - Realizar una colostomía de descarga (si no hay otras complicaciones asociadas, el paciente no soporta una intervención mayor o va a requerir tratamiento quimioterápico neoadyuvante)²⁷¹.
 - Resección parcial/segmentaria de colon del segmento neoplásico con o sin anastomosis²⁷².

La diferencia de que la colostomía sea temporal o definitiva va a venir determinada por las condiciones del paciente y las características del tumor.

La cirugía puede ser abierta o por laparoscopia, dependiendo de la anatomía, localización y estadiaje tumoral, así como el estado del paciente²⁷³. Ésta también puede emplearse para reseca metástasis pulmonares y hepáticas si se cumplen los siguientes criterios:

- El tumor primario ha sido o será resecado completamente.
- La resección de la metástasis es factible.
- Tras la resección puede mantenerse un adecuado funcionamiento del órgano.

Además de la posibilidad de emplear quimio y radioterapia en los pacientes con cáncer de recto según su estadio para evitar la recaída tumoral, en los casos en que ésta ha ocurrido, se puede completar la cirugía con una resección abdominoperineal más baja, siendo esta técnica potencialmente curativa para estos pacientes. Es más, si la recurrencia local es resecable y se encuentra en combinación con metástasis únicas en hígado o pulmón debería de hacerse resección de la metástasis si el estado del paciente lo permite. Por tanto, los pacientes cuyo tumor que tiene un bajo estadiaje y la cirugía

ha conseguido el estado de R0, tendrán menos probabilidad de recaída que otro con un estadiaje alto o que no se haya conseguido estado R0 en la cirugía¹²³.

Los pacientes operados de cáncer de recto, en caso de precisar una segunda cirugía, puede que necesiten un estoma vitalicio, mermando su calidad de vida^{274,275}.

5.3. Quimioterapia

La quimioterapia es un tratamiento sistémico empleado para destruir células tumorales, afectando lo menos posible a células sanas²⁷⁶. Puede ser neoadyuvante, si se utiliza antes de la cirugía; adyuvante, si se emplea tras la cirugía; de conversión o inducción, si se realiza en pacientes con el objetivo de ver si podrán ser candidatos a cirugía si consiguiesen reducir la cantidad o tamaño tumoral; y paliativa, cuando el paciente no es operable y se intenta aumentar esperanza y calidad de vida²⁷⁷.

Existen múltiples esquemas de tratamiento en continua evolución, que combinan múltiples fármacos en base a criterios clínicos y anatomopatológicos. Como ejemplo, la Figura 6, muestra el esquema de tratamiento propuesto por la *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)* para el cáncer de colon²⁷⁸. Como puede observarse en ella, el último paso para poder añadir terapia adyuvante y mejorar la supervivencia es valorar el estadiaje patológico. Concretamente, las guías de la NCCN determinan en su última edición²⁷⁸:

- pTis, T1N0 y T2N0: Vigilancia sin terapia adyuvante
- T3N0 y T4N0 (IMS-H) : Vigilancia.
- T3N0, T4N0: quimioterapia adyuvante.
- T1-T4, N1-N2: quimioterapia adyuvante.

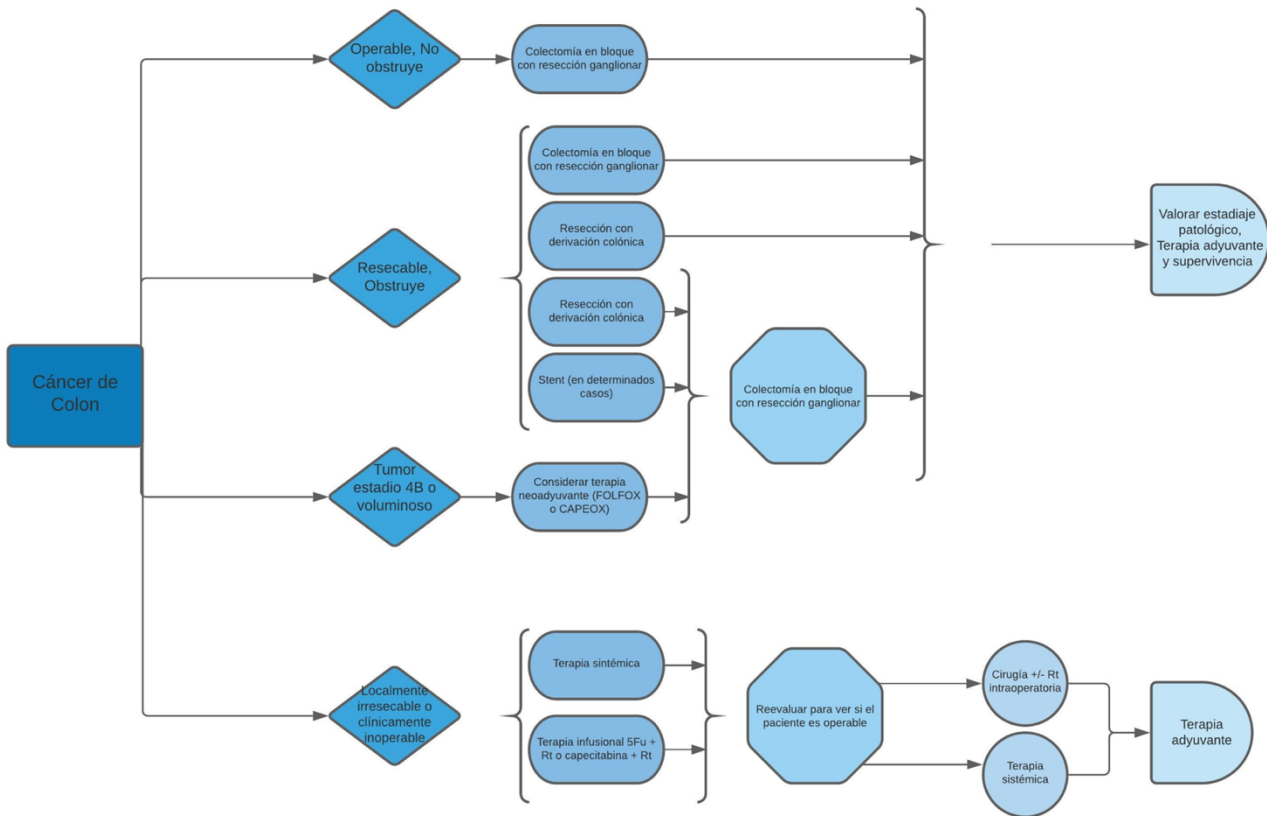


Figura 6: Esquema de tratamiento propuesto por la National Comprehensive Cancer Network²⁷⁷. Rt: Radioterapia 5FU: 5-Fluorouracilo.

Si tenemos en cuenta los resultados de patología molecular, la neoadyuvancia en pacientes cuyos tumores presentan IMS solo se administra si son tumores localmente irreseccables (Estadio IV). En estadios anteriores, la cirugía sería la primera intervención recomendada por las guías²⁷⁸.

Además, las guías también establecen la necesidad de conocer el estado de *BRAF/NRAS* y *KRAS*²⁷⁸, ya que, de encontrarse alguno mutado, el paciente no podrá recibir tratamiento quimioterápico con cetuximab o panitumumab, ya que dichos fármacos actúan contra el receptor EGFR, bloqueando los receptores que hay en la superficie de las células tumorales y evitando que se activen cascadas celulares, cascadas activadas constitutivamente en el caso de mutación en los mencionados genes (Figura 3)¹⁴³.

Por su parte, un estudio de Oh *et al*²⁷⁹, determinó que los pacientes cuyo CCR presentaba inmunotinción leve para p53 respondían peor a los oxaliplatinos, con menores tiempos libres de enfermedad y peor supervivencia global. Al desglosar los

resultados, observaron que hasta un 25% de los pacientes de este grupo tenían además IMS-H.

5.4. Inmunoterapia

La inmunoterapia es un tratamiento oncológico dirigido a potenciar el funcionamiento del sistema inmune de un individuo para que pueda combatir contra el desarrollo de un tumor. Este concepto se planteó por primera vez en el siglo XIX cuando el *Dr. Coley* observó que los pacientes oncológicos que padecían infecciones severas tenían, en ocasiones, remisiones espontáneas²⁸³. Tras esta idea, diversas corrientes han afirmado o rechazado dicha hipótesis²⁸² hasta que en el año 1994, *Flamand et al* establecieron el concepto de la inmunoterapia y de cómo la respuesta inmune afecta al desarrollo tumoral²⁸².

Actualmente se dispone de evidencia demostrando que los tumores expresan antígenos que pueden ser reconocidos por el sistema inmune y que pueden ser utilizados para inducir una respuesta antitumoral²⁸⁰. Sin embargo, no todos los tumores responden de igual manera a dicho tratamiento. En el caso del CCR, la inmunoterapia tiene buenos resultados en pacientes con tumores que tienen defectos en las proteínas reparadoras^{283,284}.

La inmunoterapia actúa mediante los inhibidores del punto de control inmunitario o ICI (*Immune checkpoint inhibitors*), que se encargan de frenar el mecanismo de apoptosis de los linfocitos T citotóxicos (como anti-CTLA-4 y anti-PD1) para que puedan actuar durante un mayor tiempo sobre las células tumorales, logrando mejores intervalos de supervivencia a 10 años en aquellos pacientes para los cuales esta terapia está indicada²⁸⁴.

5.5. Radioterapia

La radioterapia es un tipo de tratamiento oncológico que emplea altas dosis de radiación para eliminar células cancerígenas. Se empezó a utilizar a finales de los 80, principios de los 90 de forma neoadyuvante en pacientes con tumores de recto debido a que se objetivó que aumentaba la supervivencia y mejoraba el pronóstico²⁸⁵.

La radioterapia no se suele utilizar en colon debido a dos limitaciones: el área de acción es difícil de definir ya que el colon es móvil y, además, cerca del colon hay otros

órganos que podrían afectarse por la radiación (hígado, riñones, sistema reproductor femenino...) ²⁸⁶. Sin embargo, en el recto es más sencillo de emplear porque es más fácil definir el área y además es una zona menos móvil. Por ello, se utiliza de forma neoadyuvante y adyuvante en estadios II y III y en algunos estadios IV⁹ y de forma adyuvante cuando existen recidivas locales o metástasis únicas en otros tumores colorrectales ²⁸⁷.

La radioterapia es tóxica y puede asociar efectos secundarios en el esfínter anal o el tracto urinario causando incontinencias ²⁸⁷. Por ello debe de elegirse bien al candidato y optimizar el área de radiación.

5.6. Algoritmo de decisión terapéutica para cáncer colorrectal

Teniendo presentes las distintas opciones terapéuticas, la NCCN recomienda que el tratamiento a los pacientes esté basado en su estadiaje clínico, dependiente del TNM (Tabla 3²⁶⁰ y Tabla 4^{288,289}).

Tabla 3: Relación entre estadio clínico, TNM y tratamiento del cáncer de colon en base a las guías de la NCCN.

| Estadio | TNM | Tratamiento |
|---------|--|---|
| 0 y I | Tis, T1, T2, N0, M0 | Resección endoscópica del pólipo o resección del tumor y las adenopatías. |
| II | T3, T4 N0 M0 (Si no cumple características de alto riesgo*) | Resección del tumor y las adenopatías. |
| II | T3, T4 N0 M0 (Si cumple con características de alto riesgo*) | Cirugía con quimioterapia adyuvante |
| III | T1-T4, N1-N3, M0 | Cirugía con quimioterapia adyuvante |
| IV | T1-T4, N1-N3, M1 | Quimioterapia, terapia biológica dirigida, inmunoterapia, cirugía paliativa y/o ablación por radiofrecuencia. |

Las características de alto riesgo vienen definidas por ²⁶⁰

- < 12 ganglios linfáticos
- Tumores pobremente diferenciados (excepto en el caso de los pobremente diferenciados e IMS-H, que no se considera mal pronóstico)
- Invasión vasculo-linfática o perineural
- Cirugías por obstrucción o perforación

Tabla 4: Relación entre estadio, TNM y tratamiento del cáncer de recto en base a las guías de la NCCN.

| Estadio | TNM | Tratamiento | | |
|---------|------------------|--------------|--------------------------------------|--|
| | | Neoadyuvante | Cirugía | Tratamiento Adyuvante |
| I | T1, N0, M0 | | Excisión transanal local | Si características de alto riesgo, cirugía o Qt/Rt |
| I | T1-T2, N0, M0 | | Resección transabdominal | |
| II | T3-T4, N0, M0 | Qt o Rt | Resección transabdominal | Qt + Rt |
| III | T1-T4, N+, M0 | Qt o Rt | Resección transabdominal | Qt + Rt |
| IV | T1-T4, N0-N3, M+ | Qt o Rt | Resección transabdominal si se puede | Qt + Rt |

Las características de alto riesgo vienen definidas por:

- Bordes quirúrgicos afectos
- Invasión linfovascular
- Tumores pobremente diferenciados
- Invasión de la submucosa

6. Factores pronósticos del CCR

Aunque existen muchos avances moleculares novedosos, y otros marcadores pronósticos clásicos, el estadio tumoral en base a criterios patológicos sigue siendo el Gold-standard para determinar el pronóstico²⁹⁰.

6.1. Clasificación dentro del Sistema TNM

Actualmente el CCR se estadifica utilizando el mencionado sistema TNM, que como ya se ha explicado, fue elaborado como método para clasificar la malignidad de un tumor de manera homogénea^{252,254}.

Existen varios TNM, el clínico (cTNM), el patológico (pTNM) y el post tratamiento (yTNM)²⁵⁶. Además, y como se ha visto en el apartado anterior, existe una manera de simplificar este estadiaje y poder hacer “grupos” de cara al manejo y tratamiento de los pacientes. Por ello los oncólogos y radiólogos emplean el “Estadio” que es una manera de simplificar el TNM (Tabla 5) permitiendo optimizar y homogeneizar la pauta de tratamiento entre diferentes individuos que tengan el mismo tumor.

Tabla 5: Correlación entre estadio clínico y TNM del tumor²⁵⁶

| ESTADIO | TNM |
|---------|--|
| 0 | Carcinoma in situ, Tis, N0, M0 |
| I | Cáncer localizado. T1-T2, N0, M0 |
| II | Cáncer localmente avanzado, estadios iniciales. T2-T4, N0, M0 |
| III | Cáncer localmente avanzado, estadios finales. T1-T4, N1-N3, M0 |
| IV | Cáncer metastásico. T1-T4, N1-N3, M1 |

Por tanto, cuanto mayor sea el TNM, peor será el pronóstico del paciente y más agresiva tendrá que ser la terapia que reciba. De hecho, se ha descrito que la supervivencia para el CCR a 5 años en estadio I es de 74% frente al 5% en estadio IV^{137,255}.

6.2. Invasión linfovascular y perineural

Se denomina invasión linfovascular cuando hay un pequeño vaso sanguíneo o linfático afectado por tumor, mientras que la invasión perineural se refiere al crecimiento dentro, alrededor y a través de los nervios y de las vainas nerviosas^{291,292}.

En el CCR suele ser más frecuente encontrarse invasión linfovascular que perineural. Ambas se relacionan con mal pronóstico, asociándose con un mayor riesgo de metástasis ganglionares y hepáticas, entre otras²⁹¹.

6.3. Márgenes de resección

Los márgenes de resección son las zonas por donde los cirujanos separan la pieza quirúrgica del cuerpo del paciente. Hay estudios que indican que las resecciones cuyos márgenes quedan a una distancia superior a 5cm del tumor, tienen menos recaídas tumorales²⁹³. Sin embargo, aumentar la distancia de resección más allá de los 5cm, no parece disminuir la posibilidad de recurrencia tumoral²⁹³.

6.4. Grado histológico de diferenciación

El grado histológico tumoral consiste en examinar las células y el tejido tumoral al microscopio para determinar la similitud del tejido tumoral respecto al tejido normal. Cuanto más parecido sea, se indica que está bien diferenciado²⁹⁴.

El grado histológico en CCR se divide en cuatro subgrupos²⁵⁶:

- G1: Bien diferenciado (se aprecia más de un 95% de formación glandular)
- G2: Moderadamente diferenciado (50-95% de formación glandular)
- G3: Pobremente diferenciado (menos del 50% de formación glandular)
- G4: indiferenciado (no hay formación glandular ni mucina ni diferenciación escamosa o neuroendocrina)

El grado de diferenciación histológica ha demostrado ser un importante factor pronóstico en múltiples estudios realizados, mostrando que los tumores bien diferenciados tienen un comportamiento menos agresivo²⁹⁴⁻²⁹⁷. Sin embargo, la subjetividad para medir los diferentes grados histológicos puede crear discordancias entre diferentes patólogos²⁹⁸.

El grado de diferenciación solo puede ser informado en los adenocarcinomas de tipo intestinal, es decir, no es aplicable para ningún subtipo histológico (medular, mucinoso, anillo de sello...) ya que estos subtipos, asocian de por sí un grado específico según la clasificación de la OMS²⁹⁹. Por ejemplo, el adenocarcinoma medular es un tumor de bajo grado, aunque tenga apariencia de pobremente diferenciado²⁹⁹.

6.5. Subtipo Histológico

Cada tumor suele tener diferentes variantes histológicas que alteran las características y comportamiento tumoral y por ello el pronóstico²⁹⁰.

Existen 11 variedades histológicas, reconocidas por el Colegio Americano de Patólogos (CAP), entre las que se encuentran²⁵⁶:

- Adenocarcinoma
- Adenocarcinoma mucinoso
- Adenocarcinoma en anillo de sello
- Carcinoma medular
- Adenocarcinoma serrado
- Carcinoma micropapilar
- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma indiferenciado
- Carcinoma con componente sarcomatoide
- Carcinoma neuroendocrino de célula grande
- Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña

La variedad más frecuente es el adenocarcinoma de tipo intestinal con un 75-80% de prevalencia con respecto a los demás². Determinadas variedades como la mucinosa o la de en anillo de sello se asocian con mal pronóstico y que constituyen el 10% y el 1% de los CCR ,respectivamente^{290,300,301}.

6.6. Perfil Inmunohistoquímico

Recientemente el uso de la inmunohistoquímica se ha ampliado para analizar factores pronóstico, por ejemplo pueden analizarse proteínas reparadoras u otros biomarcadores como el KRAS o BRAF^{302,303}.

6.6.1 MMR

En el año 2005, Popat *et al*²⁸³ realizaron un metaanálisis en el que analizaron 32 estudios con 7642 casos de CCR, 1277 de ellos con IMS. El estudio demostró que en los pacientes con IMS, tenían mejor pronóstico y supervivencia que aquellos con estabilidad de microsatélites, incluso en aquellos casos con enfermedad local avanzada. Además, los resultados también mostraron que los pacientes con IMS no se beneficiaban de terapia adyuvante con 5-FU (5-fluorouracilo).

Concretamente, los pacientes con IMS debido a alteraciones germinales causantes de síndrome de Lynch parecen tener mejor pronóstico que cuando la inestabilidad es debido a la vía serrada. Esto puede ser debido a que, en familias con síndrome de Lynch, reciben un seguimiento clínico más estrecho, lo que permite que sean diagnosticados en estadios más tempranos de la enfermedad^{228,304,305}.

A día de hoy, no se ha encontrado una explicación precisa de porque los tumores con IMS tienen mejor pronóstico, sin embargo, hay algunas hipótesis^{228,306}:

- Estos tumores desencadenan una reacción linfocítica más fuerte que los que muestran estabilidad de microsatélites; esta reacción crea un ambiente altamente inmunogénico que además puede ser tratado con inmunoterapia, como se ha mencionado previamente.
- No es común que en los tumores con IMS presenten mutaciones en *TP53* o *KRAS*, ambos eventos relacionados con un peor pronóstico.

En concordancia con una de las hipótesis de por qué los tumores con alteración en las proteínas MMR tienen mejor pronóstico, en un estudio llevado a cabo por Douglas J Hartman *et al*³⁰⁷ comentaron que el valor pronóstico del estado de las proteínas reparadoras es con mayor probabilidad atribuible al aumento de linfocitos T CD8 positivos y que el análisis cuantitativo de linfocitos T CD8 positivos es un buen marcador de supervivencia, particularmente en pacientes con diferenciación mucinosa, medular o en anillo de sello³⁰⁷.

Por último, en el año 2020 Hestetun *et al* añadieron que los pacientes con inmunotinción positiva para MMR con tumores de alto grado tenían mucho peor

pronóstico cuando su tratamiento era únicamente la cirugía comparado con los casos que se les trataba con cirugía y quimioterapia³⁰⁸.

6.6.2. TP53

En los últimos años, se ha visto una relación entre la presencia de mutación de TP53 y el pronóstico del paciente^{171,186–192}. Múltiples estudios sugieren que la presencia de mutación, ya sea *missense* o *nonsense*, se relaciona con un tiempo libre de enfermedad y de supervivencia reducido, así como mayor riesgo de recurrencia tumoral^{186,189–192}.

Así, un trabajo de Kate *et al*¹⁸⁶ en pacientes con cáncer de esófago demostró que los pacientes con inmunohistoquímica positiva o negativa para p53 tuvieron peores valores de tiempo libre de enfermedad, así como mayor riesgo de recurrencia y menor tiempo de supervivencia.

A su vez, un estudio realizado en pacientes con esófago de Barret, comprobó que aquellas displasias con inmunotinción positiva o negativa para p53, progresaban con mayor frecuencia a adenocarcinoma de esófago; además, en los casos de inmunotinción negativa el pronóstico era peor pronóstico que en las sobreexpresiones y el 100% de los adenocarcinomas de esófago tenían mutación en p53¹⁹⁰.

Estos hallazgos también han sido descritos por Boyle *et al*¹⁸⁹ en cáncer de mama, donde vieron que el tiempo medio de supervivencia y la respuesta a algunos tratamientos era inferior en aquellos pacientes con positividad o negatividad para la inmunohistoquímica de p53¹⁸⁹.

6.6.3. KRAS

Un metaanálisis realizado por Tsimiligras *et al*³⁰⁹, destacó que la mayoría de artículos revisados reportaban que tener mutación en KRAS se relaciona con mal pronóstico, disminuyendo la supervivencia media más de 38 meses.

Además observaron que en aquellos casos en los que el paciente tenía una recaída tumoral, los tumores KRAS nativo metastatizan con mayor frecuencia en peritoneo, cerebro o hueso mientras que aquellos con KRAS mutado lo hacen con mayor frecuencia en pulmón. A su vez, el estado R0 post quirúrgico, solo es factor de buen pronóstico en aquellos pacientes KRAS nativo, esto puede ser debido a que las

mutaciones en *KRAS* se relacionan con una biología tumoral más invasiva que aumenta la probabilidad de sufrir una recurrencia post quirúrgica³¹⁰. Por último, destacar que los pacientes con *KRAS* nativo, pueden recibir dianas terapéuticas específicas, como cetuximab y panitumumab que mejoran el pronóstico y la respuesta al tratamiento^{158,166,167}, habiendo aumentado estos nuevos fármacos la respuesta al tratamiento hasta un 70%³¹¹.

En resumen, la presencia de mutación en *KRAS* conlleva un mal pronóstico y se relaciona con una supervivencia media menor^{312,313}.

6.6.4. *BRAF*

Aunque las mutaciones en *BRAF* son poco frecuentes, se han estudiado de forma exhaustiva debido a que los tumores con mutación en *BRAF* se relacionan con mal pronóstico³¹⁴. Los pacientes con CCR metastásico y mutación en *BRAF* tienen menor supervivencia libre de enfermedad y hasta 10-16 meses menos de supervivencia global que aquellos pacientes con *BRAF* nativo^{208,315,316}. De hecho, según un estudio llevado a cabo por Renaud *et al*³¹⁷, los pacientes con CCR y mutación en *BRAF* tienen aún menores tasas de supervivencia comparado con aquellos pacientes con *KRAS* mutado (15 vs 55 meses)^{208,317}.

Como se puede ver en la Figura 4, y ya hemos comentado, aquellos tumores con EMS tienen peor pronósticos que aquellos con IMS²¹¹, y dentro del grupo de IMS, aquellos con *BRAF* mutado tienen peor pronóstico que los *BRAF* nativo. Por todo lo comentado, podemos concluir que la mutación en *BRAF* es factor de mal pronóstico para los pacientes con CCR.

6.6.5. *CDX2*

En el año 2016 Dalerba *et al*, realizaron un estudio en pacientes con CCR donde analizaban la supervivencia a 5 años en función de la expresión de *CDX2*, llegando a la conclusión de que el intervalo de supervivencia era menor en los pacientes con negatividad para *CDX2* comparado con los que mostraban positividad, independientemente de la edad, sexo y estadio tumoral. Asimismo concluyeron que los pacientes con estadio II y negatividad para *CDX2*, podrían beneficiarse de un tratamiento quimioterápico adyuvante²³⁵.

También en el año 2016, Olsen *et al*²⁵⁰, identificaron que los pacientes con negatividad para CDX2 junto con proteínas reparadoras funcionantes (pMMR) tenían peor pronóstico, con supervivencia de 35.8 meses frente a 52 y 53 meses para pacientes con positividad para CDX2 o deficiencia de la función de las proteínas reparadoras (dMMR) y CDX2 negativa. A su vez, confirmaron que estos pacientes podrían ser candidatos a recibir tratamiento quimioterápico adyuvante si se encontrasen en estadio II al observar un mejor pronóstico en estos casos²⁵⁰.

Siguiendo esta línea, en el año 2020 Hestetun *et al* obtuvieron los mismos resultados: la expresión de CDX2 en pacientes con inmunotinción negativa para MMR no afectaba al pronóstico mientras que pacientes con tinción positiva para MMR con negatividad para CDX2 tenían mucho peor pronóstico³⁰⁸.

En el año 2018, el equipo liderado por Hansen *et al* observó que en aquellos tumores que mostraban expresión positiva o moderada para CDX2 y que únicamente mostraban pérdida de CDX2 focal en los buds tumorales tenían un peor pronóstico que aquellos que mostraban una pérdida total de tinción CDX2²⁴⁹.

Por último en el año 2020, Melincovici *et al* describieron en su estudio que la pérdida de PMS2 se relacionaba con la pérdida de CDX2³¹⁸.

En resumen, la inmunotinción negativa para CDX2 se relaciona con aumento de características de agresividad como estadio avanzado, pobre diferenciación, IMS, invasión vascular, mutación en *BRAF*, metilación de CpG y/o peor supervivencia global a 5 años^{235,240,242,244–250}.

6.7. Budding tumoral

El budding tumoral se define como “células únicas o grupos de hasta 4 células en el margen invasivo del tumor”^{319,320}.

Fue descrito por primera vez en los años 50 por Imai³²¹, que postuló que la presencia del goteo de células tumorales en el borde invasivo del tumor reflejaba un crecimiento tumoral más rápido. Sin embargo, estas afirmaciones no fueron tomadas en serio hasta 1989, cuando Morodomi *et al* reportaron que el budding tumoral estaba relacionado con las metástasis ganglionares^{322,323}.

Desde entonces, la comunidad científica ha ido observando cómo a igualdad de estadiaje tumoral existía mucha heterogeneidad en tiempos de supervivencia y respuesta al tratamiento, pensando entonces que debían existir otros marcadores pronósticos^{320,324–328}. Es así como desde el año 2016 se ha implementado el uso del budding tumoral como factor pronóstico y se han elaborado unas guías de interpretación para poder estandarizar su cuantificación³²⁰.

De hecho la presencia de budding de medio o alto grado se relaciona con aumento de metástasis ganglionar e invasión linfovascular^{320,324,329–331}.

Realizar el conteo del budding es una tarea sencilla que, sin embargo, puede dificultarse si hay una reacción inflamatoria muy severa³²⁴. Además, los fibroblastos y las células estromales pueden confundirse a veces con los buds tumorales³²⁴. Para resolver estos problemas, se ha sugerido la utilización de inmunohistoquímica para CKAE1/Ae3, que permiten discernir lo que es epitelial y por lo tanto buds reales, sin embargo, las guías internacionales no recomiendan esta práctica de forma rutinaria³²⁰.

Sin embargo, el budding tiene una serie de limitaciones:

- En algunos subtipos histológicos (mucinoso, anillo de sello, medular y micropapilar) el análisis de budding debe de realizarse con cautela. Por ejemplo, en tumores mucinosos y de células en anillo de sello los buds suspendidos en lagos de mucina no deberían de contarse³²⁰.
- En casos donde haya fragmentación glandular debido a un infiltrado inflamatorio intenso, es posible que el budding sea difícil de valorar³²⁰.
- En resecciones de recto que hayan recibido terapia neo-adyuvante, no se dispone de suficiente evidencia sobre el valor pronóstico del budding en este tipo de pacientes^{320,332–334}.

6.8. Perforación y obstrucción intestinal

Cuando un paciente tiene un tumor que perfora el intestino grueso, suele ser signo de enfermedad local avanzada y por lo tanto asocia un peor pronóstico^{335,336}. Así, Chen *et al* afirman que los pacientes que presentan perforación del colon debido al tumor que tienen, asocian mayor porcentaje de recaída, mayor índice de metástasis a distancia y tienen un peor periodo libre de enfermedad que los pacientes que tienen

obstrucción colónica³³⁷. Sin embargo, no parece haber diferencia en los tiempos de supervivencia entre ambos grupos³³⁷.

6.9. Tumor residual tras cirugía

Tras la terapia neoadyuvante, se procede a la intervención quirúrgica. La existencia de tumor residual tras el uso de neoadyuvancia se cuantifica según la "clasificación R" que se divide en³³⁸:

- Rx: no se puede determinar la presencia o ausencia de tumor residual
- R0: ausencia de tumor residual
- R1: presencia de tumor residual microscópica
- R2: presencia de tumor residual macroscópica

Aquellos pacientes que en la pieza quirúrgica se evidencia tumor residual, asocian mayor riesgo de recaída a corto pero sobre todo a medio y largo, plazo según un estudio reciente³³⁹.

6.10. Efecto del tratamiento

En el cáncer de recto, se suele dar terapia neoadyuvante, es decir, tratamiento quimioterápico o radioterápico antes de la intervención quirúrgica para intentar mejorar el resultado quirúrgico y con ello el pronóstico del paciente³⁴⁰.

Estos fármacos/procedimientos producen una serie de cambios en el tumor que luego son analizados por el patólogo y determina la respuesta que ha tenido el tumor al tratamiento. Por ello, cuanto mayor respuesta pre-quirúrgica haya tenido el tumor, mejor pronóstico tendrá el paciente³⁴¹⁻³⁴³.

Es importante destacar que de acuerdo a los protocolos del CAP, la regresión tumoral debe de cuantificarse únicamente en el tumor primario, por ello, las metástasis de ganglio linfático no deberían de tenerse en cuenta para este ítem²⁵⁶. A su vez, en aquellos pacientes con terapia neo adyuvante que tengan lagos de mucina acelulares, deberían de considerarse respondedores completos²⁵⁶.

Para estandarizar este ítem, y siguiendo los protocolos de la CAP, la regresión del tumor se codifica como se indica en la Tabla 6²⁵⁶:

Tabla 6: Tabla resumen de la codificación de regresión tumoral²⁵⁶

| Descripción | Regresión tumoral |
|---|-------------------|
| Sin evidencia de células tumorales (R0) | 0 |
| Células únicas sueltas o pequeños grupos de células tumorales (respuesta casi completa) | 1 |
| Tumor residual con regresión tumoral evidente pero se evidencian grupos de células tumorales o más de una célula suelta (respuesta parcial) | 2 |
| Se visualiza tumor residual extenso sin evidencia de regresión tumoral (respuesta pobre o inexistente al tratamiento) | 3 |

6.11. Depósitos tumorales

Se denomina depósito tumoral al foco tumoral en la grasa pericólica/perirectal o en el mesenterio adyacente (mesocólico o grasa rectal), que se encuentra en el área de drenaje linfático del tumor primario, pero sin identificar tejido linfático o estructura ganglionar²⁵⁶. Si se evidencia invasión en un vaso o un nervio, se debería de llamar invasión vascular o perineural.

Ante la presencia de depósitos tumorales, el tumor pasa a ser N1c (estadiaje TNM), y con peor pronóstico que los N0, sin embargo, no hay diferencias estadísticamente significativas entre los N1c y los N1 o N2, por ello es probable que los depósitos tumorales, a efectos de pronóstico y manejo, se comporten como una invasión de ganglio linfático³⁴⁴.

6.12. Marcadores tumorales

6.12.1. Elevación del CEA pre-operatorio

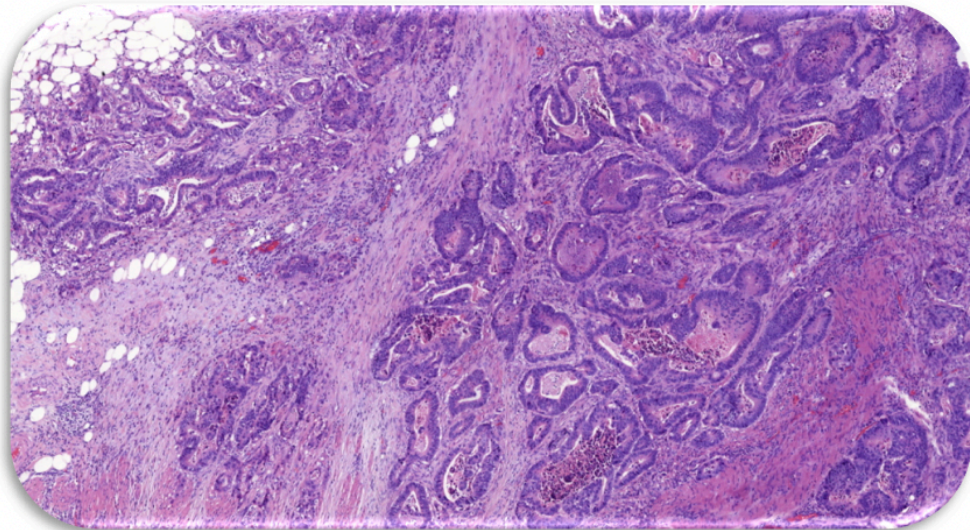
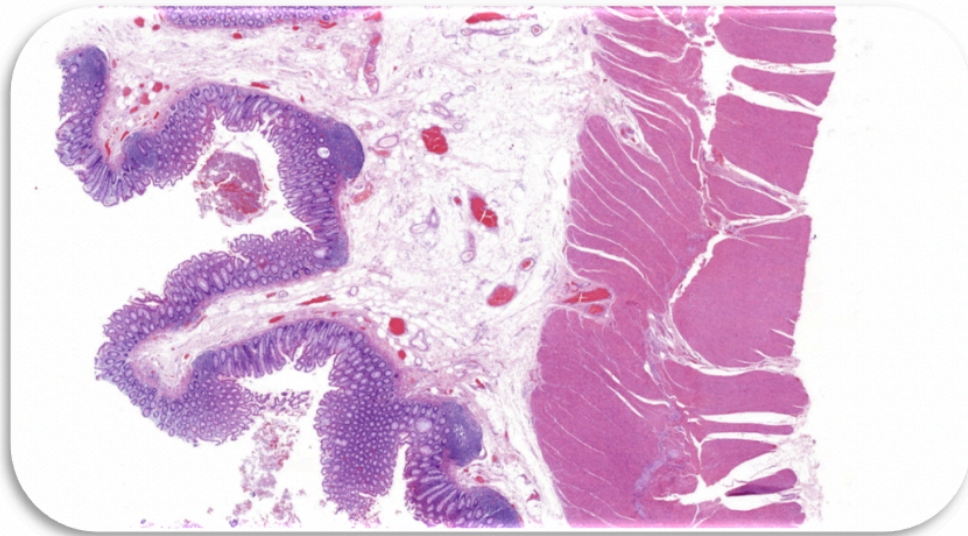
El CEA (antígeno carcinoembrionario) es el mejor marcador disponible como factor pronóstico y su elevación tras la cirugía con intención curativa sugiere que ha habido una recurrencia^{301,345}. Además, se han publicado estudios que indican que el intervalo de supervivencia a 3 años en pacientes con un CEA inicial mayor de 5 ng/mL ha sido significativamente más corto que para aquellos pacientes con un nivel menor de 5 ng/mL^{301,346}.

6.12.2. Marcador CA19.9

El marcador antiígeno carbohidratado 19.9 (CA 19.9) es un marcador usado en conjunto con el CEA para valorar pronóstico y respuesta al tratamiento, siendo peor el pronóstico cuando se encuentren elevados pre-tratamiento³⁴⁶. La elevación del valor de este marcador se asocia con mayor probabilidad de metástasis hepáticas³⁴⁷, mientras que los valores bajos de CA 19.9 se asocian con una buena tasa de supervivencia a 5 años³⁴⁶.

Su presencia se asocia con CCR que presentan mutación en *BRAF*, por ello cuando se tiene un tumor con valores CEA bajos y valores CA 19.9 elevados se debería pensar en un tumor con mutación *BRAF*, que como ya se ha comentado se asocian a peor pronóstico³⁴⁶, debido a que son tumores muy heterogéneos.

2. JUSTIFICACIÓN



El cáncer colorrectal (CCR) constituye en la actualidad una de las neoplasias malignas más prevalentes y supone de manera conjunta (sumando hombres y mujeres) una de las principales causas de defunción por cáncer en países desarrollados⁴.

En el País Vasco, el CCR constituye el segundo tipo de tumor por su incidencia, cuando se estratifica por sexos (en los hombres, el primero es el de próstata y, en las mujeres, el de mama), sin embargo, globalmente el CCR fue el tumor con mayor incidencia para ambos sexos³⁴⁸. Cada año se detectan en el España 37172 casos nuevos de cáncer colorrectal, 1952 de los cuales se registran en Euskadi^{5,349}.

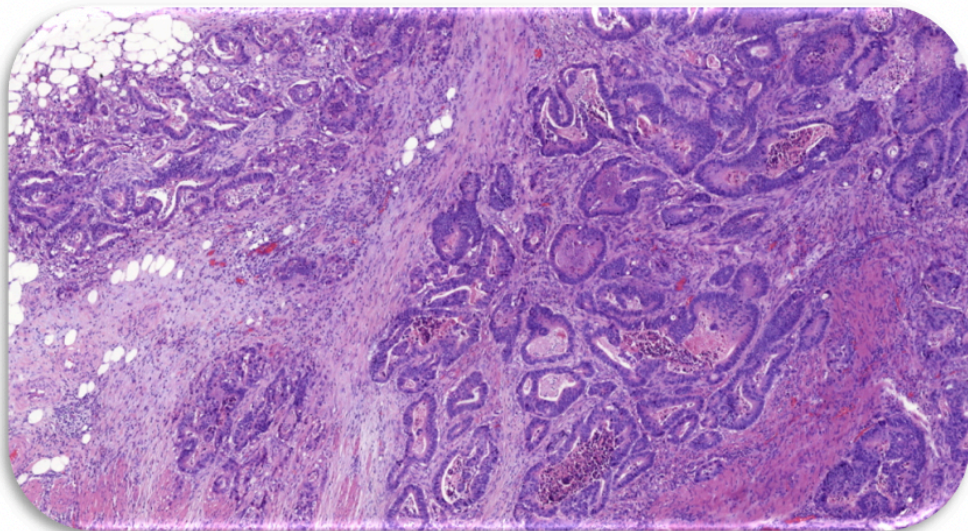
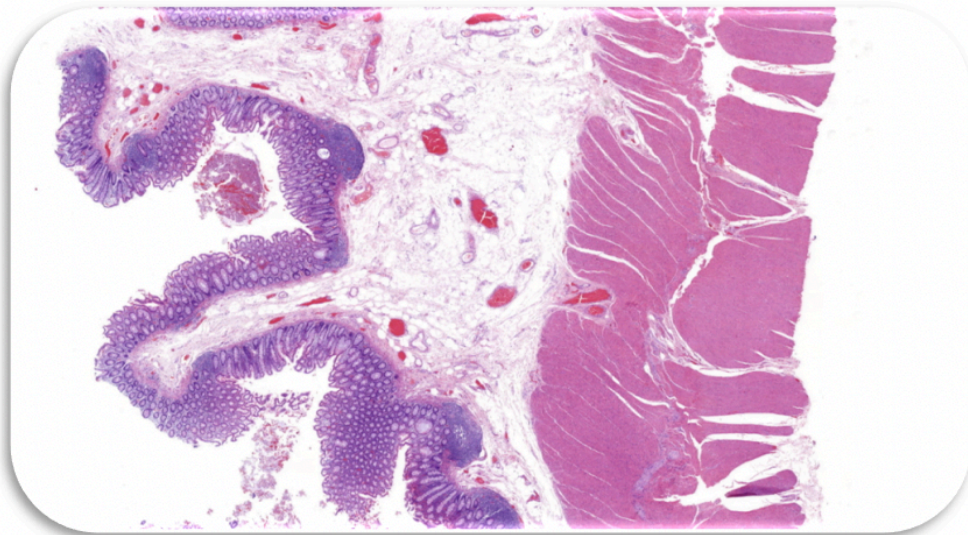
Pese a que los factores de riesgo para el CCR, han sido ampliamente estudiados y definidos, no se ha determinado de forma definitiva el por qué dos pacientes con el mismo diagnóstico y tratamiento tienen diferentes probabilidades de supervivencia.

Por otro lado, y debido a que actualmente se nos pide a los patólogos diagnósticos precisos y costo-eficientes, que incluyan, además de las características histomorfológicas de los tumores, biomarcadores diagnósticos y pronósticos que permitan aplicar tratamientos personalizados consideramos el estudio de la precisión de diferentes técnicas inmunohistoquímicas utilizadas en la clínica habitual, concretamente las proteínas reparadoras (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2), p53 y CDX2 en contraposición con la biología molecular, más cara pero mucho más precisa.

Además, en el caso de CDX2, se ha descrito que la ausencia de tinción se relaciona con un aumento de agresividad tumoral, sin embargo, las guías actuales no recomiendan su realización, por esta causa nos hemos propuesto evaluar si en nuestra cohorte de pacientes, se observa una relación con el pronóstico de la enfermedad.

Por esta razón surgió nuestro interés en analizar tanto los factores clínico-demográficos de cada paciente como las características histopatológicas y moleculares de cada tumor con el objetivo de encontrar una combinación de parámetros capaz de explicar las diferentes respuestas al tratamiento de acuerdo a los objetivos de la medicina personalizada.

3. OBJETIVOS



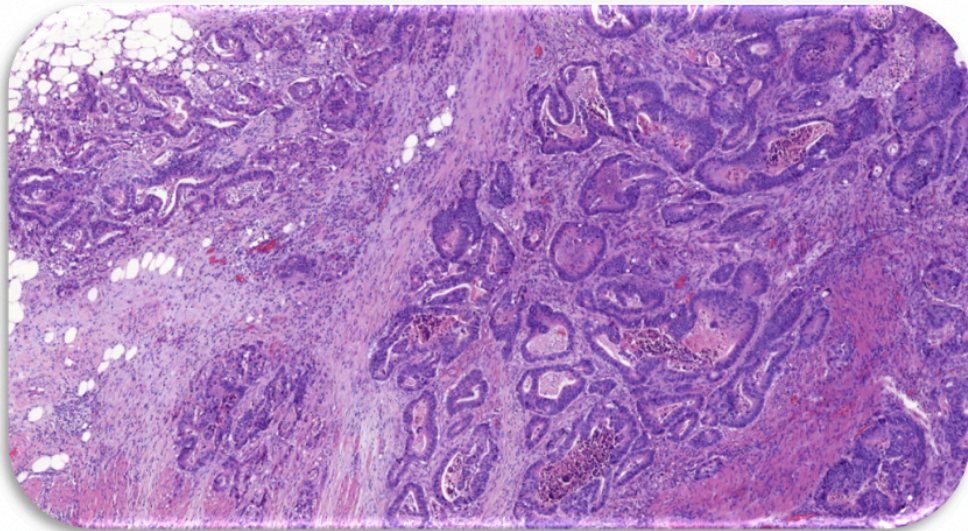
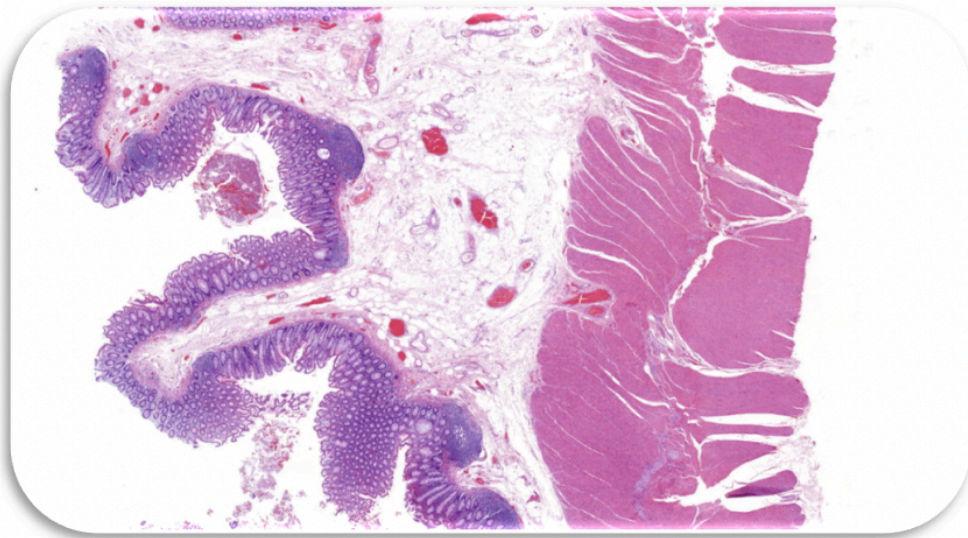
1. Objetivo principal

Definir los factores clínico-demográficos, histopatológicos y moleculares que determinan la evolución de los tumores en términos de tiempo libre de recaída y supervivencia global.

2. Objetivos específicos

- Definir las características de los pacientes incluidos en la muestra atendiendo a criterios demográficos, clínicos y de evolución.
- Clasificar los tumores de la muestra atendiendo a criterios histológico-inmuno-moleculares.
- Establecer la relación entre las distintas variables analizadas y la evolución tumoral en términos de supervivencia.
- Determinar el grado de correlación entre la expresión inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras y la inestabilidad de microsatélites.
- Estudiar la relación existente entre los diferentes grados de expresión inmunohistoquímica de la p53, la agresividad del tumor y la posible presencia de mutación en el gen *TP53*.
- Investigar el papel de expresión IHQ de CDX2 como factor predictor de la evolución tumoral.

4. MATERIAL Y MÉTODOS



1. Pacientes

Se incluyeron en este proyecto aquellos pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma Colorrectal (CCR) entre el 01/01/2010 y el 31/12/2014, pertenecientes al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Araba (previamente conocido como Hospital Santiago Apóstol y Hospital Universitario Txagorritxu). Para la selección de los pacientes se realizó la búsqueda en el programa “Vitropath” cumpliendo los siguientes:

- Criterios de inclusión:
 - Diagnóstico de adenocarcinoma colorrectal basado en los códigos SNOMED (M81403 (ADENOCARCINOMA, NE), T68000 (RECTO, NE), T67000 (COLON, NE))
 - Menor o igual de 65 años
 - Ambos sexos
 - Existencia de pieza quirúrgica
- Criterios de exclusión:
 - Incumplir cualquiera de los anteriores
 - Origen metastásico del tumor colorrectal.
 - Pacientes con múltiples tumores de colon simultáneos (Sincrónicos)

Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación Clínica del Hospital Universitario Araba (Expte.2019-068).

2. Selección y trabajo de bloques

Se examinaron uno a uno todos los cristales de cada caso para proceder a la selección de los bloques tumoral y no tumoral de cada paciente. Una vez seleccionados los cristales representativos, se buscó el bloque de parafina correspondiente, se realizaba un nuevo corte para ver si la lesión vista en el cristal original coincidía con la del nuevo corte y se valoró si había material suficiente para la realización de las distintas determinaciones de inmunohistoquímica (IHQ) y para las técnicas de molecular. En caso de que el bloque no tuviese suficiente material, se seleccionaba otro valorando nuevamente los cristales.

En caso de no existir cristales donde sólo hubiera uno de los tipos tisulares, se marcó el área de interés mediante un rotulador permanente para que la técnico de anatomía patológica encargado de realizar la extracción del ADN lo hiciese únicamente del área indicada.

Se realizaron las siguientes técnicas:

- A los bloques tumorales: tinción con HE; inmunoquímica para MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, p53, CKAE1/AE3, CDX2 y extracción de ADN.
- A los bloques sanos: tinción con HE y extracción de ADN.

3. Inmunohistoquímica

La técnica de inmunohistoquímica es una prueba de laboratorio que permite, mediante el uso de anticuerpos, identificar ciertos antígenos (marcadores) en una muestra de tejido. Por lo general, los anticuerpos están unidos a una enzima o a un tinte fluorescente. La enzima o el tinte se activan cuando los anticuerpos se unen al antígeno en la muestra de tejido; de esa manera, el antígeno se puede observar al microscopio.

En el presente trabajo, la técnica de inmunohistoquímica se realizó sobre los cortes del bloque tumoral previamente seleccionado en la máquina “BenchMark ULTRA IHC/ISH system” (Roche, Basilea, Suiza) que, mediante un sistema electrónico, identifica la etiqueta asignada a cada muestra con el código de biopsia y el del anticuerpo a emplear. Los anticuerpos empleados para identificar pérdida de expresión en las proteínas reparadoras fueron

- Anticuerpo MLH1, anticuerpo monoclonal primario de ratón (referencia 790-5091, Roche). Es un IgG, con tinción nuclear.
- Anticuerpo MSH2, anticuerpo monoclonal primario de ratón (referencia 790-5093, Roche). Es un IgG₁, con tinción nuclear
- Anticuerpo MSH6, anticuerpo monoclonal primario de conejo (referencia 790-5092, Roche). Es un IgG, que tiene una tinción nuclear
- Anticuerpo PMS2, anticuerpo monoclonal primario de ratón (referencia 790-5094, Roche). Es un IgG₁, que tiene una tinción nuclear.

Para cuantificar mediante inmunohistoquímica la expresión de p53 del tumor y poder compararla posteriormente con los resultados genético-moleculares se empleó un anticuerpo primario p53 de ratón (referencia 790-2912, Roche). Es un IgG₁/K que tiene tinción nuclear.

Para cuantificar el Budding tumoral en aquellos casos en los que había duda, se empleó un anticuerpo primario frente a queratina, el AE1/AE3/PCK2, (referencia 760-2595, Roche), que contiene un cóctel de anticuerpos monoclonales de ratón generado contra un epítipo encontrado en las queratinas epidérmicas humanas³⁵⁰. Es un IgG₁ que muestra tinción citoplasmática. Este anticuerpo permite la identificación de células epiteliales normales y anormales y determina el linaje de tumores malignos mal diferenciados. Puede ocurrir una expresión inesperada de antígeno o pérdida de expresión, especialmente en las neoplasias. Ocasionalmente, los elementos estromales que rodean el tejido y las células muy teñidas mostrarán inmunorreactividad. La interpretación clínica de cualquier tinción, o la ausencia de tinción, debe complementarse con estudios morfológicos y evaluación de los controles adecuados³⁵¹.

Para cuantificar la expresión de CDX2 se empleó un anticuerpo primario CDX2 monoclonal de conejo (referencia 760-4380, Roche). Es un IgG₁/K que tiene una tinción nuclear, dirigido contra la proteína CDX2 humana, permitiendo identificar mucosa de colon. Su negatividad en tumores colorrectales asocia peor pronóstico.

4. Proceso de escaneo de muestras

Tras la realización de las tinciones de hematoxilina-eosina y de las diferentes técnicas de inmunohistoquímica, se escanearon los cristales usando el escáner Ventana iScan HT (Roche), que permite el escaneo de 400 cristales de manera simultánea. Las imágenes escaneadas fueron revisadas una a una para confirmar que la calidad era óptima. En aquellos casos donde la calidad de escaneo era pobre, se repitió el escaneo. Las imágenes se guardaron en un disco duro externo para ser analizadas mediante el programa QuPath (Belfast, Reino Unido)³⁵².

5. Cuantificación de la inmunotinción de p53 y CDX2 mediante el programa QuPath

Se procedió a la cuantificación de la extensión e intensidad de las distintas determinaciones IHQ realizadas empleando distintos algoritmos de inteligencia artificial implementados en el software QuPath³⁵². Para ello, en primer lugar, se procedió a identificar las células existentes en las diferentes áreas analizadas mediante la determinación de diferentes parámetros como las características nucleares, citoplasmáticas y de intensidad para establecer los umbrales de detección.

Posteriormente, se realizaron diferentes marcajes manuales como podemos observar en la Figura 7, con el fin de permitir la identificación de áreas tumorales y estromales y que sirvieran para el entrenamiento de los algoritmos de inteligencia artificial incluidos en el propio software (*random tree* y *artificial neural network*). De esta manera, y una vez entrenada, se pudo automatizar la identificación de las áreas ayudados de la medición de características como la relación núcleo/citoplasma.

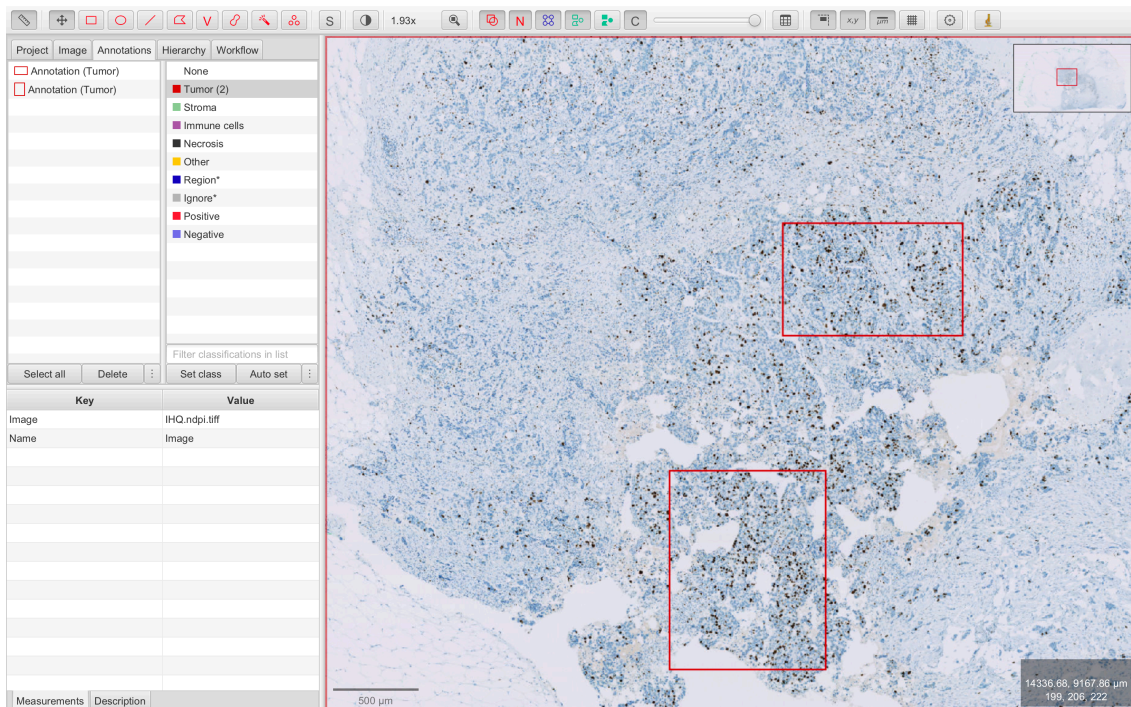


Figura 7: Marcaje manual de áreas de interés para realizar la cuantificación del H-Score.

Una vez optimizada dicha detección, se establecieron los umbrales de positividad para las distintas determinaciones IHQ analizadas partiendo de las intensidades de tinción para el núcleo o citoplasma dependiendo de las características de tinción de cada determinación, estableciéndose tres umbrales de detección (baja, moderada e intensa).

Para finalizar, se programaron distintos *scripts* que permitieran automatizar el proceso para futuras muestras, y exportar a hojas de cálculo distintos valores calculados, como el porcentaje de células positivas y el H-Score. El H-Score es un algoritmo que funciona con imágenes histológicas y se emplea para cuantificar tinciones de inmunohistoquímica de forma estandarizada. El programa detecta las células teñidas y la intensidad de la tinción, realizando tres grupos: tinción alta (3+), tinción media (2+) o tinción baja (1+). Tras esto, el programa realiza una media de las células teñidas y su intensidad y la divide entre el total de las células, dando unos valores entre 0-300³⁵³. Este método permite realizar cuantificaciones estandarizadas, dejando de lado la cuantificación *de visu*, mucho más subjetiva (Figura 8).

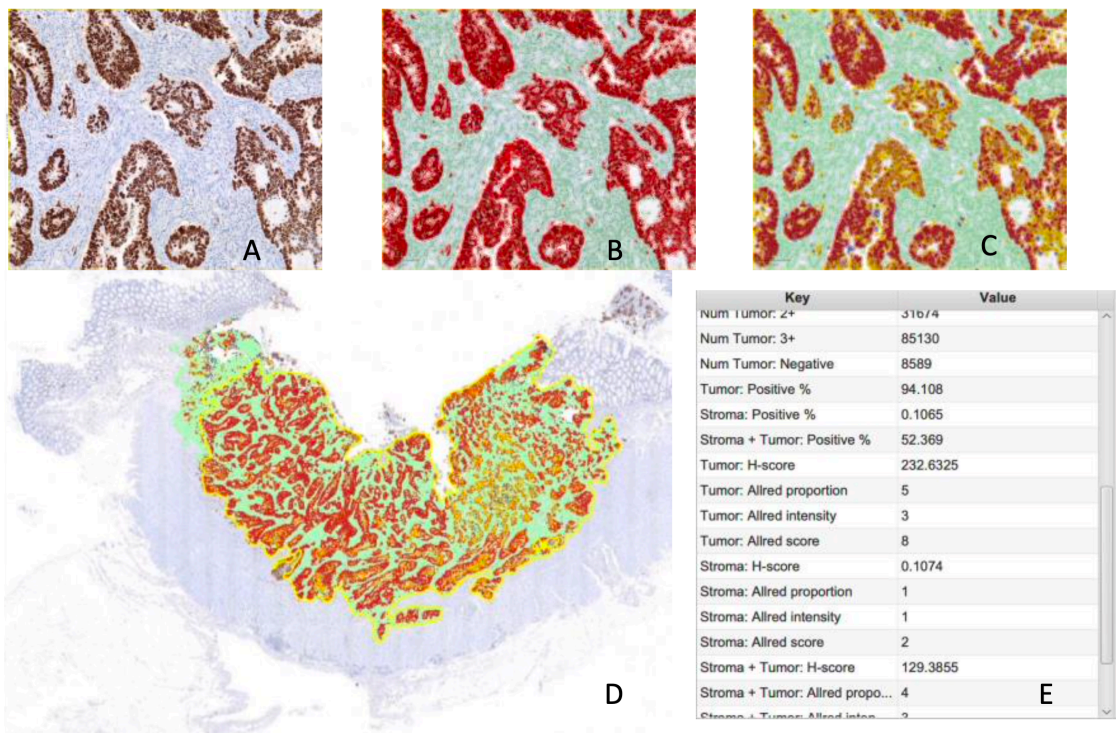


Figura 8: Pasos realizados para medir el H-Score: A) IHQ para p53. B) Identificación algorítmica de las áreas tumorales (en rojo) y estromales (en verde). C) Cuantificación en intensidad de la positividad para la p53. D) Vista de la intensidad IHQ en la totalidad del área tumoral. E) Parámetros obtenidos por el software QuPath para p53

6. Cuantificación de proteínas reparadoras y budding tumoral.

La valoración de la presencia/ausencia de inmunotinción de las proteínas reparadoras se realizó de acuerdo a la bibliografía más reciente que afirma que, además de valorar las proteínas reparadoras como intacta o negativa (pérdida de expresión), pueden ser heterogéneas^{224,231-233}. Todos los casos con heterogeneidad se valoraron conjuntamente por el doctorando y el co-director del proyecto.

La cuantificación del *Budding* se realizó de visu siguiendo las guías de CAP³⁵⁴. De forma puntual, se analizó la tinción de CKAe1/Ae3 en el epitelio del colon y se cuantificó la presencia de agrupaciones de hasta 5 células tumorales (*Buds*) en el estroma. Para ello, tras seleccionar sobre el porta, en panorámica, la zona con más *Buds*, se procedía al contaje con el objetivo a 20x.

La gradación empleada fue la siguiente:

- 0-4 buds: bajo grado
- 5-9 buds: intermedio
- > 10 Buds: alto grado

Las muestras que, tras realizar la tinción, seguían presentando dudas (ruido en la tinción, muestras exclusivamente tumorales...) fueron también analizadas junto al co-director del proyecto.

De acuerdo con las guías, los pacientes que hubiesen recibido quimioterapia neoadyuvante y aquellos con tumores mucinosos y/o anillo de sello, fueron excluidos de la cuantificación del budding.

7. Procesos de biología molecular

7.1. Extracción de ADN desde tejido

Para la extracción de ADN a partir de tejido parafinado, se partió de 2 cortes de 5 µm de grosor realizados con micrótomo, que se colocaron en un porta donde se rascó el tejido a un tubo eppendorff tras desparafinarse. Posteriormente se utilizó el kit de extracción *DNA Sample Preparation Kit (Roche)*, siguiendo las instrucciones del fabricante.

7.2. Cuantificación de ADN

Con el fin de determinar la concentración y calidad del ADN obtenido por los métodos anteriores, las muestras se cuantificaron utilizando un NanoDrop® ND-1000 (*Innovadyne Technologies, Cat. N.º.1200; Delaware, EEUU*). Para ello se determinaron las siguientes longitudes de onda:

- 260 nm (A260) para los ácidos nucleicos.
- 280 nm (A280) para las proteínas.
- 230 nm (A230) para los carbohidratos, péptidos, fenoles y compuestos aromáticos.

Se calculó la relación A260/A280 y A260/A230, mediante el programa informático ND-1000 v3.1.2, para determinar la pureza de las muestras. Posteriormente, el ADN se almacenó a -20°C hasta su posterior utilización.

7.3. Estudio de inestabilidad de microsatélites

El estudio de microsatélites, se realizó únicamente en aquellos pacientes que mostraban tinción íntegra o heterogénea en las proteínas reparadoras por inmunohistoquímica. Se realizó mediante el panel de Bethesda (*BAT25, BAT26, D2S123, D5S356 y D17S250*)^{225,226}, mediante PCR fluorescente tanto en ADN obtenido de tejido tumoral como en ADN germinal, para ello el extremo 5' del cebador directo de cada locus se marcó con el marcador fluorescente FAM. La amplificación por PCR se realizó utilizando las condiciones de termociclado. Los productos de la PCR se evaluaron en geles de agarosa al 2% antes de la exploración de los STR. Finalmente, se realizó una electroforesis capilar utilizando el analizador genético de la serie 3500 (*Applied Biosystems, California, EE.UU.*) y posterior análisis mediante el software GeneMapper versión 4.1 (*Applied Biosystems*). Se sospechó la existencia de IMS ante la presencia de o bien alelos *de novo* que aparecen como nuevos picos (es decir, picos que no existían en el genotipo del tejido normal) o bien alelos preexistentes deslizados para las pocas pares de bases^{355,356}. De acuerdo con las guías, cuando se observó inestabilidad en dos o más microsatélites, se clasificó como IMS-H; cuando únicamente se encontró inestabilidad en un marcador, como IMS-L. En los casos en los que ningún marcador se vio alterado, se interpretó como estabilidad de microsatélites (EMS)²²⁶.

7.4. Estudio de pérdida de heterozigosidad

Aprovechando el estudio de los microsatélites dinucleotídicos del panel de Bethesda, se analizó la pérdida de heterozigosidad o LOH (siglas del término inglés *Loss Of Heterozigosity*)^{357,358}. El análisis de LOH identifica desequilibrios alélicos, que reflejan ganancias y pérdidas de regiones cromosómicas, pudiendo emplearse como indicador de carcinogénesis a través de la vía de inestabilidad cromosómica.

Para ello, en aquellos casos que el microsatélite era heterocigoto en el tejido no tumoral, se determinó que una muestra presentaba LOH cuando uno de los alelos se perdía total o parcialmente en el tejido tumoral. Más concretamente, la relación de la altura del pico entre los dos alelos en el tejido normal adyacente comparada con la del tejido tumoral era $<0,8$ o $>1,2$. La altura del pico se determinó utilizando GeneMapper v4.1. Las muestras que no presentaban LOH se definieron como no LOH.

7.5. Análisis de mutaciones en *TP53*

Una vez se dispusieron de muestras de ADN, para el estudio de las variantes en los exones hotspot según la base de datos *TP53* de la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) (<https://tp53.isb-cgc.org/>), se llevó a cabo la amplificación de los exones 5-8 del gen *TP53* (se utilizaron como transcritos de referencia NM_000546 o su equivalente ENST00000269305) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando el termociclador BioRad C-1000 (Bio-Rad Laboratories, Hércules, California, EEUU). Para amplificar los exones 5, 7 y 8 se utilizaron parejas de cebadores publicadas anteriormente³⁵⁹. Para amplificar el exón 6 fue necesario diseñar una nueva pareja de cebadores (Tabla 7). A todos los cebadores se les añadió una secuencia correspondiente al bacteriófago M13 en el extremo 5' (cebador M13 *forward*: 5'-TGTAACGACGCCAGT-3'; cebador M13 *reverse*: 5'-CAGGAACAGCTATGACC-3') para facilitar la secuenciación posterior.

A la hora de elegir los pares de cebadores, era importante que la longitud máxima de los amplicones fuera de 200 pb, aunque el rendimiento máximo de la secuenciación fuera mayor. De hecho, se sabe que la integridad del ADN extraído de tejidos embebidos en parafina puede verse afectada por la fijación con formalina. La formalina provoca conexiones cruzadas en el ADN, dando lugar a la fragmentación de

ADN de una o doble hebra, lo que influye directamente en la calidad del ADN y en la eficiencia de la PCR.

Tabla 7: Secuencias de los cebadores empleados en la amplificación de TP53. No se incluye las secuencias correspondientes a las colas M13. Se indica también el tamaño de los amplicones.

| Amplicón | Exón | Cebador forward | Cebador reverso | Longitud del amplicón (pb) |
|----------|------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 5.1 | 5 | 5'-GACTTTCAACTCTGTCTCCTTC-3' | 5'-TGGCCATCTACAAGCAGTCA-3' | 157 |
| 5.2 | 5 | 5'-CCTGTGCAGCTGTGGGTTGATT-3' | 5'-AGATAGCGATGGTGAGCAGCTG-3' | 147 |
| 6 | 6 | 5'-AGAGACGACAGGGCTGGTTGC-3' | 5'-TCCCCAGAGACCCAGTTGCAAA-3' | 202 |
| 7 | 7 | 5'-CTCATCTTGGGCCTGTGTAT-3' | 5'-CTTGCCACCCTGCACACT-3' | 167 |
| 8.1 | 8 | 5'-ACTGCCTCTTGCTTCTTTTC-3' | 5'-AATCTCCGAAGAAAGGGGAGCCT-3' | 138 |
| 8.2 | 8 | 5'-ACGGAACAGCTTTGAGGTGCGT-3' | 5'-AAGAAGCGGTGGAGGAGACCAA-3' | 159 |

Las reacciones de PCR se realizaron en las siguientes condiciones finales: 0,05U/μl de enzima *BIOTAQ™ DNA Polymerase*; 1X tampón de PCR; 1,5mM de MgCl₂; (*Bioline, Cat. N.º. BIO-21040, Massachusetts, EE.UU*); 0,375μM de cada cebador; 0.25mM de dNTPs Mix (*Sigma-Aldrich, Cat. N.º D7295; St. Louis, Missouri, EE.UU*) y 100 ng de ADN.

Para la analizar los resultados PCR se preparó un gel de agarosa al 1,5% en tampón TAE 1X y las muestras migraron mediante electroforesis en el tampón TAE 1X. A continuación, la purificación de los productos de PCR para la degradación de cebadores y dNTP no utilizados se llevó a cabo utilizando ExoSAP-IT™ (*ThermoFisher*), siguiendo el protocolo del fabricante.

Para la identificación de mutaciones y cambios en la secuencia se empleó la técnica de secuenciación automática basada en el método de Sanger³⁶⁰ o técnica del dideoxinucleótido. Durante el paso de secuenciación se llevaron a cabo los siguientes pasos:

- 1) Se realizaron 2 reacciones de secuenciación por cada amplicón, una en sentido directo (con el cebador forward de cola M13: TGTAACGACGGCCAGT) y otra

- en sentido contrario (con el cebador reverse de cola M13: CAGGAAACAGCTATGACC).
- 2) Purificación de los fragmentos obtenidos en la reacción de secuenciación mediante precipitación con etanol/EDTA/acetato sódico según el protocolo de Applied Biosystems (*BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Protocol, Part. Nº 4337035 Rev.A, Capítulo 4, páginas 7-10; California, EE.UU*). Esta purificación permite la eliminación del exceso de ddNTPs marcados, para que al incidir con el láser, no interfieran en la emisión de la señal y posterior lectura de la secuencia.
 - 3) Separación de las diferentes hebras de ADN basándose en el tamaño/carga mediante electroforesis capilar en el secuenciador automático ABI PRISM 3500 (*Applied Biosystems, California, EE.UU*). Este capilar contiene un polímero que actúa como matriz para poder separarlos con gran precisión.

El análisis de los cromatogramas resultantes se realizó mediante el programa Sequencing analysis v5.4 y Variant Reporter v1.1 (Applied Biosystems). Este último alinea las secuencias obtenidas contra la secuencia del genoma de referencia, permitiendo así la identificación de las variantes. Si la variante aparece en ambas hebras, el software la identifica directamente. En el caso de las muestras en las que se detectaron alteraciones genéticas, se repitió todo el procedimiento experimental de verificación de variante con la misma muestra, además de en el tejido no tumoral extraído al mismo paciente para saber si se trataba o no de una alteración germinal.

Las variaciones se verificaron en Ensemble (<https://www.ensembl.org>) y su patogenicidad a través de la plataforma Varsome (<https://varsome.com>). Asimismo, para obtener información específica de cada variante se utilizó la base de datos TP53 de la IARC (<https://p53.iarc.fr/TP53GeneVariations.aspx>) y la base de datos PHANTM (<http://mutantp53.broadinstitute.org/>). Los artículos relacionados con cada variante se buscaron en la base de datos TP53 de la IARC y en COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>).

7.6. Estudio de hipermetilación de MLH1 mediante MS-MLPA

La técnica de metilación específica (MS)-MLPA es una variante de la técnica MLPA o amplificación múltiple de sondas ligadas (*Multiplex Ligation Probe Amplification*). El MS-MLPA permite detectar alteraciones epigenéticas, es decir, cambios en el patrón de metilación del ADN de genes concretos. En el MS-MLPA, las secuencias dianas donde se unen las sondas, contienen un sitio de restricción para una endonucleasa capaz de reconocer las secuencias no metiladas. Después de la hibridación de las sondas, la muestra se trata con esta endonucleasa que digiere aquellas sondas que se han unido al ADN no metilado, dejando sin digerir las sondas que se han hibridado con el ADN metilado. Como consecuencia, sólo estas últimas sondas serán amplificadas por PCR. La comparación del tamaño del pico de las sondas específicas de las regiones metiladas entre la muestra y los controles, proporciona información acerca de los niveles de metilación de las regiones de ADN complementarias a las sondas.

En este caso, la técnica del MLPA se utilizó para el análisis de pérdidas o ganancias de metilación en el promotor del gen *MLH1*, mediante el kit MLPA probemix ME011 *Mismatch Repair Genes* (MRC-Holland Biosystems, Amsterdam, Holanda) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados obtenidos se analizaron en el programa de análisis *Gene Mapper v4.1*.

7.7. Estudio de mutaciones en BRAF y KRAS

Para analizar la presencia de alteraciones en *BRAF* y *KRAS*, se empleó el sistema Cobas® 4800, plataforma totalmente automatizada para la realización de pruebas cualitativas de amplificación de ácidos nucleicos in vitro a partir de muestras humanas.

En el caso de *BRAF/NRAS*, se realizó una PCR alelo específica en tiempo real para la detección e identificación de las mutaciones en los exones 11 y 15 del protooncogén B-RAF y de las mutaciones en exones 2, 3, y 4 del oncogén viral RAS del neuroblastoma (*NRAS*) mediante el kit *BRAF/NRAS Mutation Test* (LSR) de Roche, diseñado para detectar 11 mutaciones en *BRAF* y 25 en *NRAS*.

El *KRAS Mutation Test* (Roche) detecta 19 mutaciones somáticas en los codones 12, 13 y 61 del gen homólogo al oncogén viral del sarcoma de rata kirsten (*KRAS*).

8. Elaboración de base de datos

Se elaboró una base de datos que permitiera recoger los datos epidemiológicos, histopatológicos, inmunohistoquímicos, genéticos y clínicos, que se detallan a continuación:

- parámetros epidemiológicos: código del paciente, hospital de procedencia, edad en la fecha del diagnóstico, número de biopsia y motivo del diagnóstico;
- parámetros histopatológicos: localización, morfología, grado de diferenciación y tamaño del tumor, estado de márgenes, invasión linfocelular o perineural, grado de Budding tumoral, presencia de depósitos tumorales y estadio TNM;
- parámetros medidos por inmunohistoquímica: presencia/ausencia de tinción de las proteínas reparadoras (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6), porcentaje de positividad celular para CDX2 y p53 y su intensidad de tinción;
- parámetros genéticos: presencia/ausencia de alteración genética en *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *TP53*. En el caso de presencia de alteración en *TP53*, tipo de mutación (*missense*, *nonsense*); presencia/ausencia de hipermetilación en el promotor de *MLH1* y presencia/ausencia de inestabilidad de microsatélites o pérdida de heterocigosidad en los mismos;
- parámetros clínicos: presencia/ausencia de metástasis al diagnóstico y localización; seguimiento o no en consulta post cirugía; Índice de masa corporal; tratamiento recibido y, en el caso de ser quimioterapia, número de ciclos; presencia/ausencia de recaída y, de existir, dónde se produjo, qué tratamiento recibió el paciente con recaída; presencia/ausencia de tumores no relacionados con su primario y, de existir, cuál fue su localización; fecha de última consulta; estado actual del paciente y, en caso de éxitus, causa de la muerte.

Una vez elaborada, se cumplimentó con los datos de cada paciente. Los valores de los distintos parámetros fueron codificados a términos numéricos para facilitar los cálculos con los mismos.

9. Análisis estadístico

En primer lugar se procedió a crear la Base de Datos informatizada con el fin de facilitar el acceso y comprobación de los mismos en cualquier momento del proceso. La

información perdida se clasificó como valor perdido (*missing*). Posteriormente se procedió a realizar una validación de la información mediante controles de consistencia interna, y estudio de valores *missing* y fuera de rango (*outliers*). Una vez depurados los datos, se realizaron las oportunas codificaciones y generación de nuevas variables derivadas (reagrupación y recodificación, variables resumen, etc.).

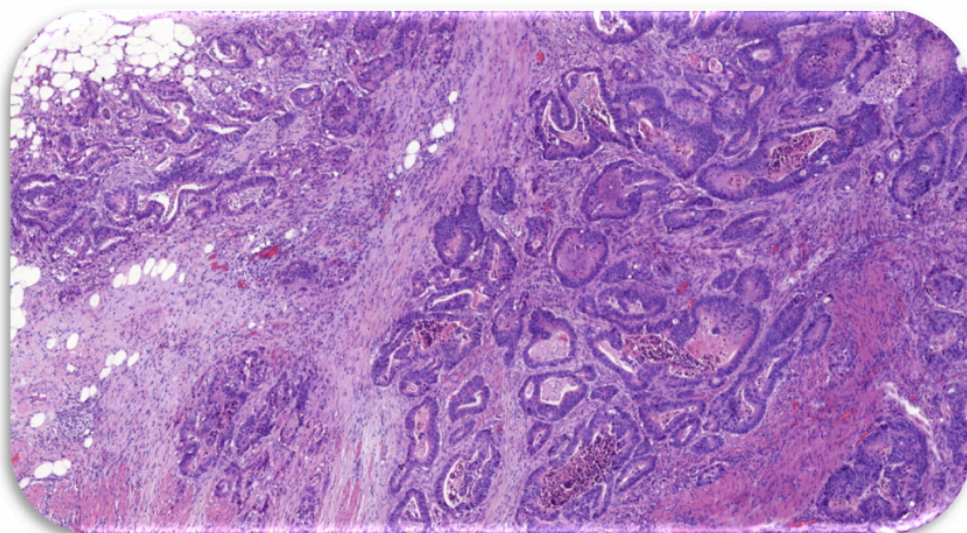
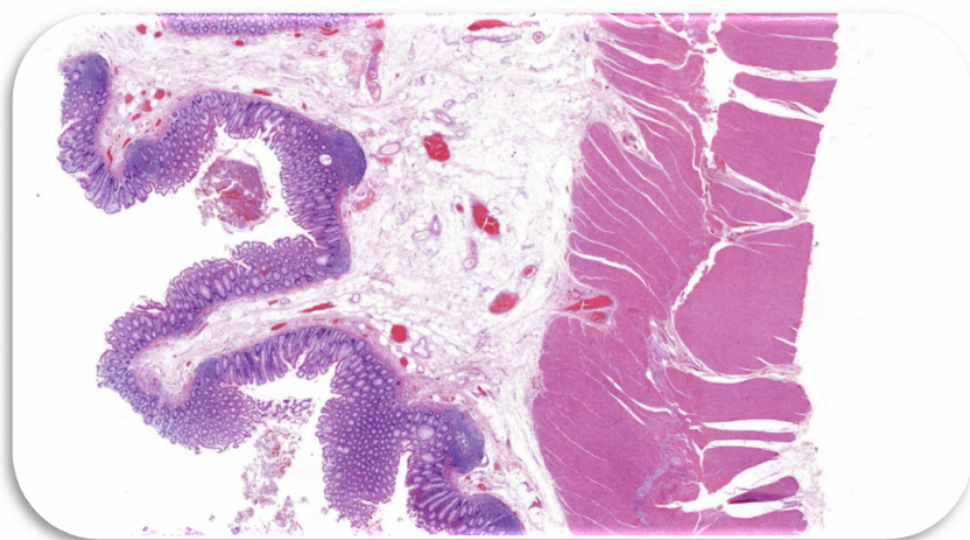
Posteriormente se llevó a cabo un análisis descriptivo de la muestra atendiendo a las variables clínico demográficas de los pacientes y características histomorfológicas y moleculares de los tumores. Para las variables cuantitativas se determinaron la media y desviación estándar; para las cualitativas se realizó un análisis de frecuencias.

El estudio de los tiempos libres de recaída y de supervivencia global fueron determinados mediante el test de Kaplan Meier. Las tasas de recaída y supervivencia libre de recaída se calcularán utilizando la recaída y la muerte como eventos. Asimismo, y con el objeto de establecer las variables independientes que permitieran estimar en función del tiempo, la probabilidad de recaída y de supervivencia global se ha llevado a cabo mediante la aplicación de un modelo de regresión de COX.

La búsqueda de los factores de riesgo independientes para la recidiva tumoral se realizó mediante la aplicación de modelos de regresión logística. En ambos modelos se incluyeron *a priori* todas las variables clínico demográficas (edad, sexo, Índice de Masa Corporal (IMC), motivo de diagnóstico), histomorfológicas (localización, tamaño tumoral, grado histológico, extensión tumoral, tumor budding, invasión linfocelular, invasión perineural), inmunofenotípicas (proteínas reparadoras, CDX2, p53) y moleculares (inestabilidad de microsatélites y *TP53*).

El método de selección de variables tanto en ambos modelos de regresión (logística y COX) se ha llevado a cabo mediante la aplicación del método Forward³⁶¹.

5. RESULTADOS



1. Pacientes: diagnóstico y evolución

En base a los criterios aplicados sobre el programa Vitropath, se identificaron 226 pacientes. Tras la solicitud de los bloques correspondientes al archivo, se obtuvieron bloques de 209 casos (no se encontraban en el archivo los 17 restantes). Dada la necesidad de disponer de tejido normal y tumoral para determinadas pruebas de patología molecular se seleccionaron los casos que dispusieran de material suficiente para ello. Se desecharon 34 casos bien porque no se disponía de otro bloque tumoral, o no había muestra suficiente en los bloques para realizar las técnicas necesarias. Además, se descartó un caso por ser un carcinoma in situ. Los datos de toda la serie se encuentran en el anexo.

La muestra final, por tanto, estuvo compuesta por 174 casos, con una representación masculina significativamente mayor (102 varones y 72 mujeres, $p=0,028$) y una edad media al diagnóstico de $57,28 \pm 6,89$ años.

Al valorar el índice de masa corporal de los pacientes incluidos en el estudio se observó que el 47% de los mismos mostraron sobrepeso (IMC: 25-29,9) en el momento del diagnóstico, mostrando un peso normal (IMC <25) el 32% de los pacientes y obesidad (IMC ≥ 30) el 19% de la muestra.

Los motivos de diagnóstico se codificaron en dos grupos, por presencia de síntomas o detección mediante pruebas de cribado tanto poblacional como debidas a antecedentes familiares. Curiosamente la mitad de la serie (89 pacientes) fue diagnosticada debido a la presencia de síntomas mientras que la otra mitad (85 personas) tras las pruebas de cribado, siendo en los primeros el diagnóstico a una edad significativamente menor (Tabla 8).

Tabla 8: Relación entre la edad media del diagnóstico de los pacientes y el motivo del mismo. Puede observarse cómo los pacientes con síntomas se diagnosticaron significativamente antes que los procedentes del cribado.

| Motivo del diagnóstico | N | Edad al diagnóstico (Media \pm DE) | Significación |
|------------------------|-----|---|---------------|
| Síntomas | 89 | 55,69 \pm 8,01 | 0,009 |
| Cribado | 85 | 58,94 \pm 5,02 | |
| Total | 174 | 57,28 \pm 6,89 | |

Quince pacientes (8,6% de la serie) mostraron metástasis en el momento del diagnóstico y en diez de esos casos ésta se localizó en el hígado.

En la Tabla 9 se describen los datos epidemiológicos más importantes de los pacientes separados en cuanto al género. La edad media en el momento del diagnóstico de los varones fue superior a la de mujeres ($p= 0,038$). Si bien las mujeres se diagnosticaron principalmente tras pruebas de cribado, mientras que los varones lo hicieron por presentar síntomas, estas diferencias no fueron significativas ($p= 0,384$).

Tabla 9: Resumen de los principales datos epidemiológicos de los pacientes estudiados separados en función del género. IMC: índice de masa corporal.

| | Hombre | Mujer | Total | Significación |
|--|------------------|------------------|------------------|---------------|
| Número | 102 (58,6 %) | 72 (41,4 %) | 174 (100 %) | 0,028 |
| Edad al diagnóstico ($\bar{X} \pm DE$) | 58,15 \pm 6,38 | 56,04 \pm 7,43 | 57,28 \pm 6,89 | 0,038 |
| IMC ($\bar{X} \pm DE$) en kg/m² | 26,9 \pm 4,8 | 25,7 \pm 3,7 | 26,4 \pm 4,23 | 0,060 |
| Diagnóstico por síntomas | 55 (53,9 %) | 34 (47,2 %) | 89 (51,1 %) | 0,384 |
| Diagnóstico en cribado | 47 (46,1 %) | 38 (52,8 %) | 85 (48,9 %) | |
| Metástasis a distancia | 8 (53,3 %) | 7 (46,7 %) | 15 (100 %) | 0,664 |

Una vez diagnosticados, 34 pacientes fueron sometidos a un tratamiento neoadyuvante para intentar disminuir el tamaño tumoral pre-cirugía, mientras que el resto de la serie se sometió directamente a la cirugía.

En la consulta de seguimiento post-cirugía participaron 169 pacientes. De los otros cinco, cuatro de ellos fallecieron antes de la cita y un paciente no acudió a ninguna consulta relacionada con su proceso oncológico.

Durante el control posterior en consulta, con una mediana de seguimiento de 1982 días (6-3346), 47 pacientes (27,8 %) presentaron recidiva, definida como presencia de células de adenocarcinoma colorrectal en órganos contiguos o a distancia. En cuatro de éstos la recaída fue local y en 43 fue a distancia.

En la Tabla 10 se muestran los tratamientos administrados tras la cirugía, así como el número de pacientes que presentaron recidiva a lo largo del seguimiento atendiendo al número de pacientes que recibió cada tratamiento adyuvante. Las diferencias encontradas en el número de pacientes con recaídas en función del tratamiento alcanzaron la significación estadística ($p=0,015$)

Tabla 10: Pacientes que mostraron recidiva atendiendo al tratamiento adyuvante post cirugía.

| Tratamiento recibido | Número de pacientes | Número de pacientes con recaída |
|---|---------------------|---------------------------------|
| No requiere tratamiento adyuvante | 50 (29,6 %) | 6 (12 %) |
| Quimioterapia postquirúrgica | 84 (49,7 %) | 27 (32,1 %) |
| Radioterapia postquirúrgica | 1 (0,6 %) | 0 |
| Radioterapia prequirúrgica y Quimioterapia postquirúrgica | 34 (20,1 %) | 14 (41,2 %) |
| Total | 169 | 47 |

Los pacientes que mostraron recurrencia recibieron los tratamientos recogidos en la Figura 9, siendo la cirugía y la quimioterapia, solas o en combinación, las opciones terapéuticas más empleadas.

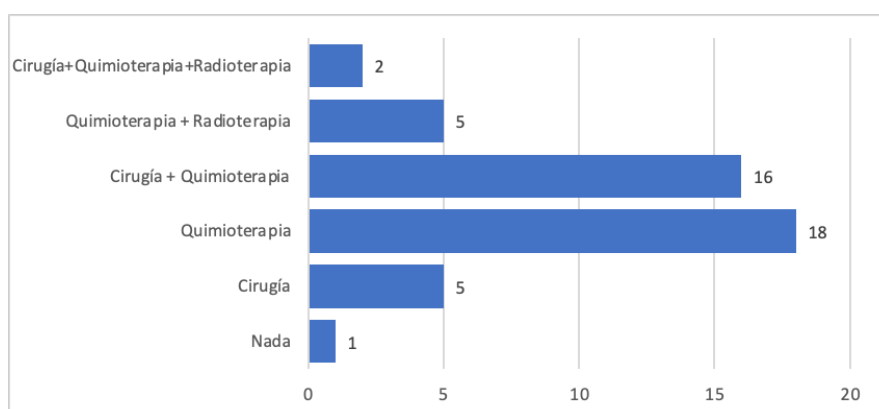


Figura 9: Tratamiento recibido en aquellos pacientes con recaída.

Resultados

Transcurridos 5 años desde el diagnóstico, 120 pacientes (68,9 %) se encontraban vivos libre de enfermedad, 41 (23,5 %) habían fallecido por el tumor, 11 sujetos (6,3 %) habían muerto por causas ajenas al tumor y únicamente 2 (1,1 %) seguía vivos con tumor (Tabla 11).

Tabla 11: Estado vital de los pacientes tras cinco años de seguimiento atendiendo a las variables clínico demográficas registradas.

| | Vivo sin enfermedad | Vivo con enfermedad | Muerto por tumor | Muerte por otras causas | sig. |
|----------------------------|---------------------|---------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| Edad al diagnóstico | | | | | |
| < 40 años | 1 (25 %) | 1 (25 %) | 2 (50 %) | 0 (0 %) | <0,001 |
| 41-55 años | 36 (65,5 %) | 1 (1,8 %) | 14 (25,5 %) | 4 (7,3 %) | |
| >55 años | 83 (72,2 %) | 0 (0 %) | 25 (21,7 %) | 7 (6,1 %) | |
| Sexo | | | | | |
| Mujer | 53 (73,6 %) | 2 (2,8 %) | 16 (22,2 %) | 1 (1,4 %) | 0,045 |
| Hombre | 67 (65,7 %) | 0 (0,0 %) | 25 (24,5 %) | 10 (9,8 %) | |
| IMC | | | | | |
| Peso normal | 34 (61,8 %) | 2 (3,6 %) | 15 (27,3 %) | 4 (7,3 %) | 0,46 |
| Sobrepeso | 59 (73,8 %) | 0 (0,0 %) | 17 (21,3 %) | 4 (5 %) | |
| Obesidad | 24 (68,6 %) | 0 (0,0 %) | 9 (25,7 %) | 2 (5,7 %) | |
| Motivo diagnóstico | | | | | |
| Síntomas | 49 (55,1 %) | 2 (2,2 %) | 30 (33,7 %) | 8 (9,0 %) | <0,001 |
| Cribado/hereditario | 71 (83,5 %) | 0 (0,0 %) | 11 (12,9 %) | 3 (3,5 %) | |

Al analizar los datos de la tabla, se observó que, al finalizar el periodo de seguimiento, el porcentaje de pacientes que continuaban vivos sin presencia de enfermedad aumentó con la edad al diagnóstico, siendo el 25 % de los pacientes menores de 40 años, el 65 % de los pacientes de edades comprendidas entre los 41 y los 55 años y el 72 % de los pacientes con edades superiores a 55 años. Asimismo, pudimos evidenciar que el porcentaje de mujeres sin rastro de enfermedad fue superior al de

hombres (73,6 vs 65,7 %) y que el 83,5 % de pacientes incluidos en un plan de cribado sobrevivieron libres de enfermedad frente al 55 % de los pacientes diagnosticados por la presencia de síntomas.

Sin embargo, como se puede apreciar en la Tabla 12 al incluir las distintas variables clínico-demográficas en un modelo de regresión de Cox, únicamente el motivo del diagnóstico se mostró como factor de riesgo independiente para recidiva tumoral ($p=0,011$).

Tabla 12: Factores de riesgo de recidiva tumoral (regresión de Cox). IMC= índice de masa corporal, Sig.= significación estadística, OR= odds ratio, CI= intervalo de confianza).

| | Sig. | OR | 95,0% CI para OR | |
|---------------------|--------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Edad al diagnóstico | 0,946 | 0,999 | 0,958 | 1,041 |
| IMC | 0,522 | 0,977 | 0,908 | 1,05 |
| Sexo | 0,564 | 1,193 | 0,655 | 2,174 |
| Motivo diagnóstico | 0,011 | 0,446 | 0,24 | 0,831 |

2. Caracterización histológico-inmuno-molecular de los tumores

En la Tabla 13, se resumen las principales características histopatológicas de los tumores incluidos en nuestra muestra, que se detallarán a continuación.

Resultados

Tabla 13: Características histopatológicas de los tumores incluidos.

| Características histopatológicas de los tumores | | Frecuencia | Porcentaje |
|---|---------------------------------|------------|------------|
| Localización | Derecho Transverso | 57 | 32,8 |
| | Izquierdo | 54 | 31 |
| | Recto-sigma | 63 | 36,2 |
| Grado histológico | Bien Diferenciado | 22 | 12,6 |
| | Moderadamente Diferenciado | 120 | 69 |
| | Pobremente Diferenciado | 21 | 12,1 |
| | Ausencia de datos | 11 | 6,3 |
| Tumor Budding | Bajo grado | 34 | 19,5 |
| | Grado intermedio | 20 | 11,5 |
| | Alto Grado | 93 | 53,4 |
| | No aplica | 27 | 15,5 |
| Invasión perineural | No | 143 | 82,2 |
| | Sí | 30 | 17,2 |
| | Ausencia de datos | 1 | 0,6 |
| Invasión vascular | No | 143 | 82,2 |
| | Sí | 30 | 17,2 |
| | Ausencia de datos | 1 | 0,6 |
| Extensión tumoral | Submucosa (pT1) | 18 | 10,3 |
| | Muscular propia (pT2) | 45 | 25,9 |
| | Subserosa (pT3) | 86 | 49,4 |
| | Serosa (pT4) | 25 | 14,4 |
| Infiltración ganglios linfáticos | Sin infiltración ganglionar | 89 | 51,1 |
| | Con infiltración ganglionar | 85 | 48,9 |
| Vía carcinogénesis | No determinada | 37 | 21,3 |
| | Inestabilidad cromosómica | 120 | 69,0 |
| | Inestabilidad de microsatélites | 11 | 6,3 |
| | Serrada | 6 | 3,4 |

2.1. Localización de los tumores

Del total de 174 tumores analizados, 57 (32,8 %) se situaron en colon derecho y transversal, 54 (31 %) en colon izquierdo y 63 (36,2 %) en recto-sigma, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,696$) respecto a la localización anatómica de los mismos.

Al analizar la relación entre la localización de los tumores y las diferentes variables clínico demográficas, llama la atención que, a pesar de que no se alcanzó la significación estadística ($p= 0,281$), en aquellos pacientes diagnosticados por sintomatología, el 40,4 % de los tumores se localizaban en recto sigma (Figura 10).

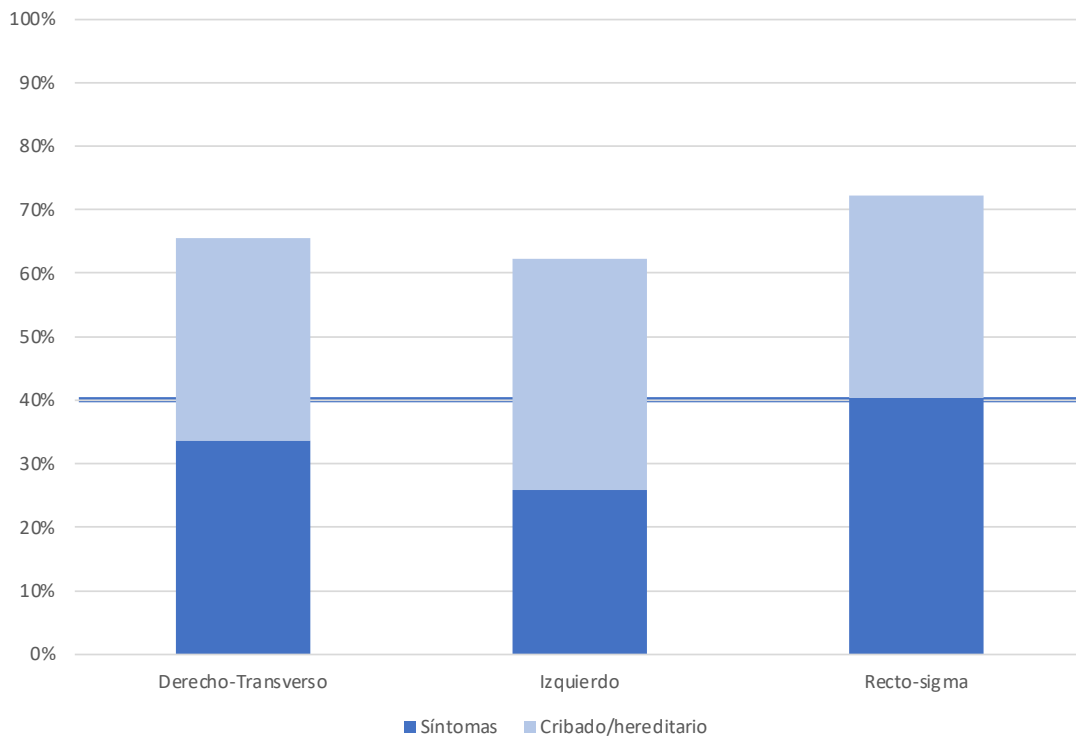


Figura 10: Relación entre la localización tumoral y el motivo del diagnóstico. Los pacientes diagnosticados por sintomatología presentaban el tumor en la parte más distal del tracto digestivo.

Por otro lado, al estudiar la relación entre la localización tumoral y el resto de las características histomorfológicas de los tumores incluidos, mostrada en la Tabla 14, se observó que los tumores localizados en el colon derecho tuvieron un diámetro significativamente superior a los presentados en sigma ($p<0,001$). Al mismo tiempo,

Resultados

observamos que el 72,5 % de los tumores moderadamente diferenciados se encontraban situados en el colon distal frente a los tumores pobremente diferenciados que se concentraron en el colon derecho (57,1 %).

Tabla 14: Relación entre la localización de los tumores y las principales características histomorfológicas de los mismos CGA= campos de gran aumento. Sig.= significación estadística.

| | Derecho transverso | Izquierdo | Sigma-recto | Total | Sig. |
|----------------------------------|--------------------|-------------|-------------|-------|-------------------|
| Diámetro tumoral | 4,59 ± 1,98 | 3,79 ± 1,81 | 3,16 ± 1,90 | | < 0,001 |
| Grado histológico | | | | | |
| Bien diferenciado | 9 (40,9 %) | 4 (18,2 %) | 9 (40,9 %) | 22 | 0,05 |
| Moderadamente diferenciado | 33 (27,5 %) | 44 (36,7 %) | 43 (35,8 %) | 120 | |
| Pobremente diferenciado | 12 (57,1 %) | 5 (23,8 %) | 4 (19 %) | 21 | |
| Tumor budding | | | | | |
| Bajo grado (0-4 buds/CGA) | 14 (41,2 %) | 8 (23,5 %) | 12 (35,3 %) | 34 | 0,035 |
| Grado moderado (5-9 buds/CGA) | 9 (45 %) | 3 (15 %) | 8 (40 %) | 20 | |
| Alto grado (>9 buds/CGA) | 32 (34,4 %) | 42 (45,2 %) | 19 (20,4 %) | 93 | |
| Guías recomiendan no cuantificar | 2 (7,4 %) | 1 (3,7 %) | 24 (88,8 %) | 27 | |
| Invasión perineural | | | | | |
| Ausente | 51 (35,7 %) | 41 (28,7 %) | 51 (35,7 %) | 143 | 0,222 |
| Presente | 6 (20 %) | 12 (40 %) | 12 (40 %) | 30 | |
| Ausencia de datos | 0 | 1 (100%) | 0 | 1 | |
| Invasión linfovascular | | | | | |
| Ausente | 48 (33,6 %) | 43 (30,1 %) | 52 (36,4 %) | 143 | 0,913 |
| Presente | 9 (30 %) | 10 (33,3 %) | 11 (36,7 %) | 30 | |
| Ausencia de datos | 0 | 1 (100 %) | 0 | 1 | |
| Extensión tumoral (pT) | | | | | |
| pT1 | 7 (38,9 %) | 3 (16,7 %) | 8 (44,4 %) | 18 | 0,011 |
| pT2 | 9 (20 %) | 12 (26,7 %) | 24 (53,3 %) | 45 | |

Resultados

| | Derecho transverso | Izquierdo | Sigma-recto | Total | Sig. |
|---|--------------------|-------------|-------------|-------|-------|
| pT3 | 27 (31,4 %) | 32 (37,2 %) | 27 (31,4 %) | 86 | |
| pT4 | 14 (56 %) | 7 (28 %) | 4 (16 %) | 25 | |
| Infiltración ganglionar (pN) | | | | | |
| pN0 | 26 (29,2 %) | 29 (32,6 %) | 34 (38,2 %) | 89 | 0,752 |
| pN1 | 17 (34 %) | 16 (32 %) | 17 (34 %) | 50 | |
| pN2 | 14 (42,4 %) | 9 (27,3 %) | 10 (30,3 %) | 33 | |
| Ausencia de datos | 0 | 0 | 2 | 2 | |
| Metástasis a distancia en el momento del diagnóstico | | | | | |
| M0 | 51 (32.1 %) | 49 (30,8 %) | 59 (37,1 %) | 159 | 0,704 |
| M1 | 6 (40 %) | 5 (33,3 %) | 4 (26,7 %) | 15 | |

Asimismo se detectaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la localización tumoral y el tumor budding ($p=0,035$) y como se puede apreciar en el análisis de correspondencias realizado y resumido gráficamente en la Figura 11, el 42 % de los tumores con budding de bajo grado se situaron en el colon derecho-transverso, el 40 % de los tumores con budding de grado intermedio se localizaron en recto-sigma y el 45 % de los tumores con budding de alto grado en colon izquierdo.

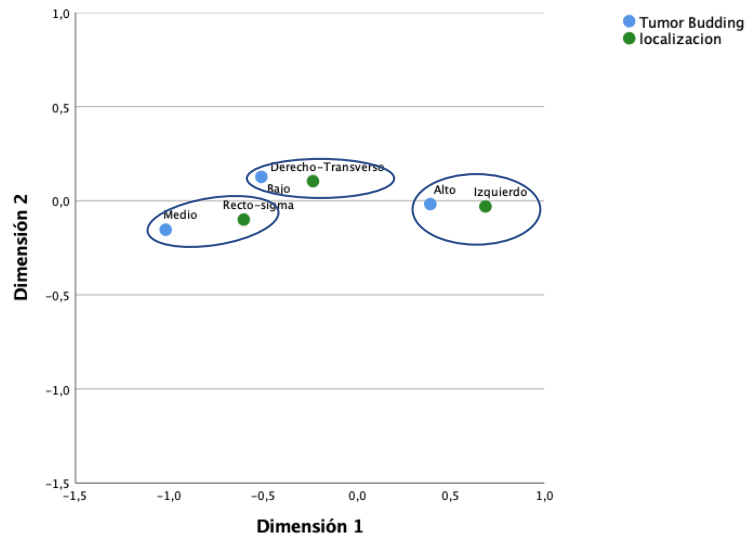


Figura 11: Representación gráfica de las relaciones entre las categorías de las variables localización y tumor budding, encontrándose los tumores de más alto grado en el colon izquierdo

En la Figura 12 se expone la asociación entre la localización y la extensión tumoral (pT), pudiéndose advertir que en recto sigma predominaron los tumores con menor extensión (pT1 y pT2), mientras que aquellos tumores que infiltran la subserosa (pT3) se asociaron con la localización en colon izquierdo y los tumores que alcanzaron la serosa se concentraron en el colon derecho-transverso. Esta asociación alcanzó la significación estadística ($p=0,011$).

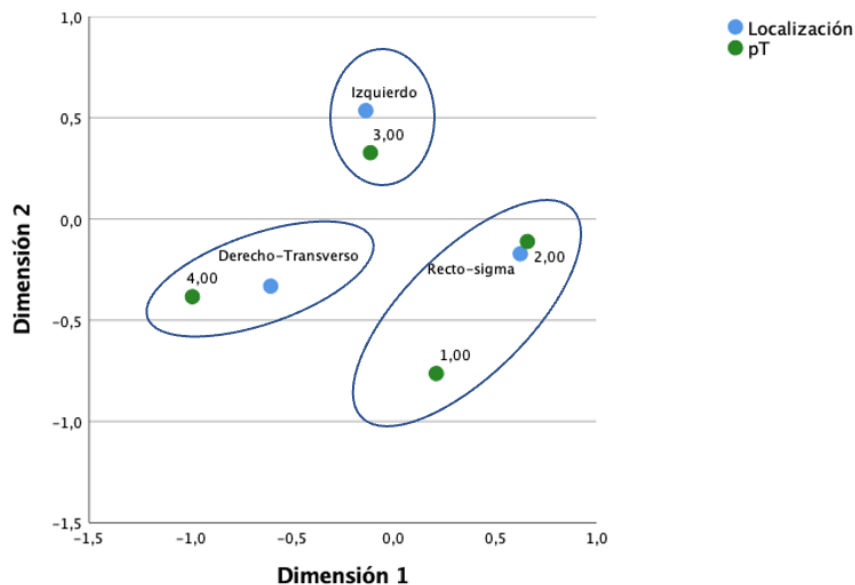


Figura 12: Representación gráfica de las relaciones entre las categorías de las variables localización y la extensión tumoral.

El resto de variables histomorfológicas incluidas en el análisis (grado histológico, invasión de ganglios linfáticos y presencia de metástasis en el momento del diagnóstico) no han mostrado asociación significativa con la localización.

2.2. Tamaño tumoral

Otra de las características incluidas en el informe anatomopatológico es el tamaño tumoral, habiendo sido el diámetro medio en la presente serie de $3,81 \pm 1,9$ cm.

Esta variable se asoció de forma significativa con el motivo del diagnóstico y el Índice de Masa Corporal. Así, al analizar la relación entre el tamaño tumoral y el motivo del diagnóstico, se evidenció que el diámetro del tumor de los pacientes diagnosticados por sintomatología ($4,37 \pm 2,14$ cm) fue significativamente superior ($p < 0,001$) al de aquellos tumores de pacientes procedentes de los programas de cribado ($3,19 \pm 1,39$ cm). Por otro lado, llama la atención que los pacientes con peso normal presentaron tumores con un diámetro ($4,60 \pm 2,04$ cm) significativamente superior al registrado en los pacientes con sobrepeso ($3,55 \pm 1,83$ cm; $p = 0,008$) u obesidad ($3,25 \pm 1,42$ cm; $p = 0,004$).

Al observar la relación de esta característica tumoral con las distintas variables histomorfológicas analizadas, se observó que además de relacionarse significativamente con la localización ($p < 0,001$), también lo hizo con el grado histológico ($p = 0,012$) y la extensión tumoral (pT) ($p < 0,001$).

Respecto al grado histológico, el diámetro del tumor ha sido directamente proporcional al grado de dediferenciación (Figura 13).

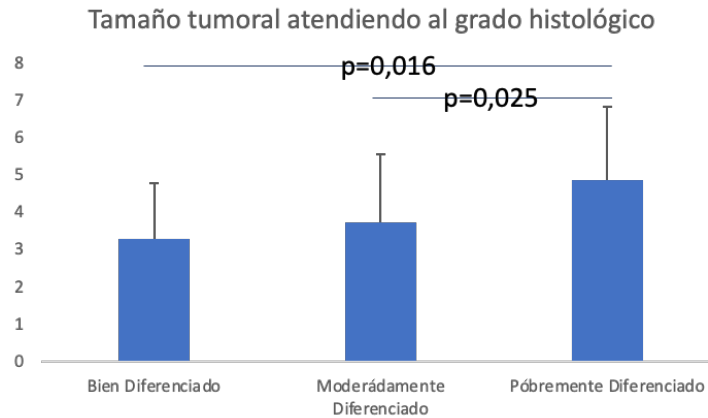


Figura 13: Relación entre el tamaño tumoral (en cm) y el grado de diferenciación tumoral. Puede observarse cómo a mayor tamaño, mayor desdiferenciación.

Por su parte, al analizar la relación entre el diámetro de los tumores incluidos y la extensión tumoral (pT), aunque el tamaño apenas variaba en aquellos tumores que infiltraban la submucosa ($2,55 \pm 1,43$ cm) y la muscular propia ($2,80 \pm 1,34$ cm), éste era prácticamente el doble en aquellos casos en los que presentaron infiltración de la subserosa ($4,15 \pm 1,67$ cm) y serosa ($5,26 \pm 2,42$ cm).

2.3. Grado histológico

En la Tabla 15 se muestra la relación entre el grado histológico (únicamente se dispone de los datos de 163 pacientes) y el resto de variables histomorfométricas analizadas, detectándose que además del tamaño tumoral, las únicas variables con las que se asoció significativamente son el tumor budding ($p= 0,014$) y la extensión tumoral ($p<0,001$).

Resultados

Tabla 15: Relación del grado histológico con el resto de variables histomorfométricas. Sig.: significación estadística.

| | Bien diferenciado | Moderadamente diferenciado | Pobrementemente diferenciado | Total | Sig. |
|--|-------------------|----------------------------|------------------------------|-------|------------------|
| Tumor budding | | | | | |
| Bajo grado | 6 (19,4 %) | 18 (58,1 %) | 7 (22,6 %) | 31 | 0,014 |
| Grado intermedio | 2 (10 %) | 13 (65 %) | 5 (25 %) | 20 | |
| Alto grado | 9 (9,8 %) | 75 (81,5 %) | 8 (8,7 %) | 92 | |
| Guías recomiendan no cuantificar | 5 (25 %) | 14 (70 %) | 1 (5 %) | 20 | |
| Invasión perineural | | | | | |
| No | 21 (15,6 %) | 99 (73,3 %) | 15 (11,1 %) | 135 | 0,091 |
| Sí | 1 (3,7 %) | 20 (74,1 %) | 6 (22,2 %) | 27 | |
| Ausencia de datos | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| Invasión linfovascular | | | | | |
| No | 20 (14,9 %) | 99 (73,9%) | 15 (11,2 %) | 134 | 0,201 |
| Sí | 2 (7,1 %) | 20 (71,4 %) | 6 (21,4 %) | 28 | |
| Ausencia de datos | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| Extensión tumoral (pT) | | | | | |
| pT1 | 8 (50%) | 8 (50 %) | 0 (0 %) | 16 | <0,001 |
| pT2 | 6 (14,3 %) | 35 (83,3 %) | 1 (2,4 %) | 42 | |
| pT3 | 8 (9,8 %) | 60 (73,2 %) | 14 (17,1 %) | 82 | |
| pT4 | 0 (0 %) | 17 (73,9 %) | 6 (26,1 %) | 23 | |
| Infiltración gánglios linfáticos (pN) | | | | | |
| pN0 | 13 (15,5 %) | 62 (73,8 %) | 9 (10,7 %) | 84 | 0,341 |
| pN1 | 6 (13 %) | 35 (76,1 %) | 5 (10,9 %) | 46 | |
| pN2 | 3 (9,7 %) | 21 (67,7 %) | 7 (22,6 %) | 31 | |
| Ausencia de datos | 0 | 2 (100%) | 0 | 2 | |
| TNM (pM) | | | | | |
| M0 | 22 (14,8 %) | 107 (71,8 %) | 20 (13,4 %) | 149 | 0,196 |
| M1 | 0 (0 %) | 13 (92,9 %) | 1 (7,1 %) | 14 | |

El análisis de correspondencias entre el grado histológico y el tumor budding muestra la relación entre los adenocarcinomas bien diferenciados y el budding de bajo grado, los adenocarcinomas moderadamente diferenciados con el budding de alto grado y los tumores pobremente diferenciados con el budding de grado medio (Figura 14).

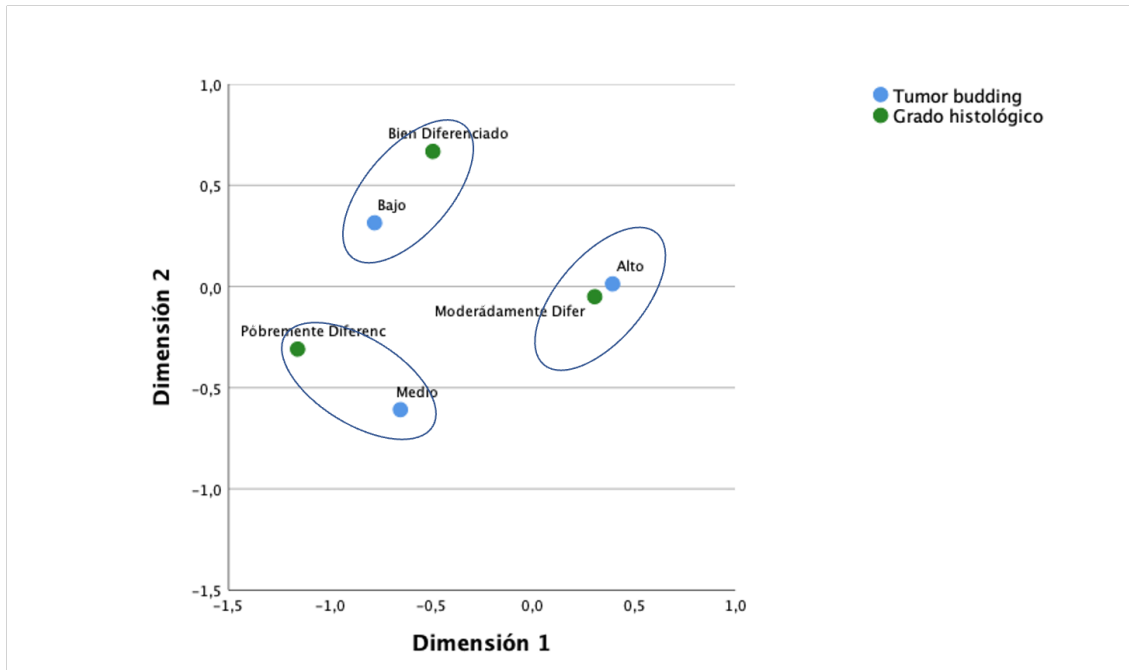


Figura 14: Representación gráfica de las relaciones entre el grado histológico y tumor budding.

Respecto a la relación existente entre el grado histológico y la extensión tumoral, se observó que el 50 % de los tumores pT1 eran bien diferenciados, el 83 % de los pT2 moderadamente diferenciados y el 26 % de los pT4 pobremente diferenciados, alcanzándose la significación estadística ($p < 0,001$).

2.4. Tumor budding

Además de con la localización y el grado histológico, la presencia de tumor budding se relacionó significativamente con la presencia de metástasis ganglionares, observándose que el 76,6 % de los tumores con tumor budding de alto grado asociaban infiltración de ganglios linfáticos peritumorales ($p = 0,032$).

2.5. Invasión perineural

Respecto a la invasión perineural, la única variable con la que se produjo una asociación significativa fue con la extensión tumoral, habiéndose observado que el 83,4 % de los tumores con invasión perineural sobrepasaban la muscular propia, frente al 59,5 % de los tumores sin dicho hallazgo histopatológico ($p < 0,001$).

2.6. Invasión vascular

Al analizar la relación entre la invasión vascular y el resto de variables, se observó una relación significativa ($p < 0,001$) con la invasión perineural, donde el 43% de los tumores con invasión vascular mostraron invasión perineural, mientras que únicamente el 11 % de los casos en los que no se observa invasión vascular se encontró invasión perineural.

También se observó una asociación significativa entre la invasión vascular y la extensión tumoral ($p = 0,008$) detectándose que el 80 % de los tumores con invasión vascular sobrepasaban la pared intestinal (pT3 y pT4).

Asimismo, se detectó asociación estadísticamente significativa ($p < 0,001$) con la infiltración de los ganglios linfáticos peritumorales (pN), evidenciándose que el 66,7 % de los tumores con invasión linfovascular presentaron infiltración ganglionar frente al 42,7 % de los tumores sin invasión linfovascular.

2.7. Extensión tumoral

Al estudiar la relación entre la extensión tumoral y las variables clínico demográficas incluidas se observó una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre la extensión tumoral y el motivo del diagnóstico, donde en el 88% de los tumores que alcanzaron subserosa (pT4) los pacientes habían sido diagnosticados mediante sintomatología frente a 12% diagnosticados mediante cribado u origen hereditario. Asimismo, se pudo observar que el 61 % de los tumores en estadio pT1 habían sido diagnosticados en un programa de cribado frente a 39 % de los pacientes diagnosticados mediante sintomatología.

Respecto a la relación con las características histopatológicas de los tumores incluidos, la extensión tumoral se asoció de forma significativa ($p < 0,001$) con la

localización, grado histológico ($p < 0,001$), invasión vascular ($p = 0,008$) e invasión perineural ($p < 0,001$) como ya se ha mencionado en apartados anteriores.

También se vio asociación significativa con la invasión ganglionar ($p < 0,001$), observándose que el 72 % de los tumores que infiltran serosa (pT4) presentaron infiltración de ganglios linfáticos.

2.8. Invasión ganglionar linfática

Como ya se ha visto en anteriores apartados, la invasión ganglionar linfática se asociaba significativamente con la invasión vascular ($p = 0,017$), la invasión perineural ($p = 0,001$), el tumor budding ($p = 0,032$) y la extensión tumoral ($p < 0,001$).

2.9. Vías de carcinogénesis

Para la determinación de las vías de carcinogénesis se analizaron de manera conjunta los resultados de IHQ de las proteínas reparadoras y de los microsatélites del panel de Bethesda.

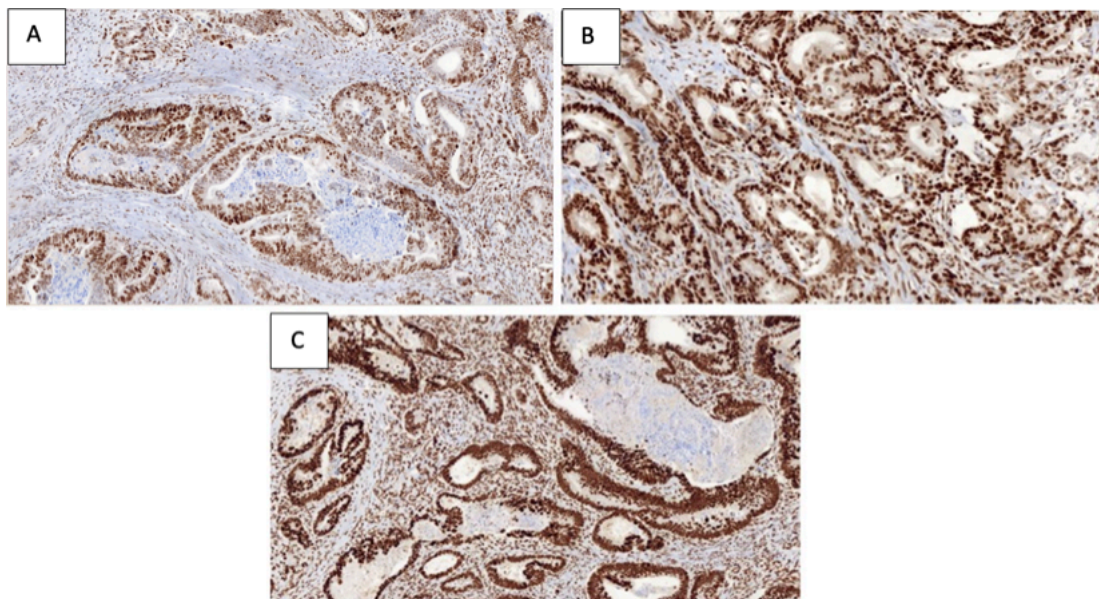


Figura 15: A) MLH1 positivo 9x, B) MSH2 positivo 16,6x, C) MSH6 positivo 8,1x.

En cuanto a la inmunotinción de las proteínas reparadoras se pudo observar positividad intacta para MLH1, MSH2 y MSH6 en 147 tumores (84,5 %). En la Figura 15 se muestran casos con tinción positiva para dichas proteínas reparadoras. En 110 de estos tumores se identificó pérdida de heterocigosidad (LOH) para alguno de los tres marcadores dinucleotídicos, lo que sugiere que la vía de carcinogénesis es la de

Resultados

inestabilidad cromosómica. Dos de ellos (1,4 %) presentaron inestabilidad de microsatélites (Tabla 16).

Tabla 16: Resultados de la correlación entre la inmunohistoquímica para MLH1, MSH2 y MSH6 y los resultados del análisis de microsatélites. INC: vía de inestabilidad cromosómica, IMS: vía de inestabilidad de microsatélites.

| Vías de carcinogénesis | Tinción intacta | Tinción heterogénea | | Ausencia de tinción | | Total |
|------------------------|-------------------|---------------------|------|---------------------|-----------|-------|
| | MLH1, MSH2 y MSH6 | MLH1 | MLH1 | MSH6 | MSH6+MSH2 | |
| No determinada | 35 | 2 | 0 | 0 | 0 | 37 |
| INC | 110 | 10 | 0 | 0 | 0 | 120 |
| IMS | 2 | 2 | 3 | 1 | 3 | 11 |
| Serrada | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 | 6 |
| | 147 | 16 | 7 | 1 | 3 | 174 |

Profundizando en la inmunotinción para PMS2, en la Tabla 17 podemos ver la relación entre la tinción PMS2 y la vía de carcinogénesis. Un 76,2 % de los casos presentaron positividad intacta, estando un 75 % de estos tumores producidos por la vía de inestabilidad cromosómica.

Tabla 17: Relación entre vía carcinogénesis y heterogeneidad de la tinción para PMS2. INC= inestabilidad cromosómica, IMS= inestabilidad de microsatélites.

| Vía de carcinogénesis | Tinción intacta | Tinción heterogénea | Ausencia de tinción | Total |
|-----------------------|-----------------|---------------------|---------------------|-------|
| No determinada | 25 | 11 | 1 | 37 |
| INC | 84 | 33 | 3 | 120 |
| IMS | 2 | 3 | 6 | 11 |
| Serrada | 1 | 0 | 5 | 6 |
| | 112 | 47 | 15 | 174 |

Un 9,2 % y casi un 30 % de los casos que presentaron tinción heterogénea fueron para MLH1 y PMS2, respectivamente. En 12 de los pacientes el mismo tumor presentó heterogeneidad en la tinción de ambos marcadores. Si bien en 11 casos que fueron heterogéneos para MLH1 o PMS2, los resultados del estudio de microsatélites no contribuyeron a la resolución de la vía de carcinogénesis, la mayoría pudieron resolverse, confirmándose que casi el 70 % se habían producido a través de la vía de inestabilidad cromosómica, mientras que en un pequeño porcentaje lo hacían mediante la vía serrada o la de inestabilidad de microsatélites. En la Figura 16 podemos observar la diferencia a nivel histológico entre un caso con tinción intacta para MSH6 y un caso con heterogeneidad para MLH1 en un mismo tumor.

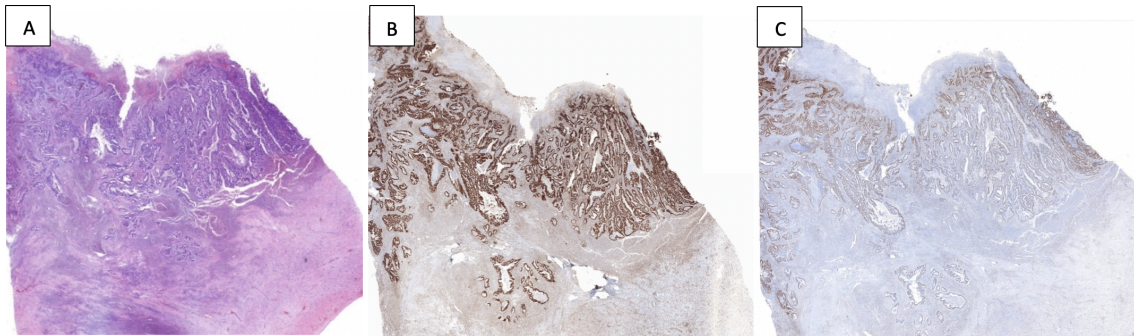


Figura 16: A) HE 0,5 x, B) MSH6 positivo 0,5 x C) MLH1 heterogéneo 0,5 x.

En 19 casos hay pérdida de expresión nuclear para una o más proteínas reparadoras, concretamente se detectó pérdida de expresión conjunta para MLH1 y PMS2 en 7 casos (4 %), pérdida conjunta de MSH2 y MSH6 en 3 casos (1,7 %), pérdida de MSH6 en 1 único tumor (0,6 %) y pérdida de PMS2 en 8 casos (4,6 %).

De los 7 casos con pérdida de expresión de MLH1 y PMS2, dos presentaron mutación en *BRAF*, y en dos casos se detectó hipermetilación de *MLH1*. Por tanto, en estos cuatro casos la carcinogénesis fue mediante la vía serrada. De los 8 casos con ausencia de tinción para PMS2, en uno no pudo determinarse la vía, 3 se produjeron por la vía de inestabilidad cromosómica, otros tres por la vía de inestabilidad de microsatélites y uno por la vía serrada.

En resumen, en el 69 % de los casos (120/174) la carcinogénesis se produjo mediante la vía de inestabilidad cromosómica, en un 6,3 % (11/174) por la de inestabilidad de microsatélites y 3,4 % (6/174) siguen la vía serrada. En un 21,3 % (37/174) no se pudo determinar la vía de carcinogénesis.

La vía de carcinogénesis no mostró relación significativa con el sexo ($p=0,817$) ni con la edad ($p=0,774$) de los pacientes. Tampoco se observó asociación significativa con el motivo del diagnóstico ($p=0,401$). Sin embargo, tal y como se recoge en la Tabla 18, el 64,9 % de los tumores en los que no se pudo identificar la vía de carcinogénesis y el 73,3 % de aquellos derivados de la inestabilidad cromosómica se situaron en el colon izquierdo/recto-sigma, mientras que en el colon derecho predominaron aquellos secundarios a la inestabilidad de microsatélites (63,6 %) y a la vía serrada (83,3 %).

Tabla 18: Relación entre la vía de carcinogénesis y la localización de los tumores.

| vía carcinogénesis | Localización | | | | Sig. |
|-----------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | Derecho-Transverso | Izquierdo | Recto-sigma | Total | |
| No determinada | 13 (35,1 %) | 5 (13,5 %) | 19 (51,4 %) | 37 (100 %) | 0,003 |
| INC | 32 (26,7 %) | 46 (38,3 %) | 42 (35,0 %) | 120 (100 %) | |
| IMS | 7 (63,6 %) | 3 (27,3 %) | 1 (9,1 %) | 11 (100 %) | |
| Serrada | 5 (83,3 %) | 0 (0 %) | 1 (16,7 %) | 6 (100 %) | |

Por otro lado, se observó que los tumores de la vía serrada tuvieron en el momento del diagnóstico un diámetro de $6,1 \pm 2,0$ cm, significativamente superior ($p=0,042$) al registrado en el resto de vías de carcinogénesis (IMS: $4,6 \pm 2,5$ cm; INC: $3,7 \pm 1,8$ cm; No determinado: $3,5 \pm 1,8$ cm).

No se observaron diferencias significativas entre las diferentes vías de carcinogénesis para el budding tumoral, la invasión linfovascular, la invasión perineural, la extensión tumoral y la infiltración de ganglios linfáticos. Sin embargo, si bien la mayoría de tumores (73,6 %) fueron moderadamente diferenciados, independientemente de la vía de carcinogénesis, el 40 % de los tumores de la vía serrada fueron pobremente diferenciados (Tabla 19).

Tabla 19: Relación entre la vía de carcinogénesis y el grado histológico.

| Vía carcinogénesis | Grado histológico | | |
|-----------------------|-------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Bien Diferenciado | Moderadamente Diferenciado | Pobrememente Diferenciado |
| No determinada | 10 (30,3 %) | 21 (63,6 %) | 2 (6,1 %) |
| INC | 11 (9,5 %) | 90 (77,6 %) | 15 (12,9 %) |
| IMS | 0 | 7 (77,8 %) | 2 (22,2 %) |
| Serrada | 1 (20,0 %) | 2 (40,0 %) | 2 (40,0 %) |
| Total (163) | 22 (13,5 %) | 120 (73,6 %) | 21 (12,9 %) |

2.10. Otros marcadores inmunohistoquímicos

2.10.1. CDX2

Para la cuantificación de la expresión de la CDX2, se empleó el H-Score (índice resultante de relacionar la extensión de la positividad y la intensidad de dicha tinción). El H-Score medio para este marcador fue de $231,67 \pm 51,01$.

Al analizar relación existente entre la expresión de CDX2 H-Score y los distintos factores clínico demográficos, se observó una relación significativa con el motivo de diagnóstico dado que los tumores de los pacientes diagnosticados por sintomatología mostraron valores de CDX2 significativamente superiores a los registrados en los tumores de los pacientes incluidos en un plan de cribado ($240,25 \pm 45,38$ frente a $222,9 \pm 55,09$; $p=0,024$).

El análisis de las relaciones de la expresión de CDX2 H-Score con las características histomorfológicas reveló que los tumores situados en el colon derecho-transverso presentaron un H-Score significativamente inferior a los registrados en el colon izquierdo ($216,8 \pm 61,43$ vs $246,77 \pm 35,03$; $p=0,024$).

Esta variable también mostró una relación estadísticamente significativa con el grado histológico ($p=0,046$), observándose que los tumores pobrememente diferenciados mostraron un H-Score inferior a aquellos moderadamente y bien diferenciados, siendo estos resultados estadísticamente significativos (Figura 17).

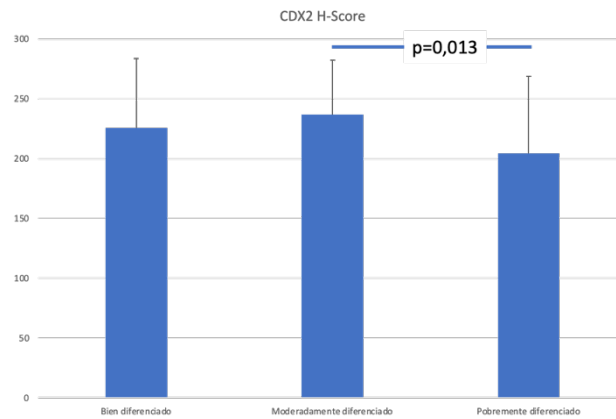


Figura 17: Relación entre el CDX2 H-Score y el grado histológico.

La relación entre el CDX2 H-Score y el resto de variables histomorfológicas estudiadas no alcanzó la significación estadística: tamaño tumoral ($p=0,171$), tumor budding ($p=0,121$), invasión linfovascular ($0,986$), invasión perineural ($p=0,871$), extensión tumoral ($p=0,139$) o afectación linfática ($p=0,463$). Esta ausencia de asociación se mantuvo con las proteínas reparadoras: MLH1 ($p=0,339$), PMS2 ($p=0,107$), MSH2 ($p=0,685$) y MSH6 ($p=0,685$).

2.10.2. p53

Para el análisis de la expresión de la p53 también se empleó el H-Score, siendo el valor medio en este caso de $113,67 \pm 96,44$.

Respecto a la potencial relación de este índice inmunohistoquímico con las variables clínico demográficas incluidas en el estudio, el H-Score para p53 no mostró asociación significativa con el sexo ($p=0,964$), edad ($p=0,069$), o motivo del diagnóstico ($p=0,447$).

Sin embargo, al evaluar la relación entre este H-Score con las variables histomorfológicas, se detectó una correlación significativa con el tamaño tumoral ($p=0,016$), evidenciándose que el grado de expresión inmunohistoquímica disminuía según aumentaba el tamaño del tumor (Figura 18).

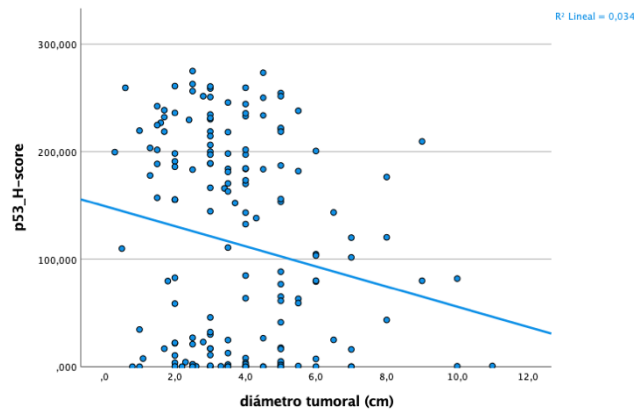


Figura 18: Diagrama de dispersión para el p53 H-score por el tamaño tumoral (en cm).

No se alcanzó la significación estadística para el resto de las variables: localización ($p=0,414$), grado histológico ($p=0,596$), invasión perineural ($p=0,412$), invasión linfovascular ($p=0,820$), tumor budding ($p=0,665$), extensión tumoral ($p=0,550$), y presencia de infiltración en ganglios linfáticos ($p=0,926$).

Por otra parte, se pudo realizar el estudio genético completo de los exones de interés de *TP53* en 167 tumores. En 5 casos se analizaron todos los exones a excepción del 6. Y en los dos casos restantes no se pudo realizar la técnica.

Se identificó la presencia de mutación en 65 casos (38,9 %), siendo *missense* en 49 tumores (75,4 %), *nonsense* en 9 tumores (13,8 %), de *splicing* en 4 tumores (6,2 %), *frameshift* en 2 casos (3,1 %) y en un caso se identificó una doble mutación con una variante *missense* y la otra *nonsense* (1,5 %).

Al analizar la posible asociación entre la expresión IHQ de la proteína p53 y el tipo de mutación identificada en *TP53*, se evidenció la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p<0,001$) entre la expresión de p53 obtenido por la IHQ medida como score H-index y el tipo de mutación identificado (Figura 19). Así, la presencia de un cambio de aminoácido (variante *missense*) se relaciona con alta intensidad en la tinción mientras que las variantes que generan proteína truncada (*nonsense*, *frameshift* o *splicing*) se relacionan con ausencia de tinción.

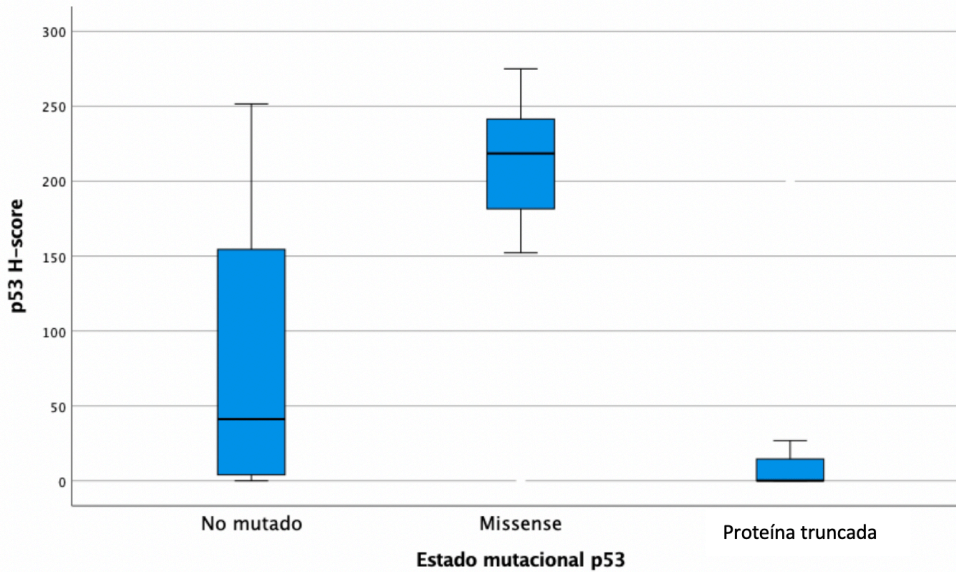


Figura 19: Asociación entre el tipo de mutación identificado en TP53 y la expresión IHQ de la proteína p53 .

Por otro lado, no se encontró asociación significativa con el tipo de mutación en TP53 y ninguna de las variables histomorfológicas analizadas: localización ($p=0,914$), tamaño tumoral ($p=0,965$), grado histológico ($p=0,391$), tumor budding ($p=0,419$), invasión vascular ($p=0,507$), invasión perineural ($0,654$), extensión tumoral ($p=0,222$), e infiltración ganglionar linfática ($p= 0,080$).

3. Relación entre las variables inmunohistopatológicas y la evolución tumoral en términos de supervivencia.

Como se puede observar en la Tabla 20, los análisis de supervivencia realizados mediante la prueba de Kaplan Meier revelaron que la extensión tumoral, el tumor budding, la invasión perineural y la infiltración de ganglios linfáticos fueron las únicas variables relacionadas con la evolución tumoral en términos de supervivencia global. El parámetro “tumor budding” se ha dicotomizado en bajo grado (budding 1 y 2) y alto grado (budding 3), según publicaciones previas³⁶².

Resultados

Tabla 20: Tiempo medio de supervivencia estimado en días para las variables histomorfológicas estudiadas.

| | Tiempo estimado medio de seguimiento (días) | sig. |
|-------------------------------------|---|--------|
| Localización | | |
| Derecho-transverso | 2682,33 ± 1 38,47 | 0,453 |
| Izquierdo | 2834,86 ± 119,02 | |
| Recto-sigma | 2644,32 ± 134,45 | |
| Diámetro tumoral (cm) | | |
| <2,5 | 2758,27 ± 152,20 | 0,353 |
| 2,5-3,49 | 2496,36 ± 207,28 | |
| 3,50 - 4,99 | 2377,18 ± 194,14 | |
| >= 5 | 2392,83 ± 191,36 | |
| Extensión tumoral | | |
| pT1 | 2862,69 ± 172,43 | <0,001 |
| pT2 | 2908,04 ± 111,36 | |
| pT3 | 2836,67 ± 107,46 | |
| pT4 | 1864,49 ± 227,29 | |
| Tumor budding | | |
| Medio/bajo grado | 3043,35 ± 85,36 | 0,003 |
| Alto grado | 2673,49 ± 115,35 | |
| Invasión perineural | | |
| No | 2924,86 ± 78,06 | <0,001 |
| Si | 1942,54 ± 202,82 | |
| Invasión linfovascular | | |
| No | 2807,85 ± 87,47 | 0,149 |
| Si | 2505,89±183,24 | |
| Invasión ganglios linfáticos | | |
| pN0 | 3100,84 ± 73,17 | <0,001 |
| pN1 | 2465,32 ± 163,86 | |
| pN2 | 1978,03 ± 205,68 | |

Respecto a la extensión tumoral (Figura 20), aquellos pacientes en los que los tumores infiltraban la serosa presentaron un tiempo de supervivencia significativamente inferior a aquellos en los que no se objetivó dicha invasión.

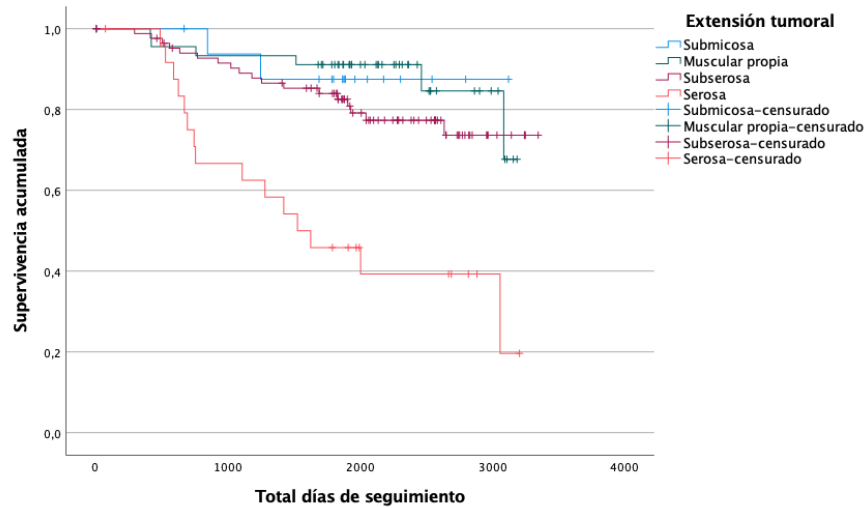


Figura 20: Curva de supervivencia global atendida a la extensión tumoral. (Los valores censurados, se refieren al día en el que se produjo un fallecimiento).

Asimismo, otro factor directamente relacionado con la supervivencia global fue la afectación de los ganglios linfáticos, observándose tiempos de supervivencia significativamente inferiores ($p < 0,001$) en aquellos pacientes con metástasis ganglionares respecto a aquellos en los que no se produce dicha afectación.

La distribución de la recidiva se relacionó directamente con el estadio tumoral previo como se muestra en la Tabla 21, en la que se puede observar que el 76 % de los pacientes que recayeron mostraban infiltración de los ganglios linfáticos en el área peritumoral (Estadios 3 y 4).

Resultados

Tabla 21: Relación entre la recidiva y el estadio tumoral.

| | | Estadio | | | | | Total | Significación |
|----------------|----|-------------|-------------|-------------|------------|----------------|------------------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | | | |
| Recaída | No | 42 (33,1 %) | 34 (26,8 %) | 43 (33,9 %) | 8 (6,3 %) | 127 | <0,001 | |
| | Sí | 5 (10,6 %) | 6 (12,8 %) | 29 (61,7 %) | 7 (14,9 %) | | | 47 |
| Total | | 47 (27 %) | 40 (23 %) | 72 (41,4 %) | 15 (8,6 %) | 174 (100 %) | | |

De hecho, al determinar el tiempo estimado hasta la recidiva mediante un análisis de supervivencia, se determinó que éste era significativamente inferior ($p < 0,01$) en pacientes con tumores en los estadios 3 y 4 respecto a los calculados para los estadios 1 y 2 (Figura 21).

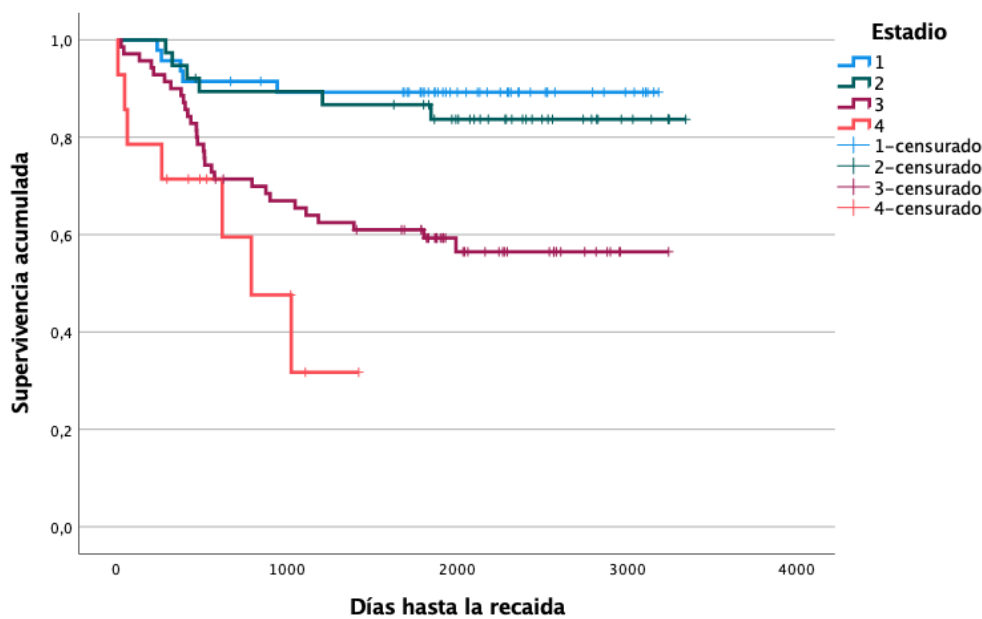


Figura 21: Curva de supervivencia (tiempo libre de recidiva) atendida al estadio tumoral. Cuanto menor es el estadio tumoral, mayor es la supervivencia. (Los valores censurados, se refieren al día en el que se produjo un fallecimiento).

Estos resultados se relacionaban directamente con las otras dos variables en las que se ha registrado relación con la evolución tumoral: tumor budding e invasión perineural.

Como se puede observar en la Tabla 22 tanto el tumor budding como la invasión perineural se revelaron como factores de riesgo independientes de afectación ganglionar. De hecho, el que un tumor presentara tumor budding de alto grado aumentaría 2,6 veces la probabilidad de que se produzca infiltración ganglionar respecto a aquellos casos en los que el tumor budding fuera de bajo grado o grado intermedio. Igualmente, esta probabilidad sería 3,8 veces superior en aquellos tumores que mostraran invasión perineural respecto a los que no la presentaran. El resto de los factores incluidos (localización, tamaño tumoral, grado histológico e invasión linfovascular) no alcanzaron la significación estadística.

Tabla 22: Modelo de regresión logística que incluye las distintas variables histomorfológicas incluidas en el estudio como potenciales factores de riesgo de infiltración ganglionar linfática. Sig.= significación, OR= odds ratio, CI= intervalo de confianza.

| | Sig. | OR | 95% C.I. para OR | |
|---------------------------------|--------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Localización | 0,417 | | | |
| Diámetro tumoral | 0,913 | 1,012 | 0,815 | 1,258 |
| Grado histológico | 0,385 | | | |
| Tumor budding alto grado | 0,026 | 2,632 | 1,12 | 6,186 |
| Invasión perineural | 0,028 | 3,815 | 1,16 | 12,549 |
| Invasión linfovascular | 0,195 | 1,98 | 0,705 | 5,561 |

Sin embargo, al incluir todas las variables histológicas en un modelo de regresión de COX (Tabla 23) únicamente el tumor budding, la extensión tumoral y la existencia de infiltración ganglionar linfática influían de forma significativa sobre el tiempo de supervivencia. Respecto a la extensión tumoral, se dividió en bajo riesgo (pT1-pT3) y alto riesgo (pT4), debido a que estudios previos señalaban que si bien no se observaba efecto de pT1-pT3 sobre el pronóstico, pT4 se consideraba un marcador de mal pronóstico *per se*³⁶³.

Resultados

Tabla 23: Factores de riesgo independientes de supervivencia global (regresión de Cox). Sig.= significación, OR= Odds ratio, CI= intervalo de confianza.

| | Sig. | OR | 95,0% CI para OR | |
|---|--------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Tumor Budding (Alto grado) | 0,027 | 3,055 | 1,138 | 8,197 |
| Extensión tumoral (pT4) | 0,005 | 3,085 | 1,416 | 6,722 |
| Infiltración ganglios linfáticos | 0,004 | 3,738 | 1,532 | 9,122 |

En la Figura 22 se muestran las curvas de supervivencia para las variables con efecto en la misma.

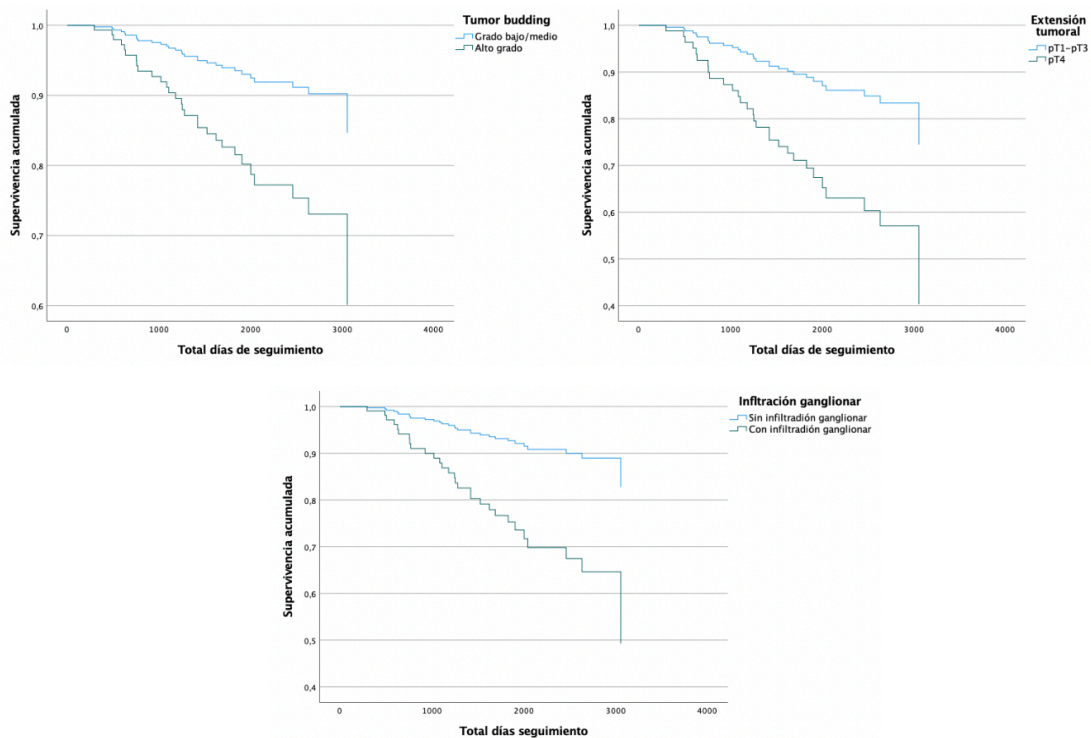


Figura 22: Curvas de supervivencia de variables que se relacionan significativamente con la evolución tumoral en términos de supervivencia global.

Asimismo, se ha investigado la relación de las diferentes variables histológicas incluidas en el presente estudio con la probabilidad de recidiva, incluyendo los 169 los pacientes a los que se realizó un seguimiento.

De las variables analizadas únicamente la invasión perineural, la infiltración de ganglios linfáticos y el CDX2 H-Score se revelaron como factores independientes de riesgo de recidiva. Como se muestra en la Tabla 24, atendiendo al modelo de regresión generado, aquellos pacientes cuyos tumores presentaban invasión perineural tenían una probabilidad 3 veces mayor de tener recidiva que aquellos sin invasión. Asimismo, la probabilidad de recidiva era 2,5 veces mayor en aquellos pacientes con infiltración ganglionar linfática respecto a los que no presentaron metástasis ganglionares. Por último, por cada unidad que aumenta el CDX2 H-Score, la probabilidad de recidiva disminuía en 0,992 puntos, es decir, a mayor intensidad y extensión de la tinción, menor era la probabilidad de recidiva.

Tabla 24: Factores de riesgo independientes de recidiva tumoral en términos de supervivencia (regresión de Cox).

Sig. = significación, *OR*= Odds ratio, *CI*= intervalo de confianza.

| | Sig. | OR | 95,0% CI para OR | |
|---|--------------|-------|------------------|----------|
| | | | Inferior | Superior |
| Invasión perineural | 0,001 | 2,996 | 1,553 | 5,778 |
| Infiltración ganglios linfáticos | 0,007 | 2,564 | 1,3 | 5,06 |
| CDX2 H-Score | 0,002 | 0,992 | 0,987 | 0,997 |

Concretamente, los pacientes cuyos tumores presentaban un CDX2 H-Score menor o igual a 152 puntos tuvieron un tiempo libre de recidiva significativamente inferior a aquellos con un H-Score superior a este umbral ($1517,30 \pm 410,01$ días vs $2609,47 \pm 99,90$ días; $p=0,017$). Estas diferencias se muestran en la Figura 23.

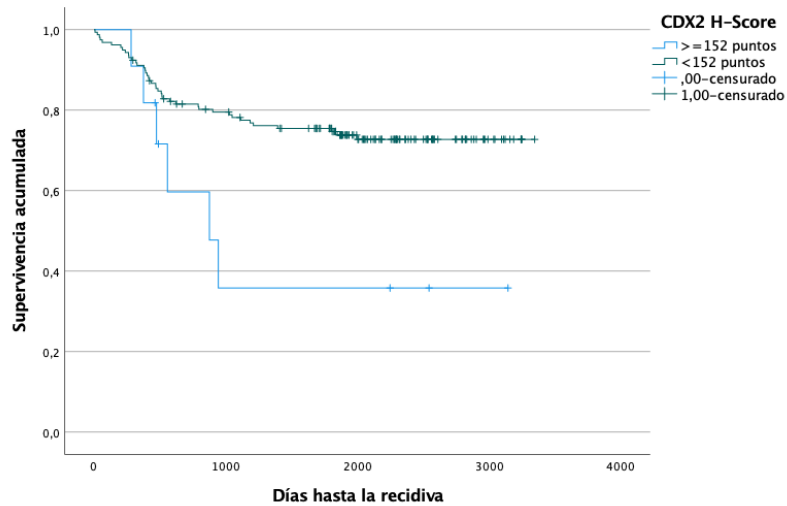


Figura 23: Curva de supervivencia atendiendo al CDX2.

Por su parte, en los análisis de supervivencia realizados no se encontraron diferencias significativas en función de las vías de carcinogénesis ($p=0,446$) ni al determinar los tiempos transcurridos hasta la recurrencia, ni en los tiempos de supervivencia global ($p=0,085$).

Asimismo, como podemos ver en la Tabla 25 y Figura 24 el tipo de mutación en TP53 tampoco jugó un papel en los tiempos hasta la recidiva o de supervivencia global.

Tabla 25: Tiempo hasta recidiva en función de mutación de p53.

| Medias para el tiempo de supervivencia hasta recidiva | | | | | Sig. |
|---|------------|-------------|--------------------------------|-----------------|-------|
| | Estimación | Desv. Error | Intervalo de confianza de 95 % | | |
| | | | Límite inferior | Límite superior | |
| No mutado | 2589,445 | 120,176 | 2353,899 | 2824,99 | 0,861 |
| Missense | 2574,029 | 176,612 | 2227,87 | 2920,188 | |
| Proteína truncada | 1954,733 | 270,501 | 1424,552 | 2484,915 | |
| Global | 2621,707 | 98,354 | 2428,933 | 2814,48 | |

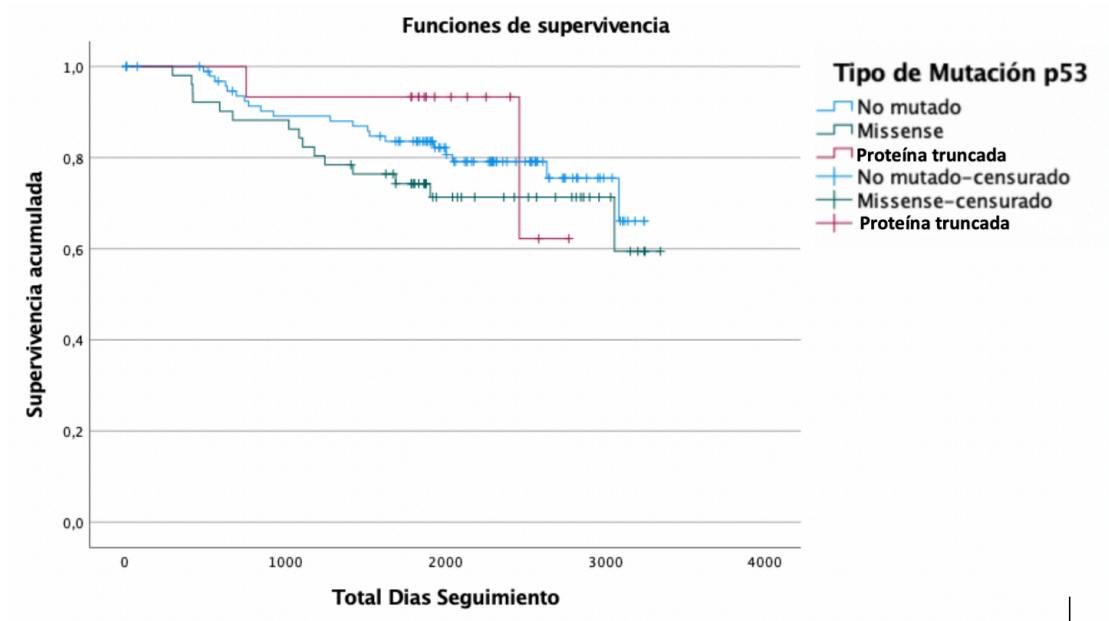
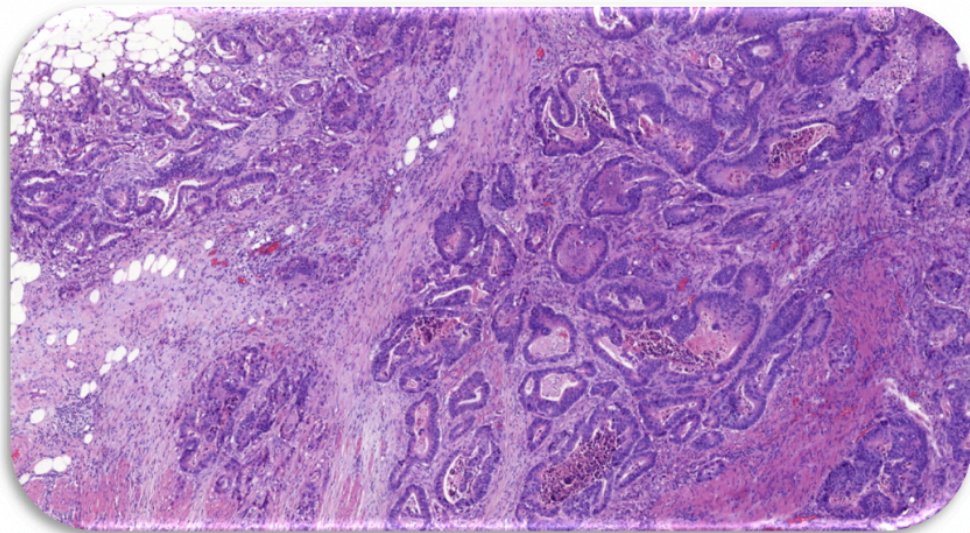
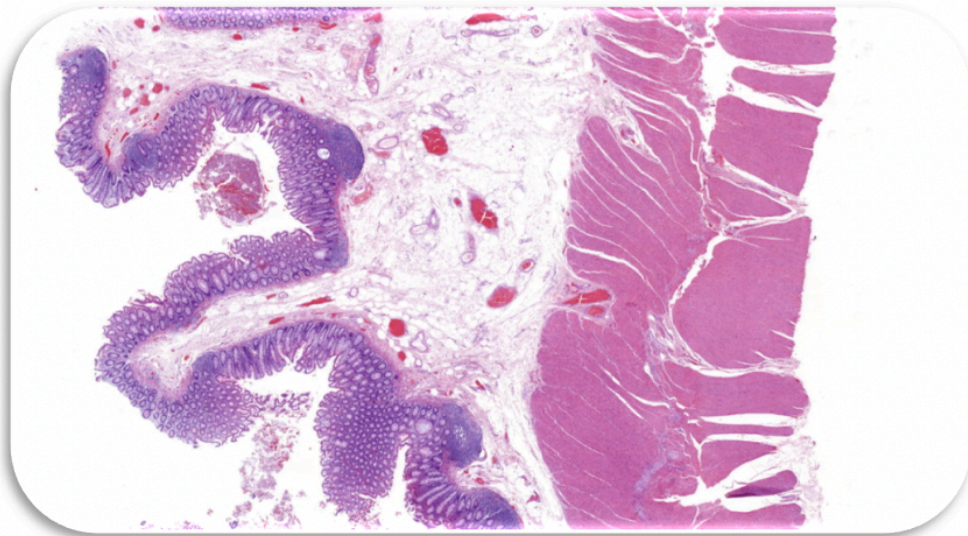


Figura 24: Función de supervivencia global para la mutación de p53.

6. DISCUSIÓN



1. Diagnóstico clínico y anatomopatológico

El cáncer es una enfermedad en la que las células de cualquier órgano se reproducen de forma descontrolada, al perderse los mecanismos de control del ciclo celular. Ello ocasiona una proliferación de células atípicas, que crece en el órgano huésped, pudiendo llegar a invadir órganos vecinos y denominándose dicho proceso metástasis¹.

Se denomina cáncer colorrectal (CCR) cuando la proliferación de células atípicas está presente en el colon y/o recto².

El CCR es una patología con una alta incidencia y mortalidad en países desarrollados, siendo el adenocarcinoma de colon el tipo histológico más frecuente, con una frecuencia del 90 % sobre el total de tumores colorrectales²⁹⁹. En el año 2018, el Globocan publicaba los datos de incidencia para CCR, siendo el tercero en incidencia y quinto en mortalidad.

La incidencia tan elevada de CCR en los países desarrollados planteó la necesidad de diseñar programas de cribado^{4,218}. Dichos programas consisten en realizar de manera anual o bianual un test para detectar la presencia de sangre oculta en heces. Esta prueba se realiza entre los 50-70 años, habiendo demostrado reducir significativamente la incidencia y la mortalidad^{219,364,373,365-372} del CCR. Profundizando en números de estos dos parámetros, algunos autores reportan descensos de hasta un 33 y un 43 %, respectivamente^{219,365,367,369,372}.

Por tanto, la participación en el programa de cribado puede emplearse como método diagnóstico y terapéutico²⁶⁰. Además, se asocia con un diagnóstico en estadios más precoces^{374,375} y con ello, tumores de menores dimensiones³⁷⁶, como hemos visto en nuestra serie. Para apreciar estas mejoras es importante conocer algunos términos del ámbito de anatomía patológica. El estadiaje patológico *Tumor-Node-Metastasis* (TNM) es un sistema estandarizado, desarrollado en 1957, y actualizado regularmente, por la *American Joint Comitee on Cancer (AJCC)*^{252,253} con el objetivo de unificar el diagnóstico, manejo y establecer el pronóstico del paciente oncológico a nivel mundial^{252,254}. Este sistema describe una serie de parámetros entre los que se encuentran: profundidad de invasión tumoral (pT), número de ganglios linfáticos

afectados (pN) y si hay otros órganos implicados (pM)²⁵². En nuestra serie, el 61 % de los tumores en estadio pT1, los menos agresivos, habían sido diagnosticados gracias a los programas de cribado frente al 39 % de los pacientes diagnosticados mediante sintomatología. Por otro lado el 88 % de los tumores que alcanzaron la subserosa, los más agresivos (pT4), fueron diagnosticados mediante sintomatología frente a 12 % diagnosticados mediante cribado poblacional u origen hereditario. Además, el diámetro del tumor era significativamente menor en los pacientes diagnosticados por cribado, con un tamaño de $3,19 \pm 1,39$ cm, frente a los diagnosticados por síntomas, que presentaban un tamaño de $4,37 \pm 2,14$ cm. Y, en cuanto a las implicaciones a largo plazo, mientras un 50 % de los pacientes diagnosticados por síntomas estaban vivos tras 5 años de seguimiento, esta cifra ascendía al 80 % en el grupo de pacientes diagnosticados por cribado. El motivo de diagnóstico ha sido un factor de riesgo independiente de recidiva tumoral frente a otras variables clínico-demográficas (como sexo, IMC o edad). Estos resultados son muy similares a los publicados por Pande *et al*³⁷⁴, donde describían una supervivencia a 5 años del 78 % en aquellos pacientes diagnosticados por cribado frente a un 51 % en aquellos diagnosticados por síntomas. Además, concluyeron que la mejor supervivencia en el grupo de cribado probablemente se debiese a que éstos tenían un menor estadio tumoral al diagnóstico, tal y como hemos observado en nuestra muestra. Es decir, la participación en programas de cribado conlleva un diagnóstico más precoz, siendo por ello el responsable de mejores resultados de supervivencia.

Es importante resaltar que los pacientes diagnosticados por síntomas tenían edades significativamente inferiores ($p=0,009$) en comparación a aquellos diagnosticados por cribado, teniendo además peores tiempos de supervivencia ($p=0,001$). Hay que destacar que 15 (16,8 %) de los pacientes diagnosticados por síntomas, no podrían haber participado en el programa de cribado al desarrollar el tumor a una edad inferior a 50 años. Además, de la población susceptible de participar en el cribado de nuestra serie, 74 pacientes no fueron diagnosticados mediante este programa, sino por sintomatología, lo que nos lleva a pensar en la importancia de una mejora en las campañas de información de los programas de cribado, así como en la necesidad de modificar los criterios de inclusión, como ya se viene defendiendo en diferentes artículos³⁷⁷⁻³⁷⁹. Concretamente, viendo que la incidencia de CCR está

cambiando en los países desarrollados y que este cambio está siendo más pronunciado en pacientes menores de 50 años, recientemente se ha propuesto la necesidad de establecer nuevos criterios de inclusión para adaptarse a estos cambios. En esta línea, un estudio llevado a cabo por Gausman *et al*³⁷⁷, describía que el 40 % de los pacientes diagnosticados de CCR se encontraban entre los 40-49 años, lo que unido a que la incidencia estimada en menores de 50 años se duplicará en los próximos años, hace que estos autores consideren la importancia de identificar a aquellas personas menores de 50 años con un mayor riesgo de CCR como pueden ser pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, con antecedentes familiares y/o sexo varón, entre otros, para poder ser incluidos en un programa de cribado^{377,380}. Tanto es así que la Sociedad Americana de Oncología ya ha recomendado reducir la edad de inclusión al cribado a los 45 años³⁷⁷⁻³⁷⁹.

De hecho, al igual que en nuestra muestra, en la que la gente más joven mostraba tiempos de supervivencia significativamente inferiores, múltiples estudios afirman que el CCR en personas menores de 50 años suele ser de mayor grado que en personas mayores, atribuyendo esta diferencia a factores biológicos (histología mucinosa o en anillo de sello y peor diferenciación) aunque se necesitan más estudios para alcanzar resultados más concluyentes^{377,381-383}.

Por otra parte, se ha visto que el riesgo-beneficio de seguir con los cribados más allá de los 75 años es cuestionable. García-Albéniz *et al*³⁸⁴ publicaron un artículo en 2016, afirmando que en aquellos pacientes mayores de 75 años, la realización de una colonoscopia de control o tras una prueba de sangre oculta en heces positiva, reducía la mortalidad un 0,2 %, siendo superior la morbilidad que podía acontecer tras la realización de la prueba (perforación, sangrado digestivo, íleo paralítico, arritmias...) a los posibles beneficios.

Desglosando los datos de Globocan por sexo, éstos mostraban que el CCR era un 11 % más frecuente en hombres que en mujeres⁴, siendo estos resultados muy similares a los observados en nuestra cohorte, donde hemos obtenido unos resultados estadísticamente significativos ($p=0,028$) con un 17,2 % más de hombres. Son varias las hipótesis que intentan explicar esta diferencia en la incidencia en ambos sexos.

Por una parte, se baraja la diferencia hormonal que existe entre hombres y mujeres. Como es conocido, las mujeres tienen valores más elevados de estrógenos y menores niveles de testosterona. Diferentes autores han propuesto que las hormonas femeninas y la terapia hormonal sustitutiva tienen un efecto protector en el desarrollo de CCR³⁸⁵⁻³⁹⁴ ya que las mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas en tratamiento con terapia hormonal sustitutiva tienen menor incidencia en CCR comparado con hombres de su misma edad^{386,395}. Incluso algunos autores afirman que los hombres menores de 50 años tienen el doble de riesgo que una mujer de su misma edad de padecer un CCR³⁹⁵⁻³⁹⁷. A estas edades, las mujeres suelen ser hormonalmente activas y por ello estarían “protegidas”. Sin embargo, un metaanálisis publicado recientemente por Mori *et al*³⁹⁸ describió que existía una evidencia limitada entre la asociación de hormonas endógenas y el CCR.

Por otra parte, es conocido y ampliamente publicado que los hombres practican un estilo de vida menos sano o más nocivo para la salud que las mujeres, siendo más propensos a ingerir dietas ricas en carne roja y procesada, consumir cantidades más elevadas de alcohol, tener mayores índices de obesidad y fumar en mayor cantidad^{399,400}, factores con una probada relación con el CCR^{96,102,104}.

Además, en nuestra serie, el porcentaje de varones diagnosticado por cribado fue un 6 % inferior al de mujeres. Estos resultados son muy similares a los recogidos en la revisión sistemática publicada por White *et al*⁴⁰¹, donde el grupo de mujeres tenía un 5 % más de participación que el grupo de varones. Es decir, aun conociéndose las ventajas de participar en los programas, el colectivo de varones muestra reticencias a participar en él⁴⁰¹. Se han propuesto diferentes motivos para justificar la menor participación de varones, entre los que se encuentran el estereotipo que tiene la manipulación del área ano-genital en la masculinidad de hombres heterosexuales de algunas poblaciones³⁶⁶, la escasa difusión de los programas de cribado, la falta de tiempo para acudir a él^{364,366,373,401} y el miedo a ser diagnosticado^{366,401}.

Las revisiones sistemáticas más actuales destacan la importancia que tiene el médico de atención primaria para promover la participación de varones, ya que estos son más susceptibles de participar en los programas si se lo recomienda su médico^{366,401}, y así intentar minimizar estas diferencias.

Esta reticencia a participar en los programas de cribado implica que la edad media de diagnóstico sea mayor en los varones⁴⁰¹. Así, en nuestra muestra hemos observado que los hombres son al diagnóstico dos años mayores de media que las mujeres diagnosticadas de CCR (58,15 vs 56,04 años).

Además del sexo, en nuestra muestra, la obesidad mostró, de forma estadísticamente significativa, una relación inversa con el tamaño tumoral, es decir, a mayor IMC, menor tamaño tumoral. Estos resultados resultan paradójicos, ya que, según la literatura, la obesidad induce un aumento de expresión de factores pro inflamatorios, aumentando con ello las probabilidades de la génesis de un CCR^{89,96-101,402}, no su disminución. Sin embargo, en un trabajo realizado en 2021, Silva *et al* plantearon la posibilidad de que el motivo por el que los pacientes obesos e hipertensos pudieran tener tumores de menor tamaño podría deberse al consumo de antihipertensivos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los antagonistas del receptor de la angiotensina II, que poseen un efecto anti proliferativo y fomentan la apoptosis⁴⁰³. Asimismo, sugieren que el hecho de que los pacientes con sobrepeso tengan un mejor estado nutricional con una mayor reserva de grasa muscular pudiera permitirles convivir con el síndrome metabólico producido por el tumor^{404,405}. Además, los pacientes con obesidad tienen un sistema inmune “activado” debido al estado de inflamación crónica con el que conviven y este estado de activación inmunitaria, podría contribuir a la reducción del tamaño tumoral^{405,406}. Por último, plantearon la posibilidad de que los tumores que se desarrollan en un ambiente “obesogénico” muestren variantes moleculares más indolentes^{405,407,408}.

Entre los factores que también pueden jugar un papel en el desarrollo del CCR se encuentran las alteraciones genéticas, bien heredadas o producidas a nivel somático. Según la literatura, se estima que entre el 20 % y el 30 % de los CCR son familiares y que alrededor del 5 % están relacionados con un síndrome genético conocido^{8,409}. Dentro de los síndromes genéticos asociados con mayor frecuencia al CCR se encuentra el síndrome de Lynch⁹, caracterizado a nivel de anatomía patológica por presentar inmunotinción negativa para alguna de las proteínas reparadoras (MLH1, MSH2, MSH6 y/o PMS2), asociado o no a inestabilidad de microsatélites¹⁰. Por lo general para el estudio de inestabilidad de microsatélites se emplean los marcadores acordados en

Bethesda⁶⁷, que incluyen dos mononucleotídicos (*BAT25* y *BAT26*) y tres dinucleotídicos (*D2S123*, *D5S346* y *D17S250*). De esta manera es posible, no sólo detectar la presencia de inestabilidad, sino también la de pérdida de heterocigosidad, señal de encontrarnos ante un tumor producido por la vía de inestabilidad cromosómica¹³⁵. Con estas herramientas, en nuestra muestra pudimos detectar que un 69 % de pacientes tuvieron tumores causados por la vía de inestabilidad cromosómica (INC) y un 3,4 % se produjeron por la vía cerrada, ambas, por lo general, asociadas con la forma esporádica de la enfermedad. En un 6,3 % de los tumores identificamos inestabilidad de microsatélites (IMS), tanto asociado a pérdida de inmunotinción para alguna de las proteínas reparadoras, lo que orienta su estudio genético en línea germinal, como en presencia de inmunotinción conservada para las cuatro proteínas analizadas. En el 21,3 % de los casos no se pudo determinar la vía causante del tumor, por presentar tanto inmunotinción conservada como no alteración (ni inestabilidad ni pérdida de heterocigosidad) en los microsatélites analizados.

Para los estudios de identificación de la vía de carcinogénesis, necesarios tanto para el diagnóstico como para el pronóstico del CCR, en los servicios de anatomía patológica se emplea de forma rutinaria la inmunohistoquímica frente a las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2. Sin embargo, algunos autores han publicado la necesidad de realizar técnicas de biología molecular por su mayor precisión⁴¹⁰, aunque estas recomendaciones no se incluyen aún en las guías actuales. De acuerdo con estas guías, existen tres posibles interpretaciones de los resultados de la inmunotinción para las proteínas reparadoras⁴¹¹: (i) expresión conservada, cuando se observa positividad nuclear en las células tumorales con control interno positivo; (ii) pérdida de expresión, cuando se observa ausencia de tinción nuclear en las células tumorales con control interno positivo y (iii) no valorable, cuando no se observa control interno. Según la literatura, entre el 1-10 % de los pacientes con CCR tendrán un resultado erróneo tras realizarse la inmunohistoquímica para las proteínas reparadoras. Parte de esos errores pueden deberse a la interpretación que se aplica a aquellos casos en los que se encuentra una inmunotinción heterogénea. La heterogeneidad de tinción, podríamos definirla como la presencia, en un mismo cristal, de áreas tumorales con tinción junto

con áreas tumorales sin tinción o tinción con menor intensidad, siempre que los controles no pierdan intensidad y sean positivos²³¹.

Las principales causas descritas como asociadas a la heterogeneidad de tinción son la mala diferenciación tumoral, la mala o baja especificidad del anticuerpo, mutaciones heterogéneas de *second hit*, acumulación de metilación del promotor de MLH1 en las áreas del tumor seleccionadas, haber recibido el paciente quimioterapia o radioterapia, problemas en la técnica relacionados con el manejo de la muestra (mala fijación, hipoxia celular/necrosis, estrés oxidativo...) ²³¹.

La frecuencia con la que algunos autores describen los casos de heterogeneidad es muy variable. Así, por ejemplo, Joost *et al*²³¹ recogieron los datos de tinción de proteínas reparadoras durante 5 años en dos centros terciarios y contabilizaron 14 casos con heterogeneidad. Estos datos son muy diferentes de los publicados por Greenberg *et al*²³³, que objetivaron una heterogeneidad del 16,6 % (24/145 tumores) y de los obtenidos en nuestro estudio, en el que un 29 % (51/174) de los tumores mostraron heterogeneidad para alguna de las proteínas reparadoras. Esta disparidad de resultados puede ser debida a que mientras que Joost *et al* utilizaron como anticuerpo los fabricados por Dako, tanto nuestro equipo como en el Greenberg *et al* empleamos clones de Roche. En nuestros casos, los 51 tumores que mostraron heterogeneidad de tinción lo hicieron para MLH1, PMS2 o MLH1 y PMS2, siendo los defectos de tinción para PMS2 los que se han presentado de forma más frecuente (35/51 casos), como ya ha sido previamente publicado⁴¹⁰.

La literatura actual sugiere que ante un caso con heterogeneidad en la tinción o un paciente que haya recibido quimioterapia o radioterapia, se deberían realizar técnicas de biología molecular para apoyar o descartar el resultado obtenido mediante la inmunohistoquímica^{224,231}. En nuestro caso, el estudio de los microsatélites del panel de Bethesda, independientemente de que el paciente hubiera o no recibidos quimio- o radioterapia, permitió caracterizar la vía de carcinogénesis en 40 de los 51 tumores con inmunotinción heterogénea, confirmándose, como era de esperar, que casi el 70 % se habían producido a través de la vía de inestabilidad cromosómica, mientras que en un pequeño porcentaje lo hacían mediante la vía serrada o la de inestabilidad de microsatélites. Es especialmente reseñable este grupo de pacientes con inestabilidad de

microsatélites, no sólo porque el tratamiento a emplear es específico (compartido con los pacientes con tumores de la vía serrada), sino también por el impacto familiar y la posibilidad de prevención de nuevos casos en esas familias tras el estudio genético en línea germinal. Algo similar a lo ocurrido en los casos de tumores con inmunotinción conservada para las cuatro proteínas reparadoras en las que el estudio de microsatélites ha permitido identificar inestabilidad y, por tanto, sospechar la presencia de un cáncer de colon hereditario.

Las vías moleculares de la oncogénesis parecen ser las responsables de que el colon proximal y el distal tengan orígenes embriológicos diferentes⁴¹². Así, mientras que los tumores en el colon derecho se asocian con mutaciones en *BRAF*, vía de IMS o vía serrada (mutaciones asociadas con peor pronóstico⁴¹³), los tumores con mutación en *TP53* y *KRAS* (frecuentes en la vía de INC) son más comunes en colon izquierdo⁴¹³⁻⁴¹⁵. En nuestra muestra, se confirman estos resultados dado que el 73,3 % de aquellos derivados de la inestabilidad cromosómica se situaron en el colon izquierdo/recto-sigma, mientras que en el colon derecho predominaron aquellos secundarios a la inestabilidad de microsatélites (63,6 %) y a la vía serrada (83,3 %).

Por otro lado, al estudiar la relación existente entre las diferentes características histomorfológicas de los tumores incluidos en nuestra muestra, hemos observado una clara relación entre la localización y otras variables analizadas, como el tamaño tumoral, la edad en el momento del diagnóstico, el grado de diferenciación histológica y el estadio TNM.

Respecto a la asociación existente entre la localización y el tamaño tumoral, hemos visto que los tumores en colon derecho muestran un diámetro significativamente mayor que aquellos surgidos en colon izquierdo. Esta relación puede ser debida a que los tumores en colon derecho asocian la vía serrada de forma más frecuente. Esta vía se caracteriza por producir lesiones semipediculadas, mientras que las lesiones en colon izquierdo suelen ser más excrecentes y de fácil visualización^{416,417}. A su vez, la proximidad al orificio anal de las lesiones en colon izquierdo permite que sean más fáciles de identificar y extirpar, dando lugar a diagnósticos en estadios más precoces, con tumores de menores dimensiones y menor desdiferenciación⁸⁰. Además, cabe destacar que las lesiones en colon izquierdo suelen debutar con una sintomatología más

evidente, ya que los pacientes presentan expulsión de sangre fresca, cambios en hábitos deposicionales, tenesmo y distensión abdominal de forma más frecuente, mientras que los pacientes con tumores en colon derecho suelen debutar con fatiga, pérdida de peso, anemia, fiebre de origen desconocido y anorexia, siendo estos síntomas más inespecíficos y haciendo que estos pacientes consulten de forma más tardía con el efecto que eso puede tener en tamaño y el estadio patológico^{217,218,418}. De hecho, en un trabajo de Alexiusdottir *et al*⁴¹⁸ se observó que la presencia de hematoquecia se relacionaba con un estadio TNM más bajo frente a otros síntomas más inespecíficos como cambios en hábitos deposicionales, dolor abdominal agudo y síntomas de malestar agudos que se relacionaron con CCR más avanzado. Asimismo, Patel *et al*⁴¹⁹ describieron que la localización en colon derecho era más frecuente en pacientes de más de 70 años, lo que aumenta la probabilidad de que estos pacientes se encuentren fuera de los programas de cribado, siendo diagnosticados de forma más tardía, por sintomatología y con tumores más avanzados (mayor pT, mayor dimensión y peor diferenciación).

Por otra parte, y aunque en nuestra muestra no hemos encontrado una relación estadísticamente significativa entre la localización y el grado de diferenciación histológica ($p=0,05$), sí que hemos constatado que la mayoría de pacientes con tumores pobremente diferenciados estaban localizados en colon derecho (57 % vs 43 %), como ha sido reportado previamente por Aoyama *et al*⁴²⁰ y Benedix *et al*⁴²¹.

Esta relación entre la localización y los criterios clásicos de severidad morfológica se evidencia asimismo con el estadio patológico y el tumor budding,

Respecto al estadio patológico, hemos visto que mientras que los tumores localizados en recto-sigma muestran estadios patológicos más bajos (pT1 y pT2), los tumores en colon derecho se asocian con estadios patológicos más avanzados (pT4), siendo estos resultados estadísticamente significativos. Como se ha descrito en la literatura^{420,421} esta diferencia en el estadiaje podría deberse a que, previo a la cirugía, los pacientes con tumores en recto-sigma reciben tratamiento neoadyuvante, cuyo objetivo es reducir la extensión tumoral para poder realizar cirugías menos agresivas.

El tumor budding es una característica que está relacionada con la extensión tumoral en forma de células únicas o en grupos de menos de cuatro células en el margen

invasivo del tumor^{319,320}. Llama la atención que en nuestra muestra los tumores en colon derecho mostraron un tumor budding de bajo grado, mientras que aquellos localizados en recto-sigma y colon izquierdo mostraron tumor budding de grados medio y alto, respectivamente. Estos resultados son concordantes con un artículo publicado en el año 2003, en el cual relacionaban la localización derecha con un incremento de tumores con IMS y, a su vez, con un menor budding tumoral⁴²². Sin embargo, en la literatura no hay acuerdo respecto a esta variable. De hecho, un reciente artículo publicado por Gan *et al*⁴²³ afirmaba que los tumores en región cecal asociaban budding de alto grado, lo que podría estar relacionado con el hecho de que en el ciego disminuya la frecuencia de tumores con IMS, como publicaron Landau *et al*⁴²⁴ y Wright *et al*⁴²².

La bibliografía apoya con firmeza que aquellas áreas con IMS tienen una mayor concentración de linfocitos intra o peritumorales que podría comportar una reducción del crecimiento y de la expansión tumoral, ya que los linfocitos CD4, CD8 y *Natural killer* se encargan de la eliminación de células malignas⁴²⁵⁻⁴²⁷. Como describen Wright *et al*⁴²², un rasgo característico de los tumores con IMS es la presencia de una respuesta inflamatoria exacerbada, que conlleva una mejoría pronóstica. Como consecuencia, estos tumores se relacionan con unos valores inferiores de budding en comparación a aquellos localizados en colon izquierdo^{281,422}. Sin embargo, y debido a que la evidencia encontrada en la literatura no es concluyente, se necesitarían más estudios que permitan determinar unas conclusiones más robustas.

Continuando con el estudio de las relaciones entre las variables histopatológicas analizadas, el tamaño tumoral mostró, en nuestra serie, una relación directamente proporcional con el grado de desdiferenciación tumoral. Nuestros resultados coinciden con aquellos publicados por Saha *et al*⁴²⁸, quienes establecían que a mayor tamaño del tumor, peor era la diferenciación tumoral, con una disminución de la supervivencia global de 5 años.

Aunque este grupo no formuló ninguna hipótesis que relacionase tamaño tumoral y grado de diferenciación, sí que sugirieron que aquellos con mayor tamaño asociaban un comportamiento más agresivo. Un estudio llevado a cabo por Inácio de Tella *et al*⁴²⁹ en tumores en otra localización, concluía que aquellos tumores de mayores dimensiones asociaban mayores índices de proliferación. Esto puede dar lugar a que la

rápida división celular impida el correcto funcionamiento de los puntos de control, produciendo una población celular que resultará más desdiferenciada que la estirpe anterior.

El análisis de la relación entre el diámetro tumoral y estadio patológico ha mostrado que los tumores que sobrepasan la muscular propia (pT3 y pT4) han presentado un tamaño significativamente superior a aquellos que no sobrepasan la muscular propia (pT1 y pT2), lo que podría reforzar la idea de que los tumores de mayor tamaño llevan más tiempo proliferando, aumentando la probabilidad de extensión en profundidad como se describió en el estudio publicado por Saha *et al*⁴²⁸. En éste se sugirió que el mayor tamaño y su relación con estadios pT más elevados podían estar causados por una mayor agresividad tumoral.

Por último, en cuanto al diámetro tumoral se refiere, en nuestra muestra hemos observado que cuanto mayor es el diámetro tumoral, menor es el H-Score de p53 ($p=0,016$). El H-Score es un algoritmo que funciona con imágenes histológicas y se emplea para cuantificar tinciones de inmunohistoquímica de forma estandarizada. Este algoritmo relaciona el número de células teñidas con la intensidad de la tinción, permitiendo realizar cuantificaciones precisas, siendo mucho más objetivo que el conteo de visu realizada en la mayoría de centros actualmente³⁵³. La técnica del H-Score elimina la variabilidad inter observador, estandarizando resultados de IHQ, que permitan relacionar la intensidad y cantidad de tinción con características pronósticas³⁵³. Esta asociación entre el tamaño tumoral y la expresión de p53 se ha descrito en la literatura previamente, habiéndose observado un mayor tamaño tumoral en aquellos con ausencia de expresión de la p53⁹⁵. Sin embargo, estos resultados no pueden ser comparados con los nuestros debido a que mientras que nosotros empleamos el H-Score, que mide positividad e intensidad de tinción, ellos únicamente dividieron los pacientes en aquellos con tinción positiva y aquellos con negativa.

En nuestro estudio, hemos dividido el estado de inmunotinción de p53 en tres grupos tras la realización de técnicas de IHQ y de biología molecular. Aquellos pacientes con mutaciones *missense* mostraron valores de H-Score entre 150-270 aproximadamente, mientras que en aquellos pacientes con proteínas truncadas

(*frameshift*, *nonsense* y *splicing*) los valores fueron entre 0-35, aproximadamente. Los tumores con un H-Score intermedio mostraron una *TP53* nativa.

Estos resultados podrían deberse a que en aquellos casos con mutación *missense*, el gen *TP53* forma una proteína estable que probablemente tenga una función defectuosa y sea necesario que se transcriba en mayor cantidad, lo que da lugar a la sobreexpresión por IHQ. Por otro lado, en los casos en los que se forma una proteína truncada, al no haber una proteína estable, no se produce tinción^{187,189,430}. En cuanto al grupo de casos *wild type* para p53, la síntesis y degradación de p53 está regulada y sus niveles de expresión están presentes^{187,431}.

Aunque se han publicado resultados similares relacionando el estado de *TP53* y la tinción más o menos intensa de p53^{187,189,196,279,430,432}, no se han encontrado estudios previos que relacionen usando el H-Score. Esto resulta importante, ya que si únicamente se realiza la estratificación en dos grupos (presencia/ausencia de tinción), aquellos pacientes con p53 nativa estarían en el mismo grupo que aquellos con mutación *missense*^{187,189,196,279,430,432}.

Debido a que no existen unos límites de corte definidos y objetivos por los cuales se considera que la p53 pudiera ser mutada o nativa, ninguno de los artículos consultados ha tenido los mismos puntos de corte a la hora de analizar las tinciones de p53 y valoración de su implicación clinicopatológica. Así, mientras que algunos afirmaban que la tinción negativa se relaciona con peores características clinicopatológicas^{433,434}, otros determinaban que es la positividad la que se relaciona con mejor diferenciación tumoral⁴³³, y un tercer grupo de autores reconocía no tener lo suficientes datos para extraer conclusiones sobre la función de p53 en las características clinicopatológicas del tumor⁴³⁵. De hecho, si únicamente se estratifican los resultados en dos grupos, aquel grupo con tinción positiva tendrá mejores resultados clinicopatológicos porque incluirá también todos aquellos casos con p53 nativa (además de los que tienen la p53 mutada con mutaciones *missense*). Consideramos que la utilización de técnicas de cuantificación digitales como el H-Score, permitirían por una parte, generar datos objetivos que de visu no es posible y, estandarizar unos límites de corte por los cuales se reconozca la presencia y tipo mutación frente a proteína nativa y así valorar su implicación en la evolución clínica del paciente.

Al analizar la relación entre el grado histológico con el resto de los factores histopatológicos, hemos podido observar que los tumores bien diferenciados se asociaban con budding de bajo grado. Esta relación puede ser debida a que un mayor grado histológico implica tumores más avanzados/más agresivos²⁹⁴⁻²⁹⁷, relacionados con un mayor budding y mayor estadio patológico.

Respecto a la relación entre el grado histológico con la extensión tumoral, la relación fue lineal, siendo aquellos tumores bien, moderadamente y pobremente diferenciados estadios pT1, pT2-pT3 y pT4, respectivamente. Como ya se conoce, aquellos tumores con peor diferenciación, serán más agresivos, infiltrarán más y, por ello, mayor pT⁴³⁶. Estos resultados también se han publicado en un estudio reciente llevado a cabo por Zlobec *et al*⁴³⁶, quienes reportaron que un mayor grado histológico se relacionaba con un mayor estadio patológico y un mayor budding tumoral, teniendo implicaciones muy importantes para el paciente en cuanto a supervivencia y tiempo libre de enfermedad. Tanto es así, que la Sociedad Japonesa de Cáncer Colorrectal⁴³⁷, el Colegio Americano de Patología²⁵⁶ y la Sociedad Europea de Oncología Médica⁴³⁸ incluyen los tres parámetros en sus guías.

Por último, cabe destacar la relación de CDX2 (factor de transcripción nuclear específicamente intestinal que regula el equilibrio entre la proliferación celular, la migración, la diferenciación del epitelio intestinal y la tumorigénesis⁴³⁹⁻⁴⁴⁴) con diferentes parámetros analizados, en la presente tesis, habiéndose evidenciado que aquellos tumores pobremente diferenciados han mostrado menor H-Score para CDX2 que aquellos bien y moderadamente diferenciados. Estos resultados están ampliamente publicados^{249,250,445,446}, estableciéndose como posible hipótesis que al ser el CDX2 un factor de transcripción intestinal específico y esencial para el desarrollo y la diferenciación del epitelio intestinal, su pérdida podría ocasionar una peor diferenciación tumoral⁴⁴⁵. Además, como el CDX2 inhibe la proliferación de células cancerígenas, se relaciona con un mayor control sobre la proliferación celular⁴⁴⁴ y, con ello, podría relacionarse con la mejor diferenciación tumoral, tal y como ha ocurrido en nuestra muestra.

Asimismo, pudimos comprobar que en nuestra muestra aquellos tumores situados en colon derecho-transverso mostraron un H-Score para CDX2 menor que

aquellos en colon izquierdo. Atendiendo a nuestros resultados, esta relación podría explicarse por el hecho de que los tumores en colon derecho asocian mayores dimensiones, peor diferenciación tumoral y tumores de mayor estadio patológico y clínico, aumentando la probabilidad de que se hayan perdido características intrínsecas del epitelio sano, entre ellas el factor de transcripción CDX2. Aunque la literatura apoya ampliamente nuestros resultados^{249,250,445,446}, justificando esta relación con el hecho de que aquellos tumores en colon derecho asocian IMS y este defecto podría afectar al gen CDX2, inhibiendo su expresión/correcto funcionamiento, esta hipótesis no está suficientemente demostrada, por lo que serían necesarios otros estudios que la validen.

2. Evolución y pronóstico

La recurrencia en el cáncer colorrectal ocurre cuando las células cancerígenas permanecen en el organismo aun después de la resección tumoral (circulando en la sangre, en los ganglios linfáticos o debido a una mala técnica quirúrgica) para posteriormente lograr reimplantarse y restablecer el crecimiento en las proximidades del tumor o a distancia⁴⁴⁷. A su vez, la presencia de metástasis en el momento de diagnóstico ocurre por el mismo motivo. La diferencia entre el término metástasis y el término recurrencia es que se emplea el término metástasis cuando no se ha concluido el tratamiento principal y aparece otra población tumoral de la misma estirpe de forma local o a distancia mientras que la recurrencia ocurre cuando sí se ha concluido el tratamiento de tumor primario.

En nuestra muestra, quince pacientes (8,6 % sobre el total) presentaban metástasis en el momento del diagnóstico. Las diferencias entre hombres y mujeres no fueron significativas. Diez de los casos (66,7 %) fueron en el hígado, siendo el órgano en el que se ven un mayor número de metástasis según la literatura^{448,449}. Ello puede ser debido a que el colon y la parte proximal del recto drenan al sistema porta, que luego a su vez drena al sistema pulmonar, y así, las células tumorales pasarían por estos dos órganos haciendo una siembra tumoral⁴⁵⁰.

El porcentaje de recaída en nuestra muestra (en torno al 30 %) coincide con un estudio retrospectivo reciente, llevado a cabo por Ahiko *et al*⁴⁵¹, en 24 hospitales japoneses entre enero de 1997 y diciembre de 2012, con una muestra de 10.356 pacientes y en el que tuvieron 30 % de recaída. Los autores justificaban una recaída tan

alta porque únicamente un 5 % de pacientes estadio III recibió quimioterapia basada en platinos (que actualmente se considera el *gold-standard* de tratamiento). En otras series publicadas las tasas de recaída oscilan entre un 4-13,9 %^{447,452-455} por lo que teniendo en cuenta que en nuestro centro las terapias basadas en platinos ya se usaban en el año 2010 de acuerdo a las guías de la ESMO⁴⁵⁶, las cifras de recaída tan elevadas registradas en nuestra muestra deberían tener otro origen.

Los motivos por los cuales un paciente sufre una recaída son diversos, habiendo factores conocidos como son el tamaño, la diferenciación tumoral⁴⁵⁷, el estadio patológico/infiltración ganglionar^{449,457}, la invasión linfovascular/perineural^{457,458}, las cirugías con margen afecto^{339,447,455} y el budding⁴⁵⁸⁻⁴⁶⁰.

En nuestra serie los modelos de regresión de Cox utilizados muestran como factores de riesgo independientes de recaída la infiltración ganglionar, la invasión perineural y el H-Score para CDX2.

Comenzamos resaltando que en nuestra muestra la localización no mostró ninguna relación significativa con el tiempo hasta la recidiva o con la supervivencia, a diferencia de lo que hay publicado en la literatura. Una corriente mayoritaria afirma que aquellos tumores localizados en colon derecho tienen menor supervivencia^{413,414,421,461,462}, atribuyendo las posibles causas a que los tumores en colon derecho son más difíciles de diagnosticar mediante colonoscopia, causan síntomas más inespecíficos⁴²¹, son portadores de mutaciones de peor pronóstico o la técnica quirúrgica es más complicada y con ello menos satisfactoria⁴⁶². Nuestros resultados siguen la misma tendencia aun sin alcanzar la significación estadística, y todo ello apoya la necesidad de determinar las diferencias subyacentes de los tumores localizados en colon derecho o izquierdo, que conllevan a un peor pronóstico y menor supervivencia en aquellos localizados en colon derecho^{414,421,461,462}.

Asimismo, cabe destacar que, aunque en nuestra muestra el tumor budding no ha resultado factor de riesgo de recidiva por sí mismo, un 70 % de pacientes con recaída presentaban un tumor budding de alto grado, habiendo mostrado este último un aumento de probabilidad de más del doble de invasión ganglionar respecto al budding medio o bajo, hasta tal punto que un 76,6 % de pacientes con metástasis ganglionares tuvieron budding de alto grado siendo estos resultados significativos. Esta relación del

budding con la recaída, ya ha sido reportado en el estudio SACURA, que en su caso, contaba con un tamaño muestral de 990 individuos⁴⁶⁰. Además, dicho estudio, remarca la importancia de la cuantificación del budding por las implicaciones en el tratamiento y seguimiento del paciente, siendo criterio para la realización de cirugía tras polipectomía (en aquellos pacientes con pT1) y/o de empleo de monoterapia con fluoropirimidina^{460,463}.

Respecto a la invasión ganglionar, 36 de los 47 pacientes que recayeron (76,6 %) padecían un tumor informado como estadio III o IV. Recordemos que el estadio tumoral es una herramienta que intenta simplificar el estadiaje realizado a partir del sistema TNM para poder agrupar a los pacientes de cara al manejo y tratamiento. Se divide en 5 grupos (0-IV) y tiene en cuenta la profundidad de invasión tumoral (pTis-4), la presencia de adenopatías afectas (N0-N2b) y la presencia de metástasis (M0-M1) ya que se basa en el sistema TNM (*Tumour, Node, Metastasis*). Aquellos tumores con estadio III y IV son los que tienen afectación de los ganglios linfáticos. En nuestro estudio, estos pacientes tienen 2,5 veces más riesgo de recaída que aquellos con las mismas características sin infiltración en ganglios linfáticos. Se han publicado resultados similares en un metaanálisis en el cual se indicaba que la presencia de N1 o N2 aumentaba 2,2 veces el riesgo de recaída y demostraba ser factor de riesgo independiente tras el estudio multivariante^{443,457}. Ello podría ser la razón por la cual las guías no indiquen tratamiento quimioterapéutico adyuvante en aquellos pacientes con N0 y pT menor de 3 (Estadio 0 y I)²⁷⁸.

Por otro lado, la presencia de invasión perineural, definida como el crecimiento de células tumorales alrededor de los nervios y de las vainas tendinosas^{291,292}, también demostró ser factor de riesgo independiente de recaída, como ya ha sido publicado previamente^{292,457,464}. En nuestra muestra, su presencia aumentó por tres el riesgo de sufrir una recaída y aunque no está claro el motivo que relaciona recaída con invasión perineural, un estudio llevado a cabo por van Wyk *et al*⁴⁶⁵ sugiere la posibilidad de que sea debido a que los neurotransmisores estimulen el crecimiento de las células tumorales, aunque probablemente se necesiten más estudios para confirmar esta propuesta.

Respecto a la expresión de CDX2 en nuestra muestra, la presencia de valores bajos, definida como aquellos pacientes que mostraron un H-Score menor de 152 puntos, se ha relacionado con menor tiempo hasta la recaída con 1517 vs 2609 días, respectivamente. Ello puede ser debido a que como hemos comentado, una menor expresión de CDX2 acompaña mayores tasas de replicación, mayor carga tumoral y con ello mayor probabilidad de recaer. Esta relación entre una menor tinción de CDX2 y menor tiempo hasta la recaída ya ha sido publicado anteriormente^{235,443}. Dalerba *et al*²³⁵ describieron que en aquellos casos con CDX2 negativo frente a CDX2 positivo se produjo un incremento de 3,5 veces el riesgo de recaída. Otros autores comentan sobre la potencia de este marcador en combinación con el pT tumoral y describen que en su muestra, la combinación entre CDX2 bajo y pT4 (células tumorales en serosa) fue un factor pronóstico independiente para el riesgo de recaída y supervivencia global, siendo la combinación entre estos dos marcadores el mejor marcador pronóstico⁴⁴³. Este hallazgo resulta muy importante de cara a la inclusión de CDX2 de forma rutinaria en futuras guías, ya que actualmente no se realiza.

Respecto a la supervivencia global, aunque los análisis univariantes llevados a cabo en nuestro estudio han mostrado como factores de riesgo la extensión tumoral, el tumor budding, la invasión ganglionar y la invasión perineural, al aplicar modelos multivariantes (regresión de Cox) únicamente los tres primeros se mostraron como factores de riesgo independientes.

En nuestra muestra, aquellos tumores con infiltración de la serosa, es decir aquellos pT4, tuvieron un tiempo de supervivencia 1000 días inferior que aquellos con pT1-pT3, siendo estos resultados estadísticamente significativos ($p < 0,001$). Otros autores, han publicado recientemente datos similares^{443,466}. Así, Reima *et al* publicaron que aquellos tumores en estadio pT4 tenían la mitad de supervivencia respecto a aquellos pT3⁴⁶⁶. Por su parte, Baguena *et al*⁴⁶⁷ analizaron la supervivencia de todos los pacientes con estadio pT3 o pT4 con CCR, concluyendo que aquellos tumores pT4a (aquellos que invaden hasta el peritoneo visceral) disminuían la supervivencia global, siendo incluso inferior a aquellos tumores pT4b (aquellos que invaden órganos/estructuras vecinas). Los autores plantearon que, dado que en los casos de pT4b la cirugía es más agresiva al realizarse una resección en bloque frente a los casos

de pT4a a los que se les hacía resección del órgano afecto, ello podía producir que se depositase celularidad tumoral en el peritoneo, afectando así a la supervivencia. Esto explicaría que la presencia de un estadio pT4a se relaciona con cifras más bajas de supervivencia. Es posible que debido a que el 78 % de nuestros pacientes en estadio pT4 sean pT4a, la cirugía no haya sido tan agresiva como si hubiesen sido pT4b, con las implicaciones pronósticas y de supervivencia que esto haya podido tener.

El tumor budding se ha mostrado como un factor de riesgo independiente en la supervivencia. En nuestra muestra, aquellos pacientes con tumor budding alto tenían de media 400 días menos de supervivencia, mostrando un riesgo de mortalidad 3 veces superior a aquellos pacientes con tumor budding de grados bajo y medio. Esto ha sido publicado por otros autores como van Wyk *et al*⁴⁶⁸ que además reportaron que en su muestra el tumor budding fue el único parámetro analizado que había mostrado tener implicación pronóstica en estadios iniciales de los tumores (pT1 y pT2), y destacaron la virtud que esto representaba, al poder ser usado en aquellos tumores en estadios más precoces como herramienta para valorar el pronóstico. El tumor budding se asocia a peor supervivencia debido a que se produce una pérdida de adhesión celular que permite a los “buds” separarse del tumor principal³²⁴. Esto se produce debido a alteraciones en el citoesqueleto, con un aumento de la producción de componentes de matriz extracelular, una mayor resistencia a la apoptosis y habilidad para romper la membrana basal³²⁴. Todo lo anterior aumenta la capacidad de migración e invasión tumoral³²⁴.

Aunque en nuestra muestra no hemos encontrado relación entre el budding y el estadio patológico, como tampoco lo hicieron Saito *et al*⁴⁶⁹, sí que hemos encontrado relación entre el budding como indicador temprano de metástasis ganglionar, con 2,6 veces más probabilidad de presentar invasión ganglionar en aquellos pacientes con budding alto (p=0,026). Archilla *et al*³⁶², publicaron resultados similares en cuanto a que relacionaron la presencia de budding de alto grado como factor de riesgo sobre metástasis ganglionar e incidieron sobre el efecto negativo que ello supone sobre la supervivencia global.

La invasión de ganglios linfáticos también mostró relación con la supervivencia tras estudios univariantes y multivariantes, de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Dicha variable mostraba mayor supervivencia cuanto menor fuese la "N", es decir, $N_0 > N_1 > N_2$. En nuestra muestra, aquellos pacientes con invasión ganglionar tuvieron una supervivencia 1000 días inferior a aquellos sin invasión ganglionar. Resultados similares han sido ampliamente publicados, aunque en la literatura no se habla de invasión ganglionar y supervivencia, sino de estadio tumoral y supervivencia, destacando que aquellos pacientes en estadio I y II (N_0) tienen mejor pronóstico que aquellos pacientes estadio III y IV ($N > 0$) tras estudios multivariantes⁴⁷⁰. Es por ello, que actualmente lo que más se destaca en la literatura relacionado con ganglios linfáticos y supervivencia es la necesidad de tener un ratio entre adenopatías afectas/total de adenopatías lo más bajo posible, habiendo mostrado su validez como herramienta pronóstica por diferentes autores^{471,472}. Además, en aquellos casos que se muestrean más de 12 adenopatías en pacientes con estadios avanzados (T3 y T4) la supervivencia también es mayor^{473,474}.

Por último, en referencia a la supervivencia, la presencia de invasión perineural mostró una relación inversa con la supervivencia tras los estudios univariantes. Esta relación ya se describió en un metaanálisis publicado en el 2009 por Liebig *et al*²⁹² en el que afirmaban que múltiples estudios determinaban la existencia de un aumento de supervivencia en pacientes sin afectación perineural. Además, en esta publicación destacaban que algunos autores habían comentado la posibilidad de que la presencia de invasión perineural en ausencia de invasión ganglionar se relacionase con peores resultados de supervivencia, siendo ello un dato interesante para poder identificar a esos pacientes que podrían beneficiarse de un tratamiento sistémico que les pudiese aumentar la supervivencia. En nuestra muestra, en aquellos casos con invasión perineural, la probabilidad de padecer invasión ganglionar se multiplicaba por 3,8, siendo esta cifra ligeramente superior a lo publicado en la literatura, que se aproxima al 2,5⁴⁶⁵. Los autores aclaran que la invasión perineural ocurre normalmente en estadios avanzados del tumor, como ha ocurrido en nuestro caso habiéndose relacionado con la extensión tumoral de forma significativa y, que por ello se asocia a peores supervivencias. Sin embargo, inciden en que se desconocen los mecanismos exactos

sobre cómo se produce la invasión perineural, por lo que se necesitarán más estudios para llegar a conclusiones más firmes^{292,475,476}.

3. Limitaciones del estudio

A pesar de haber trabajado de la forma más sistemática y rigurosa posible, existen una serie de factores que han podido determinar las diferencias encontradas en nuestros resultados respecto a lo publicado en la literatura.

a) Limitación de material

Al trabajar con muestras retrospectivas, el material del que disponíamos era en ocasiones escaso o inexistente, posiblemente debido a seriaciones o técnicas de inmunohistoquímica que se realizaron durante el diagnóstico. A su vez, también había casos en los que algunos de los bloques se habían extraviado o agotado, lo que nos ha obligado a seleccionar cristales de peor calidad en vez de aquellos con mayor representatividad tumoral.

Nuestro interés en obtener cortes con un alto contenido de tejido tumoral también resultaba de importancia de cara al uso del programa QuPath en la cuantificación de la cantidad e intensidad de tinción de la inmunohistoquímica. Además, para realizar las técnicas de biología molecular, se requería, para el mismo paciente, disponer de cristales con mayor cantidad de células neoplásicas y de tejido no tumoral.

Todo ello dificultó la realización de técnicas de inmunohistoquímica y de biología molecular.

b) Bloques

Para poder correlacionar los estudios de inmunohistoquímica con las alteraciones moleculares, todas las pruebas debían realizarse sobre el mismo bloque. Por ello, en aquellos bloques con suficiente material, solicitábamos una nueva hematoxilina tras los cortes empleados para la inmunohistoquímica y biología molecular y así confirmar que la representatividad tumoral era similar a la que se había detectado en la hematoxilina-eosina inicial y que conllevó la selección de dicho bloque como

óptimo. Desafortunadamente, en alguna ocasión, el escaso material no nos permitió realizar este corte de confirmación.

c) Material parafinado

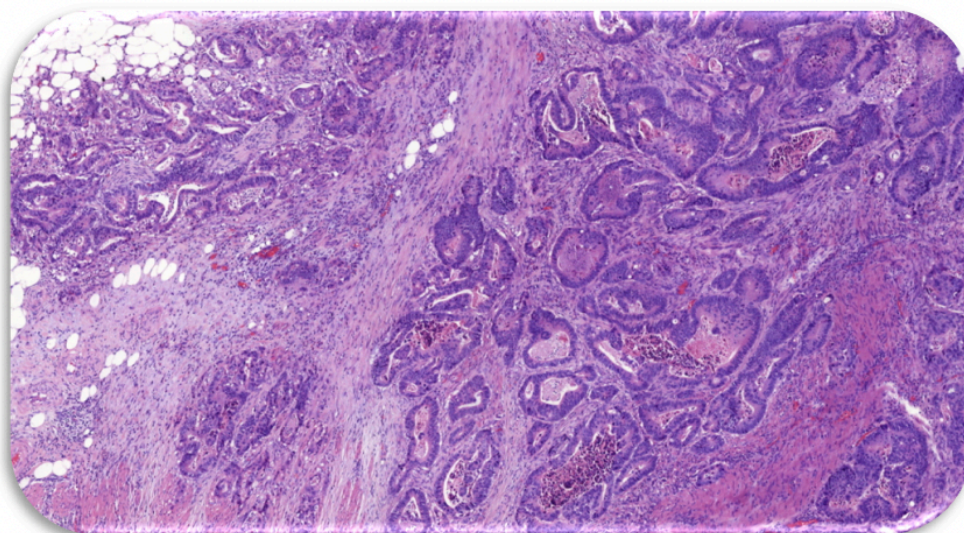
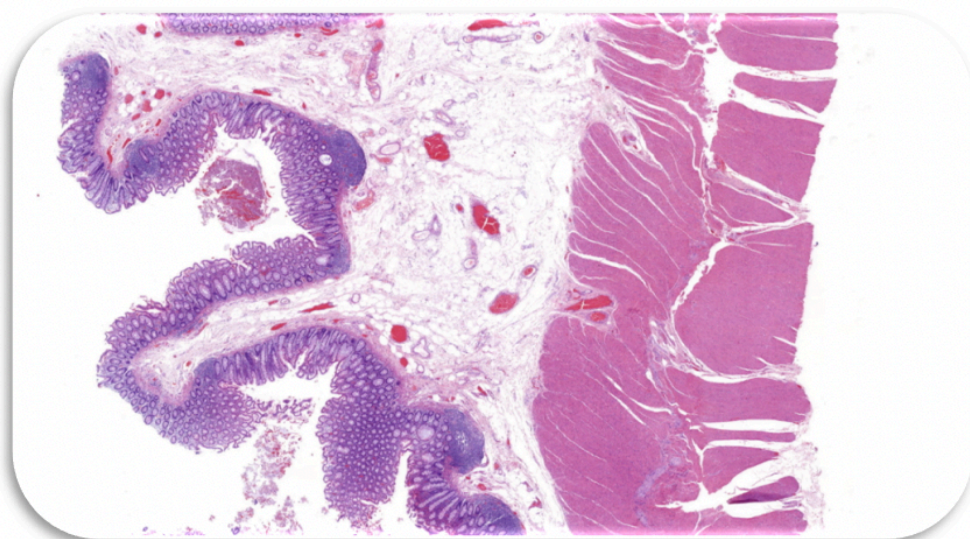
El hecho de que los tejidos estén fijados con formalina afecta a su integridad debido a la formación de enlaces cruzados en el ADN que dan lugar a la fragmentación (Kishan Panchal *et al.*, 2020), lo que, en ocasiones, puede dificultar su amplificación mediante técnicas de biología molecular y llevar a resultados erróneos o inexistentes.

d) Inmunohistoquímica

El proceso de tinción inmunohistoquímica se realiza de forma mecanizada. Como todo proceso mecánico, se asume un pequeño porcentaje de fallo relacionado con la propia máquina, el empleo de reactivos defectuosos, alteraciones en el material introducido...

Por ello, en condiciones ideales, se debería de repetir cada inmunohistoquímica en dos ocasiones para ver si coinciden los valores y poder analizar con exactitud los parámetros de interés. Sin embargo, en nuestro estudio, debido a problemas logísticos (temporales o de coste) no ha sido posible realizar este doble proceso. Ello conlleva que se haya podido reducir la precisión de nuestro estudio.

7. CONCLUSIONES



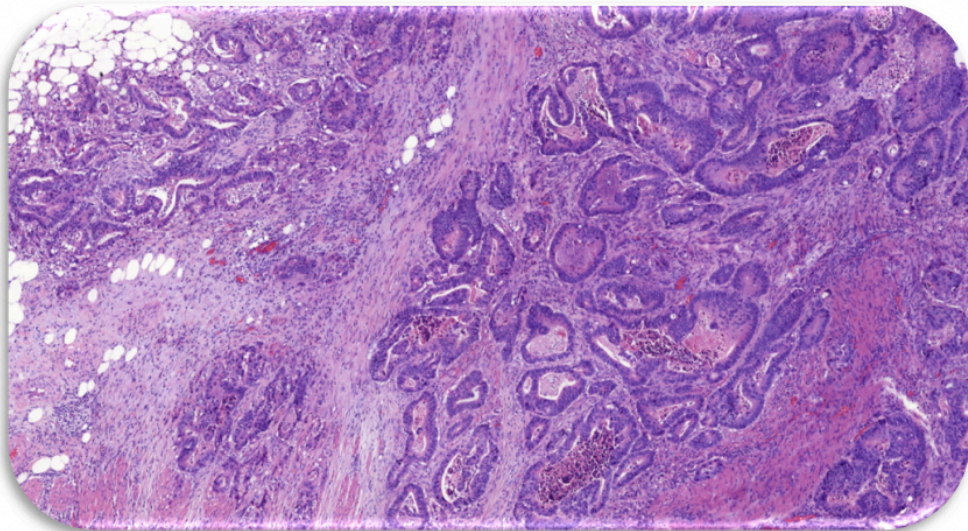
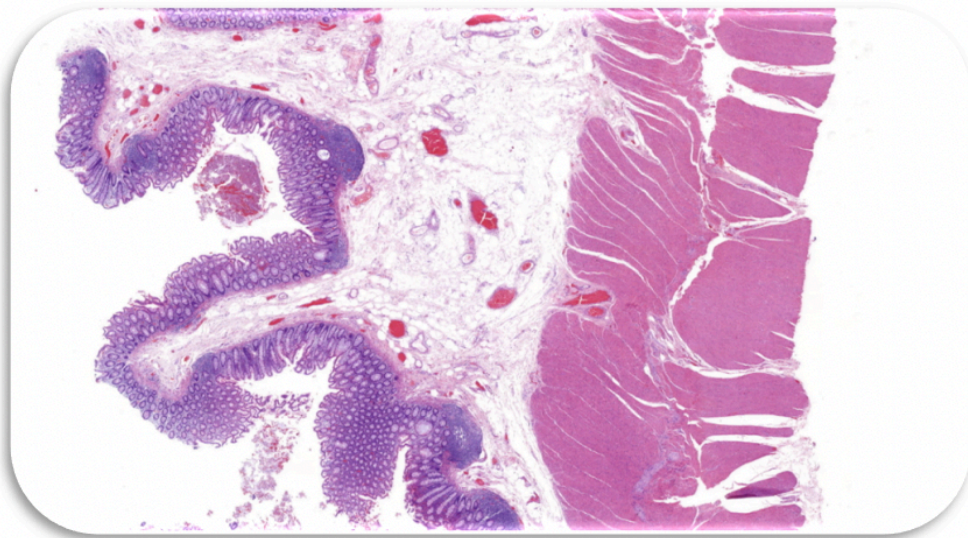
1. Acorde a las características de los pacientes incluidos en la muestra y atendiendo a criterios demográficos, clínicos y de evolución, podemos concluir que:
 - El cáncer colorrectal es una neoplasia maligna más frecuente en varones.
 - En nuestro medio, la edad media de diagnóstico está por encima de los 50 años, por lo que la mayoría de pacientes está cubierta por el programa de cribado. A pesar de ello, los pacientes diagnosticados con una edad inferior a 40 años tienen una supervivencia significativamente menor.
 - Con sólo un 49 % de pacientes diagnosticados por cribado, es urgente aumentar la participación de la población en estos programas, ya que al diagnóstico supone una menor extensión tumoral, un menor tamaño tumoral y una mayor supervivencia.
2. Los factores clínico-demográficos, histopatológicos y moleculares que afectaron:
 - A la supervivencia global fueron la extensión tumoral, el budding tumoral, la invasión ganglionar y la invasión perineural.
 - Al riesgo de recaída fueron la invasión perineural, la invasión ganglionar y el H-Score para CDX2.
3. En referencia a la relación establecida entre las distintas variables analizadas y la evolución tumoral en términos de supervivencia:
 - Los estadios tumorales más altos (pT4), con mayor budding tumoral y con invasión perineural se asocian con menor supervivencia.
 - Asimismo, a mayor "N" tumoral, existe una supervivencia significativamente menor.
4. En cuanto al grado de correlación entre la expresión inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras y la inestabilidad de microsatélites, podemos concluir que:
 - En aquellos casos que la pérdida de tinción se ha dado en MSH2 o MSH6, en el 100 % de las muestras se ha encontrado IMS.
 - En aquellos casos con tinción ausente o heterogénea para MLH1 y/o PMS2, el empleo de técnicas de biología molecular para el estudio de microsatélites resulta útil para determinar la vía de carcinogénesis: vía

serrada si hay hipermetilación del promotor de MLH1, vía de inestabilidad cromosómica si se detecta LOH o vía de inestabilidad de microsatélites.

5. Tras estudiar la relación existente entre los diferentes grados de expresión inmunohistoquímica de la p53, la agresividad del tumor y la posible presencia de mutación en el gen *TP53*, podemos concluir que:
 - A mayor H-Score para p53, menor diámetro tumoral.
 - Los tumores con un H-Score elevado para p53 se relacionan con una mutación de tipo *missense* mientras que aquellos con un H-Score cercano a zero se relacionan con una proteína truncada (*nonsense, frameshift o splicing*).
 - No se ha encontrado relación entre la presencia o ausencia de mutación en *TP53* y la supervivencia o recaída tumoral.

6. Tras investigar el papel de los niveles de inmunotinción de IHQ de CDX2 como factor predictor de la evolución tumoral, hemos llegado a la conclusión que:
 - Los valores elevados de H-Score para CDX2 se relacionan con menor riesgo de recaída.
 - Los valores disminuidos de H-Score para CDX2 se relacionan con tumores pobremente diferenciados.

8. BIBLIOGRAFÍA



1. WHO. https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
2. Robert Odze John Goldblum. *Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*. 3rd ed. Elsevier; 2014.
3. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization IA of P. *Digestive System Tumours: WHO Classification of Tumours*. 5th ed. IARC; 2019.
4. Global Cancer Observatory. Published 2018. Accessed May 9, 2021. <https://gco.iarc.fr/>
5. Observatorio del Cáncer de la AECC. Incidencia y Mortalidad de Cáncer Colorrectal en España en la población entre 50 y 69 años . Published March 2019. Accessed May 10, 2021. https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Incidencia-mortalidad-colon2018_CCAAyProvincias.pdf
6. Gobierno Vasco. Cáncer en la comunidad autónoma de Euskadi. Accessed May 10, 2021. https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/registros_cancer/es_def/adjuntos/ANEXOS_Cancer CAE-2001-2017.pdf
7. Ahmed FE. Colon cancer: prevalence, screening, gene expression and mutation, and risk factors and assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2003;21(2):65-131. doi:10.1081/GNC-120026233
8. Mangas-Sanjuan C, Jover R. Familial colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2022;58-59:101798. doi:10.1016/j.bpg.2022.101798
9. Medina Pabón MA, Babiker HM. *A Review Of Hereditary Colorectal Cancers.*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30855783>
10. Valle L. Genetic predisposition to colorectal cancer: where we stand and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2014;20(29):9828-9849. doi:10.3748/wjg.v20.i29.9828
11. Sánchez AA. *GUÍA DE MANEJO DE POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR*.
12. Byrne RM, Tsikitis VL. Colorectal polyposis and inherited colorectal cancer syndromes. *Ann Gastroenterol*. 31(1):24-34. doi:10.20524/aog.2017.0218
13. Balmaña J, Balaguer F, Cervantes A, Arnold D, ESMO Guidelines Working Group. Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2013;24 Suppl 6:vi73-80. doi:10.1093/annonc/mdt209
14. Galiatsatos P, Foulkes WD. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(2):385-398. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00375.x
15. Vasen HFA, Möslin G, Alonso A, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut*. 2008;57(5):704-713. doi:10.1136/gut.2007.136127
16. John L. Cameron AMC. Current Surgical Therapy. In: 11th ed. Elsevier saunders; 2014:1536.

17. Brosens LAA, Wood LD, Offerhaus GJ, et al. Pathology and Genetics of Syndromic Gastric Polyps. *Int J Surg Pathol.* 2016;24(3):185-199. doi:10.1177/1066896915620013
18. Roncucci L, Pedroni M, Mariani F. Attenuated adenomatous polyposis of the large bowel: Present and future. *World J Gastroenterol.* 2017;23(23):4135-4139. doi:10.3748/wjg.v23.i23.4135
19. Cleary SP, Cotterchio M, Jenkins MA, et al. Germline MutY Human Homologue Mutations and Colorectal Cancer: A Multisite Case-Control Study. *Gastroenterology.* 2009;136(4):1251-1260. doi:10.1053/j.gastro.2008.12.050
20. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet (London, England).* 2003;362(9377):39-41. doi:10.1016/S0140-6736(03)13805-6
21. Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, et al. Germline Susceptibility to Colorectal Cancer Due to Base-Excision Repair Gene Defects. *Am J Hum Genet.* 2005;77(1):112-119. doi:10.1086/431213
22. Nielsen M, Joerink - van de Beld MC, Jones N, et al. Analysis of MUTYH Genotypes and Colorectal Phenotypes in Patients With MUTYH-Associated Polyposis. *Gastroenterology.* 2009;136(2):471-476. doi:10.1053/j.gastro.2008.10.056
23. Morak M, Laner A, Bacher U, Keiling C, Holinski-Feder E. MUTYH-associated polyposis - variability of the clinical phenotype in patients with biallelic and monoallelic MUTYH mutations and report on novel mutations. *Clin Genet.* 2010;78(4):353-363. doi:10.1111/j.1399-0004.2010.01478.x
24. Out AA, Tops CMJ, Nielsen M, et al. Leiden open variation database of the MUTYH gene. *Hum Mutat.* 2010;31(11):1205-1215. doi:10.1002/humu.21343
25. Gismondi V, Meta M, Bonelli L, et al. Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. *Int J Cancer.* 2004;109(5):680-684. doi:10.1002/ijc.20054
26. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, et al. Multiple Colorectal Adenomas, Classic Adenomatous Polyposis, and Germ-Line Mutations in MYH. *N Engl J Med.* 2003;348(9):791-799. doi:10.1056/NEJMoa025283
27. Sánchez de Abajo A, Caldés Llopis T. Poliposis asociada al gen MYH. Published 2009. Accessed May 10, 2021. <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2012/05/v8n4a558pdf001.pdf>
28. Ponti G, Ponz de Leon M, Maffei S, et al. Attenuated familial adenomatous polyposis and Muir-Torre syndrome linked to compound biallelic constitutional MYH gene mutations. *Clin Genet.* 2005;68(5):442-447. doi:10.1111/j.1399-0004.2005.00519.x
29. Aretz S, Uhlhaas S, Goergens H, et al. MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype. *Int J Cancer.* 2006;119(4):807-814. doi:10.1002/ijc.21905

30. Nielsen M, Poley JW, Verhoef S, et al. Duodenal carcinoma in MUTYH-associated polyposis. *J Clin Pathol.* 2006;59(11):1212-1215. doi:10.1136/jcp.2005.031757
31. Vogt S, Jones N, Christian D, et al. Expanded Extracolonic Tumor Spectrum in MUTYH-Associated Polyposis. *Gastroenterology.* 2009;137(6):1976-1985.e10. doi:10.1053/j.gastro.2009.08.052
32. Nielsen M, Morreau H, Vasen HFA, Hes FJ. MUTYH-associated polyposis (MAP). *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011;79(1):1-16. doi:10.1016/j.critrevonc.2010.05.011
33. Lipton L, Halford SE, Johnson V, et al. Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. *Cancer Res.* 2003;63(22):7595-7599. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14633673>
34. Nielsen M, de Miranda NF, van Puijenbroek M, et al. Colorectal carcinomas in MUTYH-associated polyposis display histopathological similarities to microsatellite unstable carcinomas. *BMC Cancer.* 2009;9(1):184. doi:10.1186/1471-2407-9-184
35. Wu M, Krishnamurthy K. *Peutz-Jeghers Syndrome.*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30570978>
36. Hezel AF, Bardeesy N. LKB1; linking cell structure and tumor suppression. *Oncogene.* 2008;27(55):6908-6919. doi:10.1038/onc.2008.342
37. Tan M-H, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res.* 2012;18(2):400-407. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-2283
38. Hobert JA, Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome: an overview. *Genet Med.* 2009;11(10):687-694. doi:10.1097/GIM.0b013e3181ac9aea
39. Nelen MR, Kremer H, Konings IB, et al. Novel PTEN mutations in patients with Cowden disease: absence of clear genotype-phenotype correlations. *Eur J Hum Genet.* 1999;7(3):267-273. doi:10.1038/sj.ejhg.5200289
40. Stanich PP, Pilarski R, Rock J, Frankel WL, El-Dika S, Meyer MM. Colonic manifestations of PTEN hamartoma tumor syndrome: case series and systematic review. *World J Gastroenterol.* 2014;20(7):1833-1838. doi:10.3748/wjg.v20.i7.1833
41. Lopes S, Vide J, Moreira E, Azevedo F. Cowden syndrome: clinical case and a brief review. *Dermatol Online J.* 2017;23(8). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29469739>
42. Eng C. Cowden Syndrome. *J Genet Couns.* 1997;6(2):181-192. doi:10.1023/A:1025664119494
43. Fackenthal JD, Marsh DJ, Richardson AL, et al. Male breast cancer in Cowden syndrome patients with germline PTEN mutations. *J Med Genet.* 2001;38(3):159-164. doi:10.1136/jmg.38.3.159
44. Brownstein MH, Wolf M, Bikowski JB. Cowden's disease: a cutaneous marker of breast cancer. *Cancer.* 1978;41(6):2393-2398. doi:10.1002/1097-

- 0142(197806)41:6<2393::aid-cnrcr2820410644>3.0.co;2-k
45. Starink TM, van der Veen JP, Arwert F, et al. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet.* 1986;29(3):222-233. doi:10.1111/j.1399-0004.1986.tb00816.x
 46. Gorlin RJ, Cohen MM, Condon LM, Burke BA. Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome. *Am J Med Genet.* 1992;44(3):307-314. doi:10.1002/ajmg.1320440309
 47. Cohen MM. Overgrowth syndromes: an update. *Adv Pediatr.* 1999;46:441-491. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10645472>
 48. Howe JR, Sayed MG, Ahmed AF, et al. The prevalence of MADH4 and BMPR1A mutations in juvenile polyposis and absence of BMPR2, BMPR1B, and ACVR1 mutations. *J Med Genet.* 2004;41(7):484-491. doi:10.1136/jmg.2004.018598
 49. Jelsig AM, Qvist N, Brusgaard K, Nielsen CB, Hansen TP, Ousager LB. Hamartomatous polyposis syndromes: a review. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:101. doi:10.1186/1750-1172-9-101
 50. Larsen Haidle J, Howe JR. *Juvenile Polyposis Syndrome.*; 1993. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301642>
 51. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2044-2058. doi:10.1053/j.gastro.2010.01.054
 52. Brosens LAA, van Hattem A, Hylind LM, et al. Risk of colorectal cancer in juvenile polyposis. *Gut.* 2007;56(7):965-967. doi:10.1136/gut.2006.116913
 53. Gonzalez RS, Adsay V, Graham RP, et al. Massive gastric juvenile-type polyposis: a clinicopathological analysis of 22 cases. *Histopathology.* 2017;70(6):918-928. doi:10.1111/his.13149
 54. Ahmed A, Alsaleem B. Nonfamilial Juvenile Polyposis Syndrome with Exon 5 Novel Mutation in SMAD 4 Gene. *Case Rep Pediatr.* 2017;2017:5321860. doi:10.1155/2017/5321860
 55. Syngal S, Brand RE, Church JM, et al. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(2):223-262; quiz 263. doi:10.1038/ajg.2014.435
 56. Ma H, Brosens LAA, Offerhaus GJA, Giardiello FM, de Leng WWJ, Montgomery EA. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology.* 2018;50(1):49-59. doi:10.1016/j.pathol.2017.09.004
 57. Hemminki A, Peltomäki P, Mecklin JP, et al. Loss of the wild type MLH1 gene is a feature of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet.* 1994;8(4):405-410. doi:10.1038/ng1294-405
 58. Liu B, Parsons RE, Hamilton SR, et al. hMSH2 mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindreds. *Cancer Res.* 1994;54(17):4590-4594. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8062247>
 59. Liu B, Nicolaidis NC, Markowitz S, et al. Mismatch repair gene defects in

- sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nat Genet.* 1995;9(1):48-55. doi:10.1038/ng0195-48
60. Kane MF, Loda M, Gaida GM, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1997;57(5):808-811. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9041175>
 61. Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science.* 1993;260(5109):812-816. doi:10.1126/science.8484121
 62. Aaltonen LA, Peltomäki P, Mecklin JP, et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res.* 1994;54(7):1645-1648. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8137274>
 63. Pellat A, Netter J, Perkins G, et al. [Lynch syndrome: What is new?]. *Bull Cancer.* 106(7-8):647-655. doi:10.1016/j.bulcan.2018.10.009
 64. Hildebrand LA, Pierce CJ, Dennis M, Paracha M, Maoz A. Artificial Intelligence for Histology-Based Detection of Microsatellite Instability and Prediction of Response to Immunotherapy in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel).* 2021;13(3). doi:10.3390/cancers13030391
 65. Adar T, Rodgers LH, Shannon KM, et al. Universal screening of both endometrial and colon cancers increases the detection of Lynch syndrome. *Cancer.* 2018;124(15):3145-3153. doi:10.1002/cncr.31534
 66. Lynch HT, Lynch JF. Genetics of colonic cancer. *Digestion.* 1998;59(5):481-492. doi:10.1159/000007525
 67. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(4):261-268. doi:10.1093/jnci/djh034
 68. Gay JT, Troxell T, Gross GP. *Muir-Torre Syndrome.*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30020643>
 69. Schierbeck J, Vestergaard T, Bygum A. Skin Cancer Associated Genodermatoses: A Literature Review. *Acta Derm Venereol.* 2019;99(4):360-369. doi:10.2340/00015555-3123
 70. Khattab A, Monga DK. *Turcot Syndrome.*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30521203>
 71. Hu XR, Xu C, Kang Y, Wang T, Zhang Y, Yang XH. [Correlation between mismatch-repair protein expression and clinicopathologic features in 658 colorectal cancers]. *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese J Pathol.* 2018;47(11):827-833. doi:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2018.11.003
 72. Velter C, Caussade P, Fricker J-P, Cribier B. [Muir-Torre syndrome and Turcot syndrome]. *Ann Dermatol Venereol.* 144(8-9):525-529. doi:10.1016/j.annder.2017.01.017

73. Buecher B. Colorectal adenomatous polyposis syndromes: Genetic determinism, clinical presentation and recommendations for care. *Bull Cancer*. 2016;103(2):199-209. doi:10.1016/j.bulcan.2015.10.019
74. Haraldsdottir S, Rafnar T, Frankel WL, et al. Comprehensive population-wide analysis of Lynch syndrome in Iceland reveals founder mutations in MSH6 and PMS2. *Nat Commun*. 2017;8:14755. doi:10.1038/ncomms14755
75. Maartje Nielsen, Frederik J. Hes. MUTYH associated polyposis. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. Published May 2006. Accessed May 10, 2021. <http://atlasgeneticsoncology.org/Kprones/MYHpolypID10121.html>
76. Provenzale D, Ness RM, Llor X, et al. NCCN Guidelines Insights: Colorectal Cancer Screening, Version 2.2020. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020;18(10):1312-1320. doi:10.6004/jnccn.2020.0048
77. Azeem S, Gillani SW, Siddiqui A, Jandrajupalli SB, Poh V, Syed Sulaiman SA. Diet and colorectal cancer risk in Asia - A systematic review. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2015;16(13):5389-5396. doi:10.7314/APJCP.2015.16.13.5389
78. Pham NM, Mizoue T, Tanaka K, et al. Meat consumption and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol*. 2014;44(7):641-650. doi:10.1093/jjco/hyu061
79. Takachi R, Tsubono Y, Baba K, et al. Red meat intake may increase the risk of colon cancer in Japanese, a population with relatively low red meat consumption. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2011;20(4):603-612. doi:10.6133/apjcn.2011.20.4.14
80. Ozdemir Y, Akin ML, Sucullu I, Balta AZ, Yucel E. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic aid in colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(6):2647-2650. doi:10.7314/apjcp.2014.15.6.2647
81. Bernstein H, Bernstein C, Payne CM, Dvorak K. Bile acids as endogenous etiologic agents in gastrointestinal cancer. *World J Gastroenterol*. 2009;15(27):3329-3340. doi:10.3748/wjg.15.3329
82. Cockbain AJ, Toogood GJ, Hull MA. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. *Gut*. 2012;61(1):135-149. doi:10.1136/gut.2010.233718
83. Pham NM, Mizoue T, Tanaka K, et al. Fish consumption and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol*. 2013;43(9):935-941. doi:10.1093/jjco/hyt094
84. Song M, Wu K, Meyerhardt JA, et al. Fiber Intake and Survival After Colorectal Cancer Diagnosis. *JAMA Oncol*. 2018;4(1):71-79. doi:10.1001/jamaoncol.2017.3684
85. Nayak SP, Sasi MP, Sreejayan MP, Mandal S. A case-control study of roles of diet in colorectal carcinoma in a South Indian population. *Asian Pacific J*

- Cancer Prev.* 2009;10(4):565-568.
86. Miller EA, Keku TO, Satia JA, Martin CF, Galanko JA, Sandler RS. Calcium, vitamin D, and apoptosis in the rectal epithelium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(2):525-528. doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0466
 87. Mizoue T, Kimura Y, Toyomura K, et al. Calcium, dairy foods, vitamin D, and colorectal cancer risk: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(10):2800-2807. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0369
 88. Mahfouz EM, Sadek RR, Abdel-Latif WM, Mosallem FA-H, Hassan EE. The role of dietary and lifestyle factors in the development of colorectal cancer: case control study in Minia, Egypt. *Cent Eur J Public Health.* 2014;22(4):215-222. doi:10.21101/cejph.a3919
 89. Schoen RE, Tangen CM, Kuller LH, et al. Increased blood glucose and insulin, body size, and incident colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(13):1147-1154. doi:10.1093/jnci/91.13.1147
 90. Nakagawa-Senda H, Ito H, Hosono S, Oze I, Tanaka H, Matsuo K. Coffee consumption and the risk of colorectal cancer by anatomical subsite in Japan: Results from the HERPACC studies. *Int J cancer.* 2017;141(2):298-308. doi:10.1002/ijc.30746
 91. Cavin C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber WW, Schilter B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food Chem Toxicol.* 2002;40(8):1155-1163. doi:10.1016/s0278-6915(02)00029-7
 92. Nagengast FM, Grubben MJ, van Munster IP. Role of bile acids in colorectal carcinogenesis. *Eur J Cancer.* 31A(7-8):1067-1070. doi:10.1016/0959-8049(95)00216-6
 93. Degirolamo C, Modica S, Palasciano G, Moschetta A. Bile acids and colon cancer: Solving the puzzle with nuclear receptors. *Trends Mol Med.* 2011;17(10):564-572. doi:10.1016/j.molmed.2011.05.010
 94. Brown SR, Cann PA, Read NW. Effect of coffee on distal colon function. *Gut.* 1990;31(4):450-453. doi:10.1136/gut.31.4.450
 95. Van Blarigan EL, Meyerhardt JA. Role of Physical Activity and Diet After Colorectal Cancer Diagnosis. *J Clin Oncol.* 2015;33(16):1825-1834. doi:10.1200/JCO.2014.59.7799
 96. Ma Y, Yang Y, Wang F, et al. Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One.* 2013;8(1):e53916. doi:10.1371/journal.pone.0053916
 97. Lipkin M, Reddy B, Newmark H, Lamprecht SA. DIETARY FACTORS IN HUMAN COLORECTAL CANCER. *Annu Rev Nutr.* 1999;19(1):545-586. doi:10.1146/annurev.nutr.19.1.545
 98. Nkondjock A, Shatenstein B, Maisonneuve P, Ghadirian P. Specific fatty acids and human colorectal cancer: an overview. *Cancer Detect Prev.*

- 2003;27(1):55-66. doi:10.1016/s0361-090x(02)00179-4
99. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. *J Biol Chem.* 2001;276(20):16683-16689. doi:10.1074/jbc.M011695200
 100. Bartsch H, Nair J, Owen RW. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis.* 1999;20(12):2209-2218. doi:10.1093/carcin/20.12.2209
 101. Rose DP, Connolly JM. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol Ther.* 1999;83(3):217-244. doi:10.1016/s0163-7258(99)00026-1
 102. Zhao J, Halfyard B, Roebathan B, et al. Tobacco smoking and colorectal cancer: a population-based case-control study in Newfoundland and Labrador. *Can J Public Health.* 101(4):281-289. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21033532>
 103. Sharp L, McDevitt J, Brown C, Comber H. Smoking at diagnosis significantly decreases 5-year cancer-specific survival in a population-based cohort of 18 166 colon cancer patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(6):788-800. doi:10.1111/apt.13944
 104. Vieira AR, Abar L, Chan DSM, et al. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2017;28(8):1788-1802. doi:10.1093/annonc/mdx171
 105. Park S-Y, Wilkens LR, Setiawan VW, Monroe KR, Haiman CA, Le Marchand L. Alcohol Intake and Colorectal Cancer Risk in the Multiethnic Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2019;188(1):67-76. doi:10.1093/aje/kwy208
 106. Baena R, Salinas P. Diet and colorectal cancer. *Maturitas.* 2015;80(3):258-264. doi:10.1016/j.maturitas.2014.12.017
 107. Schmid D, Leitzmann MF. Association between physical activity and mortality among breast cancer and colorectal cancer survivors: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2014;25(7):1293-1311. doi:10.1093/annonc/mdu012
 108. Michels KA, Pfeiffer RM, Brinton LA, Trabert B. Modification of the Associations Between Duration of Oral Contraceptive Use and Ovarian, Endometrial, Breast, and Colorectal Cancers. *JAMA Oncol.* 2018;4(4):516-521. doi:10.1001/jamaoncol.2017.4942
 109. Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2101-2114.e5. doi:10.1053/j.gastro.2010.01.058
 110. Thorat MA, Cuzick J. Role of aspirin in cancer prevention. *Curr Oncol Rep.* 2013;15(6):533-540. doi:10.1007/s11912-013-0351-3

111. Gu KJ, Li G. An Overview of Cancer Prevention: Chemoprevention and Immunoprevention. *J cancer Prev.* 2020;25(3):127-135. doi:10.15430/JCP.2020.25.3.127
112. Benamouzig R, Uzzan B, Martin A, et al. Cyclooxygenase-2 expression and recurrence of colorectal adenomas: effect of aspirin chemoprevention. *Gut.* 2010;59(5):622-629. doi:10.1136/gut.2008.175406
113. Chan AT. COX-2 expression in adenoma: an imperfect marker for chemoprevention. *Gut.* 2010;59(5):568-569. doi:10.1136/gut.2009.200014
114. Stidham RW, Higgins PDR. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Colon Rectal Surg.* 2018;31(3):168-178. doi:10.1055/s-0037-1602237
115. Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L. Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(6):639-645. doi:10.1016/j.cgh.2012.01.010
116. Jess T, Horváth-Puhó E, Fallingborg J, Rasmussen HH, Jacobsen BA. Cancer risk in inflammatory bowel disease according to patient phenotype and treatment: a Danish population-based cohort study. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(12):1869-1876. doi:10.1038/ajg.2013.249
117. Söderlund S, Brandt L, Lapidus A, et al. Decreasing time-trends of colorectal cancer in a large cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2009;136(5):1561-1567; quiz 1818-1819. doi:10.1053/j.gastro.2009.01.064
118. Bernstein CN, Blanchard JF, Kliever E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer.* 2001;91(4):854-862. doi:10.1002/1097-0142(20010215)91:4<854::aid-cncr1073>3.0.co;2-z
119. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut.* 2001;48(4):526-535. doi:10.1136/gut.48.4.526
120. Idigoras I, Arrospide A, Portillo I, et al. Evaluation of the colorectal cancer screening Programme in the Basque Country (Spain) and its effectiveness based on the Miscan-colon model. *BMC Public Health.* 2017;18(1):78. doi:10.1186/s12889-017-4639-3
121. V CAP, Latorre K. Prevención de Cáncer Colón Rectal. Published online 2008.
122. Navarro M, Nicolas A, Ferrandez A, Lanás A. Colorectal cancer population screening programs worldwide in 2016: An update. *World J Gastroenterol.* 2017;23(20):3632-3642. doi:10.3748/wjg.v23.i20.3632
123. Andreoni B, Chiappa A, Bertani E, et al. Surgical outcomes for colon and rectal cancer over a decade: results from a consecutive monocentric experience in 902 unselected patients. *World J Surg Oncol.* 2007;5:73. doi:10.1186/1477-7819-5-73
124. Omranipour R, Mahmoodzadeh H, Safavi F. Prevalence of local recurrence of colorectal cancer at the Iranian Cancer Institute. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8587-8589. doi:10.7314/apjcp.2014.15.20.8587

125. Evrard C, Tachon G, Randrian V, Karayan-Tapon L, Tougeron D. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10). doi:10.3390/cancers11101567
126. Rajagopalan H, Lengauer C. Aneuploidy and cancer. *Nature*. 2004;432(7015):338-341. doi:10.1038/nature03099
127. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. 1988;319(9):525-532. doi:10.1056/NEJM198809013190901
128. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759-767. doi:10.1016/0092-8674(90)90186-i
129. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 23(1-2):11-27. doi:10.1023/a:1025861527711
130. Poon RYC. Cell Cycle Control: A System of Interlinking Oscillators. *Methods Mol Biol*. 2016;1342:3-19. doi:10.1007/978-1-4939-2957-3_1
131. Loeb LA. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res*. 1991;51(12):3075-3079. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2039987>
132. Day DW. The adenoma-carcinoma sequence. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1984;104:99-107. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6597553>
133. Pretlow TP, Barrow BJ, Ashton WS, et al. Aberrant crypts: putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. *Cancer Res*. 1991;51(5):1564-1567. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1997197>
134. Ribeiro Aziz Ydy L, Ricardo Camarço-Silva W, Vilela Medeiros-Filho W. A Genetic Perspective on Colorectal Cancer Progression. In: *Multidisciplinary Approach for Colorectal Cancer*. IntechOpen; 2019. doi:10.5772/intechopen.85894
135. Palacio Rua KA, Muñetón Peña CM. Bases moleculares del cáncer colorrectal. *Iatreia* vol.25 no.2 Medellín. Published 2012. Accessed May 10, 2021. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932012000200006
136. Jass JR. Serrated adenoma of the colorectum and the DNA-methylator phenotype. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005;2(8):398-405. doi:10.1038/ncponc0248
137. Recio-Boiles A, Cagir B. *Colon Cancer*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29262132>
138. Worthley D-L, Whitehall V-L, Spring K-J, Leggett B-A. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13(28):3784-3791. doi:10.3748/wjg.v13.i28.3784
139. Nojadeh JN, Behrouz Sharif S, Sakhinia E. Microsatellite instability in colorectal cancer. *EXCLI J*. 2018;17:159-168. doi:10.17179/excli2017-948

140. Walther A, Houlston R, Tomlinson I. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut*. 2008;57(7):941-950. doi:10.1136/gut.2007.135004
141. Haigis KM, Kendall KR, Wang Y, et al. Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon. *Nat Genet*. 2008;40(5):600-608. doi:10.1038/ng.115
142. Rao C V, Yamada HY. Genomic instability and colon carcinogenesis: from the perspective of genes. *Front Oncol*. 2013;3:130. doi:10.3389/fonc.2013.00130
143. Zenonos K, Kyprianou K. RAS signaling pathways, mutations and their role in colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2013;5(5):97-101. doi:10.4251/wjgo.v5.i5.97
144. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science*. 1989;244(4901):217-221. doi:10.1126/science.2649981
145. Samuels Y, Velculescu VE. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers. *Cell Cycle*. 2004;3(10):1221-1224. doi:10.4161/cc.3.10.1164
146. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, et al. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science*. 1995;268(5215):1336-1338. doi:10.1126/science.7761852
147. Thiagalingam S, Lengauer C, Leach FS, et al. Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. *Nat Genet*. 1996;13(3):343-346. doi:10.1038/ng0796-343
148. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2059-2072. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.065
149. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science*. 2007;318(5853):1108-1113. doi:10.1126/science.1145720
150. Leary RJ, Lin JC, Cummins J, et al. Integrated analysis of homozygous deletions, focal amplifications, and sequence alterations in breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(42):16224-16229. doi:10.1073/pnas.0808041105
151. Fearnhead NS, Britton MP, Bodmer WF. The ABC of APC. *Hum Mol Genet*. 2001;10(7):721-733. doi:10.1093/hmg/10.7.721
152. Wang D, Zhang Z, Li Y, et al. Adenomatous Polyposis Coli Gene Mutations in 22 Chinese Pedigrees with Familial Adenomatous Polyposis. *Med Sci Monit*. 2019;25:3796-3803. doi:10.12659/MSM.913911
153. Draviam VM, Shapiro I, Aldridge B, Sorger PK. Misorientation and reduced stretching of aligned sister kinetochores promote chromosome missegregation in EB1- or APC-depleted cells. *EMBO J*. 2006;25(12):2814-2827. doi:10.1038/sj.emboj.7601168
154. Otori K, Konishi M, Sugiyama K, et al. Infrequent somatic mutation of the adenomatous polyposis coli gene in aberrant crypt foci of human colon tissue.

- Cancer*. 1998;83(5):896-900. doi:10.1002/(sici)1097-0142(19980901)83:5<896::aid-cnrc14>3.0.co;2-q
155. Miyaki M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, et al. Characteristics of somatic mutation of the adenomatous polyposis coli gene in colorectal tumors. *Cancer Res*. 1994;54(11):3011-3020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8187091>
 156. Cottrell S, Bicknell D, Kaklamanis L, Bodmer WF. Molecular analysis of APC mutations in familial adenomatous polyposis and sporadic colon carcinomas. *Lancet (London, England)*. 1992;340(8820):626-630. doi:10.1016/0140-6736(92)92169-g
 157. Esteller M, Sparks A, Toyota M, et al. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res*. 2000;60(16):4366-4371. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10969779>
 158. Knickelbein K, Zhang L. Mutant KRAS as a critical determinant of the therapeutic response of colorectal cancer. *Genes Dis*. 2015;2(1):4-12. doi:10.1016/j.gendis.2014.10.002
 159. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(11):761-774. doi:10.1038/nrc3106
 160. Lowy DR, Willumsen BM. Function and regulation of ras. *Annu Rev Biochem*. 1993;62:851-891. doi:10.1146/annurev.bi.62.070193.004223
 161. Alzahrani AS. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in cancer: At the bench and bedside. *Semin Cancer Biol*. 2019;59:125-132. doi:10.1016/j.semcancer.2019.07.009
 162. Molina-Cerrillo J, San Román M, Pozas J, et al. BRAF Mutated Colorectal Cancer: New Treatment Approaches. *Cancers (Basel)*. 2020;12(6). doi:10.3390/cancers12061571
 163. Takayama T, Ohi M, Hayashi T, et al. Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*. 2001;121(3):599-611. doi:10.1053/gast.2001.27203
 164. Pretlow TP, Pretlow TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? *Biochim Biophys Acta*. 2005;1756(2):83-96. doi:10.1016/j.bbcan.2005.06.002
 165. Santini D, Loupakis F, Vincenzi B, et al. High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: implications for clinical practice. *Oncologist*. 2008;13(12):1270-1275. doi:10.1634/theoncologist.2008-0181
 166. Prenen H, Tejpar S, Van Cutsem E. New strategies for treatment of KRAS mutant metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(11):2921-2926. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2029
 167. Sullivan KM, Kozuch PS. Impact of KRAS Mutations on Management of Colorectal Carcinoma. *Patholog Res Int*. 2011;2011:219309. doi:10.4061/2011/219309

168. Tewari M, Krishnamurthy A, Shukla HS. Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Surg Oncol*. 2008;17(4):301-311. doi:10.1016/j.suronc.2008.03.003
169. Chen M-B, Zhu Y-Q, Xu J-Y, et al. Value of TP53 status for predicting response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(6):e39655. doi:10.1371/journal.pone.0039655
170. Saha MN, Qiu L, Chang H. Targeting p53 by small molecules in hematological malignancies. *J Hematol Oncol*. 2013;6:23. doi:10.1186/1756-8722-6-23
171. Li X-LL, Zhou J, Chen Z-RR, Chng W-JJ. P53 mutations in colorectal cancer - molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(1):84-93. doi:10.3748/wjg.v21.i1.84
172. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Sato Y, Niitsu Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol*. 2006;41(3):185-192. doi:10.1007/s00535-006-1801-6
173. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg*. 2002;89(7):845-860. doi:10.1046/j.1365-2168.2002.02120.x
174. Manne U, Weiss HL, Myers RB, et al. Nuclear accumulation of p53 in colorectal adenocarcinoma: prognostic importance differs with race and location of the tumor. *Cancer*. 1998;83(12):2456-2467. doi:10.1002/(sici)1097-0142(19981215)83:12<2456::aid-cnrc8>3.0.co;2-5
175. Elsaleh H, Powell B, McCaul K, et al. P53 alteration and microsatellite instability have predictive value for survival benefit from chemotherapy in stage III colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2001;7(5):1343-1349. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11350904>
176. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, et al. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. *J Clin Oncol*. 2003;21(2):241-250. doi:10.1200/JCO.2003.05.044
177. Garrity MM, Burgart LJ, Mahoney MR, et al. Prognostic Value of Proliferation, Apoptosis, Defective DNA Mismatch Repair, and p53 Overexpression in Patients With Resected Dukes' B2 or C Colon Cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22(9):1572-1582. doi:10.1200/JCO.2004.10.042
178. Soong R, Grieu F, Robbins P, et al. p53 alterations are associated with improved prognosis in distal colonic carcinomas. *Clin Cancer Res*. 1997;3(8):1405-1411. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9815825>
179. Ahnen DJ, Feigl P, Quan G, et al. Ki-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *Cancer Res*. 1998;58(6):1149-1158. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9515799>
180. Adrover E, Maestro ML, Sanz-Casla MT, et al. Expression of high p53 levels in

- colorectal cancer: a favourable prognostic factor. *Br J Cancer*. 1999;81(1):122-126. doi:10.1038/sj.bjc.6690660
181. Noske A, Lipka S, Budczies J, et al. Combination of p53 expression and p21 loss has an independent prognostic impact on sporadic colorectal cancer. *Oncol Rep*. 2009;22(1):3-9. doi:10.3892/or_00000398
 182. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2001;344(16):1196-1206. doi:10.1056/NEJM200104193441603
 183. Allegra CJ, Parr AL, Wold LE, et al. Investigation of the prognostic and predictive value of thymidylate synthase, p53, and Ki-67 in patients with locally advanced colon cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(7):1735-1743. doi:10.1200/JCO.2002.07.080
 184. Ince WL, Jubb AM, Holden SN, et al. Association of k-ras, b-raf, and p53 status with the treatment effect of bevacizumab. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(13):981-989. doi:10.1093/jnci/dji174
 185. Popat S, Chen Z, Zhao D, et al. A prospective, blinded analysis of thymidylate synthase and p53 expression as prognostic markers in the adjuvant treatment of colorectal cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2006;17(12):1810-1817. doi:10.1093/annonc/mdl301
 186. Ten Kate FJC, Suzuki L, Dorssers LCJ, et al. Pattern of p53 protein expression is predictive for survival in chemoradiotherapy-naïve esophageal adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(61):104123-104135. doi:10.18632/oncotarget.22021
 187. Murányi B, Hortobágyi T. Immunohistochemical correlates of TP53 somatic mutations in cancer. *Oncotarget*. 2016;7(40):64910-64920. doi:10.18632/oncotarget.11912
 188. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, et al. Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Prim*. 2015;1:15065. doi:10.1038/nrdp.2015.65
 189. Boyle DP, McArt DG, Irwin G, et al. The prognostic significance of the aberrant extremes of p53 immunophenotypes in breast cancer. *Histopathology*. 2014;65(3):340-352. doi:10.1111/his.12398
 190. Kastelein F, Biermann K, Steyerberg EW, et al. Aberrant p53 protein expression is associated with an increased risk of neoplastic progression in patients with Barrett's oesophagus. *Gut*. 2013;62(12):1676-1683. doi:10.1136/gutjnl-2012-303594
 191. Koçak A, Heselmeyer-Haddad K, Lischka A, et al. High Levels of Chromosomal Copy Number Alterations and TP53 Mutations Correlate with Poor Outcome in Younger Breast Cancer Patients. *Am J Pathol*. 2020;190(8):1643-1656. doi:10.1016/j.ajpath.2020.04.015
 192. Simbolo M, Vicentini C, Ruzzenente A, et al. Genetic alterations analysis in prognostic stratified groups identified TP53 and ARID1A as poor clinical performance markers in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Sci Rep*.

- 2018;8(1):7119. doi:10.1038/s41598-018-25669-1
193. Leroy B, Fournier JL, Ishioka C, et al. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database issue):D962-9. doi:10.1093/nar/gks1033
 194. Sarasqueta AF, Forte G, Corver WE, et al. Integral analysis of p53 and its value as prognostic factor in sporadic colon cancer. *BMC Cancer.* 2013;13:277. doi:10.1186/1471-2407-13-277
 195. Smith DR, Ji CY, Goh HS. Prognostic significance of p53 overexpression and mutation in colorectal adenocarcinomas. *Br J Cancer.* 1996;74(2):216-223. doi:10.1038/bjc.1996.340
 196. Cole AJ, Dwight T, Gill AJ, et al. Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing. *Sci Rep.* 2016;6:26191. doi:10.1038/srep26191
 197. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature.* 2001;411(6835):366-374. doi:10.1038/35077232
 198. Loughrey MB, McGrath J, Coleman HG, et al. Identifying mismatch repair-deficient colon cancer: near-perfect concordance between immunohistochemistry and microsatellite instability testing in a large, population-based series. *Histopathology.* 2021;78(3):401-413. doi:10.1111/his.14233
 199. Leggett B, Whitehall V. Role of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer Pathogenesis. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2088-2100. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.066
 200. Moreira L. [Serrated polyps: detection, risk of colorectal cancer and treatment and surveillance strategies]. *Gastroenterol Hepatol.* 2011;34 Suppl 2:73-77. doi:10.1016/S0210-5705(11)70024-3
 201. Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(1):65-81. doi:10.1097/00000478-200301000-00008
 202. Carballal S, Moreira L, Balaguer F. Pólipos serrados y síndrome de poliposis serrada. *Cir Esp.* 2013;91(3):141-148. doi:10.1016/j.ciresp.2012.12.001
 203. Patil DT, Shadrach BL, Rybicki LA, Leach BH, Pai RK. Proximal colon cancers and the serrated pathway: a systematic analysis of precursor histology and BRAF mutation status. *Mod Pathol.* 2012;25(10):1423-1431. doi:10.1038/modpathol.2012.98
 204. Murakami T, Sakamoto N, Nagahara A. Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma/polyp with and without dysplasia/carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2018;24(29):3250-3259. doi:10.3748/wjg.v24.i29.3250
 205. Okamoto K, Kitamura S, Kimura T, et al. Clinicopathological characteristics of serrated polyps as precursors to colorectal cancer: Current status and management. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017;32(2):358-367. doi:10.1111/jgh.13482

206. Kalady MF. Sessile serrated polyps: an important route to colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013;11(12):1585-1594. doi:10.6004/jnccn.2013.0182
207. Michaloglou C, Vredeveld LCW, Mooi WJ, Peeper DS. BRAF(E600) in benign and malignant human tumours. *Oncogene.* 2008;27(7):877-895. doi:10.1038/sj.onc.1210704
208. Afrăsânie V-A, Marinca MV, Alexa-Stratulat T, et al. KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer - practical implications for the clinician. *Radiol Oncol.* 2019;53(3):265-274. doi:10.2478/raon-2019-0033
209. Toon CW, Walsh MD, Chou A, et al. BRAFV600E immunohistochemistry facilitates universal screening of colorectal cancers for Lynch syndrome. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(10):1592-1602. doi:10.1097/PAS.0b013e31828f233d
210. Adar T, Rodgers LH, Shannon KM, et al. A tailored approach to BRAF and MLH1 methylation testing in a universal screening program for Lynch syndrome. *Mod Pathol.* 2017;30(3):440-447. doi:10.1038/modpathol.2016.211
211. Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, et al. Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(15):1151-1156. doi:10.1093/jnci/djt173
212. Manthravadi S, Sun W, Saeed A. Prognostic impact of BRAF V600E mutation in patients with non-metastatic colorectal cancer with microsatellite instability: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2018;36(15_suppl):3597-3597. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.3597
213. Kastrinos F, Syngal S. Screening patients with colorectal cancer for Lynch syndrome: what are we waiting for? *J Clin Oncol.* 2012;30(10):1024-1027. doi:10.1200/JCO.2011.40.7171
214. Ducreux M, Chamseddine A, Laurent-Puig P, et al. Molecular targeted therapy of BRAF-mutant colorectal cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2019;11:1758835919856494. doi:10.1177/1758835919856494
215. Seligmann JF, Fisher D, Smith CG, et al. Investigating the poor outcomes of BRAF-mutant advanced colorectal cancer: analysis from 2530 patients in randomised clinical trials. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2017;28(3):562-568. doi:10.1093/annonc/mdw645
216. Sahin IH, Kazmi SMA, Yorio JT, Bhadkamkar NA, Kee BK, Garrett CR. Rare Though Not Mutually Exclusive: A Report of Three Cases of Concomitant KRAS and BRAF Mutation and a Review of the Literature. *J Cancer.* 2013;4(4):320-322. doi:10.7150/jca.3619
217. Ford AC, Veldhuyzen van Zanten SJO, Rodgers CC, Talley NJ, Vakil NB, Moayyedi P. Diagnostic utility of alarm features for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut.* 2008;57(11):1545-1553. doi:10.1136/gut.2008.159723
218. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical

- Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2020;31(10):1291-1305. doi:10.1016/j.annonc.2020.06.022
219. Castells A. [Colorectal cancer screening]. *Gastroenterol Hepatol.* 2013;36 Suppl 2:66-72. doi:10.1016/S0210-5705(13)70055-4
220. NCCN. NCCN Clinica Practice Guidelines in Oncology Colorectal Cancer Screening. Published 2021. Accessed March 1, 2022. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colorectal_screening.pdf
221. Osakidetza. Programa de cribado de cáncer colorrectal - Cáncer - Osasun Eskola - Osakidetza. Published 2020. Accessed May 10, 2021. <https://www.osakidetza.euskadi.eus/enfermedad-cancer/-/programa-cribado-cancer-colorrectal/>
222. Guinigundo A. Is the Virtual Colonoscopy a Replacement for Optical Colonoscopy? *Semin Oncol Nurs.* 2018;34(2):132-136. doi:10.1016/j.soncn.2018.03.004
223. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional.* 9th ed. Elsevier; 2015.
224. Chen W, Pearlman R, Hampel H, et al. MSH6 immunohistochemical heterogeneity in colorectal cancer: comparative sequencing from different tumor areas. *Hum Pathol.* 2020;96:104-111. doi:10.1016/j.humpath.2019.11.003
225. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58(22):5248-5257. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9823339>
226. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(23):1758-1762. doi:10.1093/jnci/89.23.1758
227. Risio M, Reato G, di Celle PF, Fizzotti M, Rossini FP, Foà R. Microsatellite instability is associated with the histological features of the tumor in nonfamilial colorectal cancer. *Cancer Res.* 1996;56(23):5470-5474. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8968103>
228. Gupta R, Sinha S, Paul RN. The impact of microsatellite stability status in colorectal cancer. *Curr Probl Cancer.* 2018;42(6):548-559. doi:10.1016/j.currproblcancer.2018.06.010
229. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010;138(6):2073-2087.e3. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.064
230. Jin M, Hampel H, Zhou X, Schunemann L, Yearsley M, Frankel WL. BRAF V600E

- Mutation Analysis Simplifies the Testing Algorithm for Lynch Syndrome. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(2):177-183. doi:10.1309/AJCPB9FOVH1HGKFR
231. Joost P, Veurink N, Holck S, et al. Heterogenous mismatch-repair status in colorectal cancer. *Diagn Pathol.* 2014;9:126. doi:10.1186/1746-1596-9-126
 232. McCarthy AJ, Capo-Chichi J-M, Spence T, et al. Heterogenous loss of mismatch repair (MMR) protein expression: a challenge for immunohistochemical interpretation and microsatellite instability (MSI) evaluation. *J Pathol Clin Res.* 2019;5(2):115-129. doi:10.1002/cjp2.120
 233. Greenberg A, Kariv R, Solar I, Hershkovitz D. Geographic Heterogeneity for Mismatch Repair Proteins Is Associated with Defects in DNA Repair. *Isr Med Assoc J.* 2020;22(1):32-36. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31927803>
 234. Bartley AN, Hamilton SR, Alsabeh R, et al. *Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Colon and Rectum.*; 2014. Accessed May 10, 2021. <https://documents.cap.org/protocols/cp-gilower-colonrectum-14biomarker-1201.pdf>
 235. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med.* 2016;374(3):211-222. doi:10.1056/NEJMoa1506597
 236. Beck F. The role of Cdx genes in the mammalian gut. *Gut.* 2004;53(10):1394-1396. doi:10.1136/gut.2003.038240
 237. Sayar I, Akbas EM, Isik A, et al. Relationship among mismatch repair deficiency, CDX2 loss, p53 and E-cadherin in colon carcinoma and suitability of using a double panel of mismatch repair proteins by immunohistochemistry. *Pol J Pathol.* 2015;66(3):246-253. doi:10.5114/pjp.2015.54958
 238. Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2004;17(11):1392-1399. doi:10.1038/modpathol.3800205
 239. Bakaris S, Cetinkaya A, Ezberci F, Ekerbicer H. Expression of homeodomain protein CDX2 in colorectal adenoma and adenocarcinoma. *Histol Histopathol.* 2008;23(9):1043-1047. doi:10.14670/HH-23.1043
 240. Hinoi T, Tani M, Lucas PC, et al. Loss of CDX2 expression and microsatellite instability are prominent features of large cell minimally differentiated carcinomas of the colon. *Am J Pathol.* 2001;159(6):2239-2248. doi:10.1016/S0002-9440(10)63074-X
 241. Choi BJ, Kim CJ, Cho YG, et al. Altered expression of CDX2 in colorectal cancers. *APMIS.* 2006;114(1):50-54. doi:10.1111/j.1600-0463.2006.apm_292.x
 242. Baba Y, Nosho K, Shima K, et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(14):4665-4673. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0401

243. Rosty C, Williamson EJ, Clendenning M, et al. Should the grading of colorectal adenocarcinoma include microsatellite instability status? *Hum Pathol.* 2014;45(10):2077-2084. doi:10.1016/j.humpath.2014.06.020
244. De Sousa E Melo F, Wang X, Jansen M, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med.* 2013;19(5):614-618. doi:10.1038/nm.3174
245. Bae JM, Lee TH, Cho N-Y, Kim T-Y, Kang GH. Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol.* 2015;21(5):1457-1467. doi:10.3748/wjg.v21.i5.1457
246. Zlobec I, Bihl MP, Schwarb H, Terracciano L, Lugli A. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J cancer.* 2010;127(2):367-380. doi:10.1002/ijc.25042
247. Lugli A, Tzankov A, Zlobec I, Terracciano LM. Differential diagnostic and functional role of the multi-marker phenotype CDX2/CK20/CK7 in colorectal cancer stratified by mismatch repair status. *Mod Pathol.* 2008;21(11):1403-1412. doi:10.1038/modpathol.2008.117
248. den Uil SH, de Wit M, Slebos RJC, et al. Quantitative analysis of CDX2 protein expression improves its clinical utility as a prognostic biomarker in stage II and III colon cancer. *Eur J Cancer.* 2021;144:91-100. doi:10.1016/j.ejca.2020.10.029
249. Hansen TF, Kjær-Frifeldt S, Eriksen AC, et al. Prognostic impact of CDX2 in stage II colon cancer: results from two nationwide cohorts. *Br J Cancer.* 2018;119(11):1367-1373. doi:10.1038/s41416-018-0285-5
250. Olsen J, Eiholm S, Kirkeby LT, et al. CDX2 downregulation is associated with poor differentiation and MMR deficiency in colon cancer. *Exp Mol Pathol.* 2016;100(1):59-66. doi:10.1016/j.yexmp.2015.11.009
251. Dawson H, Galván JA, Helbling M, et al. Possible role of Cdx2 in the serrated pathway of colorectal cancer characterized by BRAF mutation, high-level CpG Island methylator phenotype and mismatch repair-deficiency. *Int J cancer.* 2014;134(10):2342-2351. doi:10.1002/ijc.28564
252. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(2):93-99. doi:10.3322/caac.21388
253. Arena EA, Bilchik AJ. What is the optimal means of staging colon cancer? *Adv Surg.* 2013;47:199-211. doi:10.1016/j.yasu.2013.03.001
254. Shia J, Klimstra DS, Bagci P, Basturk O, Adsay NV. TNM staging of colorectal carcinoma: issues and caveats. *Semin Diagn Pathol.* 2012;29(3):142-153. doi:10.1053/j.semmp.2012.02.001
255. Rosen RD, Sapro A. *TNM Classification.*; 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31985980>

256. Lawrence J, Burgart MD, Sanjay Kakar MD, David K. Driman, et al. *Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum.*; 2020. Accessed May 10, 2021. www.cap.org/cancerprotocols.
257. Sapin MR. [Lymphatic system and its significance in immune processes]. *Morfologija*. 2007;131(1):18-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17526257>
258. Buess G, Theiss R, Hutterer F, et al. [Transanal endoscopic surgery of the rectum - testing a new method in animal experiments]. *Leber Magen Darm*. 1983;13(2):73-77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6621245>
259. Saclarides TJ. Transanal Endoscopic Microsurgery. *Clin Colon Rectal Surg*. 2015;28(3):165-175. doi:10.1055/s-0035-1562889
260. Ahmed M. Colon Cancer: A Clinician's Perspective in 2019. *Gastroenterol Res*. 2020;13(1):1-10. doi:10.14740/gr1239
261. Cutting JE, Hallam SE, Thomas MG, Messenger DE. A systematic review of local excision followed by adjuvant therapy in early rectal cancer: are pT1 tumours the limit? *Colorectal Dis*. 2018;20(10):854-863. doi:10.1111/codi.14340
262. Min BS, Kim NK, Ko YT, et al. Long-term oncologic results of patients with distal rectal cancer treated by local excision with or without adjuvant treatment. *Int J Colorectal Dis*. 2007;22(11):1325-1330. doi:10.1007/s00384-007-0339-2
263. Balyasnikova S, Read J, Tait D, et al. The results of local excision with or without postoperative adjuvant chemoradiotherapy for early rectal cancer among patients choosing to avoid radical surgery. *Colorectal Dis*. 2017;19(2):139-147. doi:10.1111/codi.13477
264. Jeong J-U, Nam T-K, Kim H-R, et al. Adjuvant chemoradiotherapy instead of revision radical resection after local excision for high-risk early rectal cancer. *Radiat Oncol*. 2016;11(1):114. doi:10.1186/s13014-016-0692-9
265. Sasaki T, Ito Y, Ohue M, et al. Postoperative Chemoradiotherapy After Local Resection for High-Risk T1 to T2 Low Rectal Cancer: Results of a Single-Arm, Multi-Institutional, Phase II Clinical Trial. *Dis Colon Rectum*. 2017;60(9):914-921. doi:10.1097/DCR.0000000000000870
266. Saclarides TJ, Bhattacharyya AK, Britton-Kuzel C, Szeluga D, Economou SG. Predicting lymph node metastases in rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1994;37(1):52-57. doi:10.1007/BF02047215
267. Althumairi AA, Gearhart SL. Local excision for early rectal cancer: transanal endoscopic microsurgery and beyond. *J Gastrointest Oncol*. 2015;6(3):296-306. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2015.022
268. Javed MA, Shamim S, Slawik S, Andrews T, Montazeri A, Ahmed S. Long-term outcomes of patients with poor prognostic factors following transanal endoscopic microsurgery for early rectal cancer. *Colorectal Dis*. 2021;23(8):1953-1960. doi:10.1111/codi.15693
269. Pla-Martí V, Martín-Arévalo J, Moro-Valdezate D, et al. Impact of the novel

- powered circular stapler on risk of anastomotic leakage in colorectal anastomosis: a propensity score-matched study. *Tech Coloproctol.* 2021;25(3):279-284. doi:10.1007/s10151-020-02338-y
270. Genzor Ríos SJ, González-Nicolás Trebol MT, Aguirre Prat N, et al. Stent performance in obstructive left colon cancer. Unicentric and cross-sectional study. *Cir Esp.* 97(7):397-404. doi:10.1016/j.ciresp.2019.04.018
271. Veld J V, Amelung FJ, Borstlap WAA, et al. Comparison of Decompressing Stoma vs Stent as a Bridge to Surgery for Left-Sided Obstructive Colon Cancer. *JAMA Surg.* 2020;155(3):206-215. doi:10.1001/jamasurg.2019.5466
272. Jain SR, Yaow CYL, Ng CH, et al. Comparison of colonic stents, stomas and resection for obstructive left colon cancer: a meta-analysis. *Tech Coloproctol.* 2020;24(11):1121-1136. doi:10.1007/s10151-020-02296-5
273. Hawkins AT, Albutt K, Wise PE, et al. Abdominoperineal Resection for Rectal Cancer in the Twenty-First Century: Indications, Techniques, and Outcomes. *J Gastrointest Surg.* 2018;22(8):1477-1487. doi:10.1007/s11605-018-3750-9
274. Wiig JN, Larsen SG, Dueland S, Giercksky K-E. Preoperative irradiation and surgery for local recurrence of rectal and rectosigmoid cancer. Prognostic factors with regard to survival and further local recurrence. *Colorectal Dis.* 2008;10(1):48-57. doi:10.1111/j.1463-1318.2007.01398.x
275. Ferenschild FTJ, Vermaas M, Verhoef C, et al. Total pelvic exenteration for primary and recurrent malignancies. *World J Surg.* 2009;33(7):1502-1508. doi:10.1007/s00268-009-0066-7
276. Mehrling T. Chemotherapy is getting “smarter”. *Future Oncol.* 2015;11(4):549-552. doi:10.2217/fon.14.248
277. SEOM. ¿Qué es, cómo funciona y tipos de quimioterapia? - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019. Accessed May 10, 2021. <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/que-es-como-funciona-y-tipos-de-quimioterapia?start=2>
278. Benson AB, Al-Hawary MM, Arain MA, et al. *NCCN Guidelines Version 2.2021 Colon Cancer Continue NCCN Guidelines Panel Disclosures.*; 2021. Accessed May 10, 2021. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
279. Oh HJ, Bae JM, Wen X, et al. p53 expression status is associated with cancer-specific survival in stage III and high-risk stage II colorectal cancer patients treated with oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer.* 2019;120(8):797-805. doi:10.1038/s41416-019-0429-2
280. Parish CR. Cancer immunotherapy: the past, the present and the future. *Immunol Cell Biol.* 2003;81(2):106-113. doi:10.1046/j.0818-9641.2003.01151.x
281. Coley WB. THE TREATMENT OF MALIGNANT TUMORS BY REPEATED INOCULATIONS OF ERYSIPELAS: WITH A REPORT OF TEN ORIGINAL CASES.1 - ProQuest. *Am J Med Sci.* Published online May 1893. Accessed May 10, 2021.

- <https://www.proquest.com/openview/09fb106c24157c028c895edfa804955/1?pq-origsite=gscholar&cbl=41361>
282. Flamand V, Sornasse T, Thielemans K, et al. Murine dendritic cells pulsed in vitro with tumor antigen induce tumor resistance in vivo. *Eur J Immunol.* 1994;24(3):605-610. doi:10.1002/eji.1830240317
 283. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol.* 2005;23(3):609-618. doi:10.1200/JCO.2005.01.086
 284. Ganesh K, Stadler ZK, Cercek A, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(6):361-375. doi:10.1038/s41575-019-0126-x
 285. Folkesson J, Birgisson H, Pahlman L, Cedermark B, Glimelius B, Gunnarsson U. Swedish Rectal Cancer Trial: long lasting benefits from radiotherapy on survival and local recurrence rate. *J Clin Oncol.* 2005;23(24):5644-5650. doi:10.1200/JCO.2005.08.144
 286. Agranovich A, Berthelet E. Radiotherapy for colorectal cancer . *Br Columbia Med J.* 2000;42. Accessed May 10, 2021. <https://bcmj.org/articles/radiotherapy-colorectal-cancer>
 287. Häfner MF, Debus J. Radiotherapy for Colorectal Cancer: Current Standards and Future Perspectives. *Visc Med.* 2016;32(3):172-177. doi:10.1159/000446486
 288. Brown KGM, Solomon MJ, Mahon K, O'Shannassy S. Management of colorectal cancer. *BMJ.* 2019;366:l4561. doi:10.1136/bmj.l4561
 289. Wilkinson N. Management of Rectal Cancer. *Surg Clin North Am.* 2020;100(3):615-628. doi:10.1016/j.suc.2020.02.014
 290. Johncilla M, Yantiss RK. Histology of Colorectal Carcinoma: Proven and Purported Prognostic Factors. *Surg Pathol Clin.* 2020;13(3):503-520. doi:10.1016/j.path.2020.05.008
 291. Al-Sukhni E, Attwood K, Gabriel EM, LeVea CM, Kanehira K, Nurkin SJ. Lymphovascular and perineural invasion are associated with poor prognostic features and outcomes in colorectal cancer: A retrospective cohort study. *Int J Surg.* 2017;37:42-49. doi:10.1016/j.ijssu.2016.08.528
 292. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer. *Cancer.* 2009;115(15):3379-3391. doi:10.1002/cncr.24396
 293. Rocha R, Marinho R, Aparício D, et al. Impact of bowel resection margins in node negative colon cancer. *Springerplus.* 2016;5(1):1959. doi:10.1186/s40064-016-3650-y
 294. Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol (Madr).* 2010;49(1):57-62. doi:10.3109/02841860903334411
 295. Cho YB, Chun H-K, Yun HR, Kim HC, Yun SH, Lee WY. Histological grade predicts

- survival time associated with recurrence after resection for colorectal cancer. *Hepatogastroenterology*. 56(94-95):1335-1340. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19950787>
296. Compton CC. Pathology report in colon cancer: what is prognostically important? *Dig Dis*. 1999;17(2):67-79. doi:10.1159/000016908
 297. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(3):153-173. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030
 298. Chandler I, Houlston RS. Interobserver agreement in grading of colorectal cancers—findings from a nationwide web-based survey of histopathologists. *Histopathology*. 2008;52(4):494-499. doi:10.1111/j.1365-2559.2008.02976.x
 299. Bosman F, Carneiro F, Hruban R, Theise N. *Digestive System Tumours WHO Classification of Tumours, 5th Edition*,. 5th ed. World Health Organization; 2019.
 300. Mekenkamp LJM, Heesterbeek KJ, Koopman M, et al. Mucinous adenocarcinomas: Poor prognosis in metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2012;48(4):501-509. doi:10.1016/j.ejca.2011.12.004
 301. De Divitiis C. Prognostic and predictive response factors in colorectal cancer patients: Between hope and reality. *World J Gastroenterol*. 2014;20(41):15049. doi:10.3748/wjg.v20.i41.15049
 302. Piton N, Borrini F, Bolognese A, Lamy A, Sabourin J-C. KRAS and BRAF Mutation Detection: Is Immunohistochemistry a Possible Alternative to Molecular Biology in Colorectal Cancer? *Gastroenterol Res Pract*. 2015;2015:1-8. doi:10.1155/2015/753903
 303. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019;1897:289-298. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_25
 304. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2003;349(3):247-257. doi:10.1056/NEJMoa022289
 305. Maccaroni E, Bracci R, Giampieri R, et al. Prognostic impact of mismatch repair genes germline defects in colorectal cancer patients: are all mutations equal? *Oncotarget*. 2015;6(36):38737-38748. doi:10.18632/oncotarget.5395
 306. Klump B, Nehls O, Okech T, et al. Molecular lesions in colorectal cancer: impact on prognosis? Original data and review of the literature. *Int J Colorectal Dis*. 2004;19(1):23-42. doi:10.1007/s00384-003-0499-7
 307. Hartman DJ, Frank M, Seigh L, et al. Automated Quantitation of CD8-positive T Cells Predicts Prognosis in Colonic Adenocarcinoma With Mucinous, Signet Ring Cell, or Medullary Differentiation Independent of Mismatch Repair Protein Status. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(7):991-1001. doi:10.1097/PAS.0000000000001468

308. Hestetun KE, Aasebø K, Rosenlund NB, Müller Y, Dahl O, Myklebust MP. Mismatch repair phenotype determines the implications of tumor grade and CDX2 expression in stage II-III colon cancer. *Mod Pathol*. 2021;34(1):161-170. doi:10.1038/s41379-020-0634-9
309. Tsilimigras DI, Ntanasis-Stathopoulos I, Bagante F, et al. Clinical significance and prognostic relevance of KRAS, BRAF, PI3K and TP53 genetic mutation analysis for resectable and unresectable colorectal liver metastases: A systematic review of the current evidence. *Surg Oncol*. 2018;27(2):280-288. doi:10.1016/j.suronc.2018.05.012
310. Serova M, Astorgues-Xerri L, Bieche I, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition and oncogenic Ras expression in resistance to the protein kinase Cbeta inhibitor enzastaurin in colon cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2010;9(5):1308-1317. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0167
311. Lv W, Zhang GQ, Jiao A, et al. Chemotherapy Plus Cetuximab versus Chemotherapy Alone for Patients with KRAS Wild Type Unresectable Liver-Confined Metastases Colorectal Cancer: An Updated Meta-Analysis of RCTs. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017:8464905. doi:10.1155/2017/8464905
312. Passiglia F, Bronte G, Bazan V, Galvano A, Vincenzi B, Russo A. Can KRAS and BRAF mutations limit the benefit of liver resection in metastatic colorectal cancer patients? A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;99:150-157. doi:10.1016/j.critrevonc.2015.12.015
313. Brudvik KW, Kopetz SE, Li L, Conrad C, Aloia TA, Vauthey J-N. Meta-analysis of KRAS mutations and survival after resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg*. 2015;102(10):1175-1183. doi:10.1002/bjs.9870
314. Sanz-Garcia E, Argiles G, Elez E, Tabernero J. BRAF mutant colorectal cancer: prognosis, treatment, and new perspectives. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017;28(11):2648-2657. doi:10.1093/annonc/mdx401
315. Zarkavelis G, Boussios S, Papadaki A, Katsanos KH, Christodoulou DK, Pentheroudakis G. Current and future biomarkers in colorectal cancer. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(6):613-621. doi:10.20524/aog.2017.0191
316. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol*. 2015;16(13):1306-1315. doi:10.1016/S1470-2045(15)00122-9
317. Renaud S, Romain B, Falcoz P-E, et al. KRAS and BRAF mutations are prognostic biomarkers in patients undergoing lung metastasectomy of colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2015;112(4):720-728. doi:10.1038/bjc.2014.499
318. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, et al. Assessment of mismatch repair deficiency, CDX2, beta-catenin and E-cadherin expression in colon cancer: molecular characteristics and impact on prognosis and survival - an immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol*. 61(3):715-727.

- doi:10.47162/RJME.61.3.10
319. Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot IC. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology*. 2002;40(2):127-132. doi:10.1046/j.1365-2559.2002.01324.x
 320. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol*. 2017;30(9):1299-1311. doi:10.1038/modpathol.2017.46
 321. Imai T. The growth of human carcinoma: A morphological analysis. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 1954;45:72-102.
 322. Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K, Kakegawa K, Irie K, Morimatsu M. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. *Cancer*. 1989;63(3):539-543. doi:10.1002/1097-0142(19890201)63:3<539::aid-cnrcr2820630323>3.0.co;2-s
 323. Lino-Silva LS, Salcedo-Hernández RA, Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review. *Contemp Oncol (Poznan, Poland)*. 2018;22(2):61-74. doi:10.5114/wo.2018.77043
 324. Mitrovic B, Schaeffer DF, Riddell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol*. 2012;25(10):1315-1325. doi:10.1038/modpathol.2012.94
 325. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2012;106(11):1713-1717. doi:10.1038/bjc.2012.127
 326. van Wyk HC, Park J, Roxburgh C, Horgan P, Foulis A, McMillan DC. The role of tumour budding in predicting survival in patients with primary operable colorectal cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev*. 2015;41(2):151-159. doi:10.1016/j.ctrv.2014.12.007
 327. De Smedt L, Palmans S, Sagaert X. Tumour budding in colorectal cancer: what do we know and what can we do? *Virchows Arch*. 2016;468(4):397-408. doi:10.1007/s00428-015-1886-5
 328. Rogers AC, Winter DC, Heeney A, et al. Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2016;115(7):831-840. doi:10.1038/bjc.2016.274
 329. Bosch S, Teerenstra S, de Wilt J, Cunningham C, Nagtegaal I. Predicting lymph node metastasis in pT1 colorectal cancer: a systematic review of risk factors providing rationale for therapy decisions. *Endoscopy*. 2013;45(10):827-841. doi:10.1055/s-0033-1344238
 330. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, et al. Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127(2):385-394. doi:10.1053/j.gastro.2004.04.022
 331. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for

- diagnostic practice? *Hum Pathol.* 2016;47(1):4-19. doi:10.1016/j.humpath.2015.08.007
332. Huebner M, Wolff BG, Smyrk TC, Aakre J, Larson DW. Partial Pathologic Response and Nodal Status as Most Significant Prognostic Factors for Advanced Rectal Cancer Treated With Preoperative Chemoradiotherapy. *World J Surg.* 2012;36(3):675-683. doi:10.1007/s00268-011-1409-8
333. Du C, Xue W, Li J, Cai Y, Gu J. Morphology and prognostic value of tumor budding in rectal cancer after neoadjuvant radiotherapy. *Hum Pathol.* 2012;43(7):1061-1067. doi:10.1016/j.humpath.2011.07.026
334. Sannier A, Lefèvre JH, Panis Y, Cazals-Hatem D, Bedossa P, Guedj N. Pathological prognostic factors in locally advanced rectal carcinoma after neoadjuvant radiochemotherapy: analysis of 113 cases. *Histopathology.* 2014;65(5):623-630. doi:10.1111/his.12432
335. Kulendran M, Stebbing JF, Marks CG, Rockall TA. Predictive and Prognostic Factors in Colorectal Cancer: A Personalized Approach. *Cancers (Basel).* 2011;3(2):1622-1638. doi:10.3390/cancers3021622
336. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The gastrointestinal tumor study group experience. *Cancer.* 1986;57(9):1866-1870. doi:10.1002/1097-0142(19860501)57:9<1866::AID-CNCR2820570928>3.0.CO;2-T
337. Chen T-M, Huang Y-T, Wang G-C. Outcome of colon cancer initially presenting as colon perforation and obstruction. *World J Surg Oncol.* 2017;15(1):164. doi:10.1186/s12957-017-1228-y
338. Hermanek P, Wittekind C. Residual tumor (R) classification and prognosis. *Semin Surg Oncol.* 10(1):12-20. doi:10.1002/ssu.2980100105
339. Orive M, Anton A, Gonzalez N, et al. Factors associated with colon cancer early, intermediate and late recurrence after surgery for stage I-III: A 5-year prospective study. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2020;29(6):e13317. doi:10.1111/ecc.13317
340. Ludmir EB, Palta M, Willett CG, Czito BG. Total neoadjuvant therapy for rectal cancer: An emerging option. *Cancer.* 2017;123(9):1497-1506. doi:10.1002/cncr.30600
341. Ruo L, Tickoo S, Klimstra DS, et al. Long-Term Prognostic Significance of Extent of Rectal Cancer Response to Preoperative Radiation and Chemotherapy. *Ann Surg.* 2002;236(1):75-81. doi:10.1097/0000658-200207000-00012
342. Gavioli M, Luppi G, Losi L, et al. Incidence and Clinical Impact of Sterilized Disease and Minimal Residual Disease After Preoperative Radiochemotherapy for Rectal Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(10):1851-1857. doi:10.1007/s10350-005-0133-6
343. Ryan R, Gibbons D, Hyland JMP, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology.* 2005;47(2):141-146. doi:10.1111/j.1365-2559.2005.02176.x

344. Jin M, Roth R, Rock JB, Washington MK, Lehman A, Frankel WL. The Impact of Tumor Deposits on Colonic Adenocarcinoma AJCC TNM Staging and Outcome. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(1):109-115. doi:10.1097/PAS.0000000000000320
345. Wang JY, Tang R, Chiang JM. Value of carcinoembryonic antigen in the management of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1994;37(3):272-277. doi:10.1007/BF02048166
346. Thomsen M, Skovlund E, Sorbye H, et al. Prognostic role of carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 in metastatic colorectal cancer: a BRAF-mutant subset with high CA 19-9 level and poor outcome. *Br J Cancer*. 2018;118(12):1609-1616. doi:10.1038/s41416-018-0115-9
347. Fujiwara Y. Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 are prognostic predictors of colorectal cancer with unresectable liver metastasis. *Oncol Lett*. Published online January 18, 2012. doi:10.3892/ol.2012.574
348. Sailburuordetza O. Incidencia del cáncer en la comunidad autónoma del país vasco 2008-2009. Published online 2013:1-39.
349. Ojembarrena E, Latorre K, Gutierrez ML, et al. *Prevención de Cáncer Colón Rectal En La C.A.P.V.*; 2008.
350. Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, Sun TT. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *J Cell Biol*. 1982;95(2 Pt 1):580-588. doi:10.1083/jcb.95.2.580
351. DAKO. Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin Clones AE1/AE3. Published online 2016:3.
352. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):16878. doi:10.1038/s41598-017-17204-5
353. Ram S, Vizcarra P, Whalen P, et al. Pixelwise H-score: A novel digital image analysis-based metric to quantify membrane biomarker expression from immunohistochemistry images. *PLoS One*. 2021;16(9):e0245638. doi:10.1371/journal.pone.0245638
354. Kakar S, Shi C; Berho E M, Driman D K,; Fitzgibbons P, Frankel W L, Hill K A, Jessup J, Krasinskas A M WMK. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum. 2012;(June):1-28.
http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2012/Colon_12protocol_3200.pdf
355. Dietmaier W, Wallinger S, Bocker T, Kullmann F, Fishel R, Rüschoff J. Diagnostic microsatellite instability: definition and correlation with mismatch repair protein expression. *Cancer Res*. 1997;57(21):4749-4756. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9354436>
356. Castagnaro A, Marangio E, Verduri A, et al. Microsatellite analysis of induced sputum DNA in patients with lung cancer in heavy smokers and in healthy subjects. *Exp Lung Res*. 2007;33(6):289-301.

- doi:10.1080/01902140701539687
357. Green MR, Jardine P, Wood P, et al. A new method to detect loss of heterozygosity using cohort heterozygosity comparisons. *BMC Cancer*. 2010;10:195. doi:10.1186/1471-2407-10-195
 358. Powierska-Czarny J, Miścicka-Sliwka D, Czarny J, et al. Analysis of microsatellite instability and loss of heterozygosity in breast cancer with the use of a well characterized multiplex system. *Acta Biochim Pol*. 2003;50(4):1195-1203. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14740006>
 359. Asai T, Loza E, Roig GV-G, et al. High frequency of TP53 but not K-ras gene mutations in Bolivian patients with gallbladder cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(13):5449-5454. doi:10.7314/apjcp.2014.15.13.5449
 360. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975;94(3):441-448. doi:10.1016/0022-2836(75)90213-2
 361. Aranaz MF. *SPSS PARA WINDOWS Análisis Estadístico*. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U.; 2001.
 362. Archilla I, Díaz-Mercedes S, Aguirre JJ, et al. Lymph Node Tumor Burden Correlates With Tumor Budding and Poorly Differentiated Clusters: A New Prognostic Factor in Colorectal Carcinoma? *Clin Transl Gastroenterol*. 2021;12(3):e00303. doi:10.14309/ctg.0000000000000303
 363. Snaebjornsson P, Coupe VMH, Jonasson L, Meijer GA, van Grieken NC, Jonasson JG. pT4 stage II and III colon cancers carry the worst prognosis in a nationwide survival analysis. Shepherd's local peritoneal involvement revisited. *Int J cancer*. 2014;135(2):467-478. doi:10.1002/ijc.28676
 364. Saab MM, Reidy M, Hegarty J, et al. Men's information-seeking behavior regarding cancer risk and screening: A meta-narrative systematic review. *Psychooncology*. 2018;27(2):410-419. doi:10.1002/pon.4506
 365. Shaukat A, Mongin SJ, Geisser MS, et al. Long-term mortality after screening for colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2013;369(12):1106-1114. doi:10.1056/NEJMoa1300720
 366. Teo CH, Ng CJ, Booth A, White A. Barriers and facilitators to health screening in men: A systematic review. *Soc Sci Med*. 2016;165:168-176. doi:10.1016/j.socscimed.2016.07.023
 367. Brenner H, Schrotz-King P, Holleczer B, Katalinic A, Hoffmeister M. Declining Bowel Cancer Incidence and Mortality in Germany. *Dtsch Arztebl Int*. 2016;113(7):101-106. doi:10.3238/arztebl.2016.0101
 368. Wong MCS, Huang J, Lok V, et al. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021;19(5):955-966.e61. doi:10.1016/j.cgh.2020.02.026
 369. Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised

- controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2010;375(9726):1624-1633. doi:10.1016/S0140-6736(10)60551-X
370. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet (London, England)*. 2014;383(9927):1490-1502. doi:10.1016/S0140-6736(13)61649-9
371. Burch JA, Soares-Weiser K, St John DJB, et al. Diagnostic accuracy of faecal occult blood tests used in screening for colorectal cancer: a systematic review. *J Med Screen*. 2007;14(3):132-137. doi:10.1258/096914107782066220
372. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, Towler B, Irwig L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(6):1541-1549. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.01875.x
373. Clarke N, Gallagher P, Kearney PM, McNamara D, Sharp L. Impact of gender on decisions to participate in faecal immunochemical test-based colorectal cancer screening: a qualitative study. *Psychooncology*. 2016;25(12):1456-1462. doi:10.1002/pon.4085
374. Pande R, Froggatt P, Baragwanath P, Harmston C. Survival outcome of patients with screening versus symptomatically detected colorectal cancers. *Colorectal Dis*. 2013;15(1):74-79. doi:10.1111/j.1463-1318.2012.03120.x
375. Gill MD, Bramble MG, Rees CJ, Lee TJW, Bradburn DM, Mills SJ. Comparison of screen-detected and interval colorectal cancers in the Bowel Cancer Screening Programme. *Br J Cancer*. 2012;107(3):417-421. doi:10.1038/bjc.2012.305
376. Barnholtz-Sloan JS, Tainsky MA, Abrams J, et al. Ethnic differences in survival among women with ovarian carcinoma. *Cancer*. 2002;94(6):1886-1893. doi:10.1002/cncr.10415
377. Gausman V, Dornblaser D, Anand S, et al. Risk Factors Associated With Early-Onset Colorectal Cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(12):2752-2759.e2. doi:10.1016/j.cgh.2019.10.009
378. Wolf AMD, Fontham ETH, Church TR, et al. Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(4):250-281. doi:10.3322/caac.21457
379. Weinberg BA, Marshall JL. Colon Cancer in Young Adults: Trends and Their Implications. *Curr Oncol Rep*. 2019;21(1):3. doi:10.1007/s11912-019-0756-8
380. Bailey CE, Hu C-Y, You YN, et al. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010. *JAMA Surg*. 2015;150(1):17-22. doi:10.1001/jamasurg.2014.1756
381. Chen FW, Sundaram V, Chew TA, Ladabaum U. Advanced-Stage Colorectal Cancer in Persons Younger Than 50 Years Not Associated With Longer Duration of Symptoms or Time to Diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(5):728-737.e3. doi:10.1016/j.cgh.2016.10.038
382. Kim TJ, Kim ER, Hong SN, Chang DK, Kim Y-H. Long-Term Outcome and Prognostic Factors of Sporadic Colorectal Cancer in Young Patients: A Large

- Institutional-Based Retrospective Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(19):e3641. doi:10.1097/MD.0000000000003641
383. Myers EA, Feingold DL, Forde KA, Arnell T, Jang JH, Whelan RL. Colorectal cancer in patients under 50 years of age: a retrospective analysis of two institutions' experience. *World J Gastroenterol*. 2013;19(34):5651-5657. doi:10.3748/wjg.v19.i34.5651
384. García-Albéniz X, Hsu J, Bretthauer M, Hernán MA. Effectiveness of Screening Colonoscopy to Prevent Colorectal Cancer Among Medicare Beneficiaries Aged 70 to 79 Years: A Prospective Observational Study. *Ann Intern Med*. 2017;166(1):18-26. doi:10.7326/M16-0758
385. Beral V, Banks E, Reeves G. Evidence from randomised trials on the long-term effects of hormone replacement therapy. *Lancet (London, England)*. 2002;360(9337):942-944. doi:10.1016/S0140-6736(02)11032-4
386. Nikolaou S, Qiu S, Fiorentino F, Rasheed S, Tekkis P, Kontovounisios C. The prognostic and therapeutic role of hormones in colorectal cancer: a review. *Mol Biol Rep*. 2019;46(1):1477-1486. doi:10.1007/s11033-018-4528-6
387. Roshan MHK, Tambo A, Pace NP. The role of testosterone in colorectal carcinoma: pathomechanisms and open questions. *EPMA J*. 2016;7:22. doi:10.1186/s13167-016-0071-5
388. Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, Ritenbaugh C, et al. Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2004;350(10):991-1004. doi:10.1056/NEJMoa032071
389. Majek O, Gondos A, Jansen L, et al. Sex differences in colorectal cancer survival: population-based analysis of 164,996 colorectal cancer patients in Germany. *PLoS One*. 2013;8(7):e68077. doi:10.1371/journal.pone.0068077
390. Franceschi S, Gallus S, Talamini R, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Menopause and colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2000;82(11):1860-1862. doi:10.1054/bjoc.1999.1084
391. Lin KJ, Cheung WY, Lai JY-C, Giovannucci EL. The effect of estrogen vs. combined estrogen-progestogen therapy on the risk of colorectal cancer. *Int J cancer*. 2012;130(2):419-430. doi:10.1002/ijc.26026
392. Mørch LS, Lidegaard Ø, Keiding N, Løkkegaard E, Kjær SK. The influence of hormone therapies on colon and rectal cancer. *Eur J Epidemiol*. 2016;31(5):481-489. doi:10.1007/s10654-016-0116-z
393. Johnson JR, Lacey J V, Lazovich D, et al. Menopausal hormone therapy and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(1):196-203. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0596
394. Schmuck R, Gerken M, Teegen E-M, et al. Gender comparison of clinical, histopathological, therapeutic and outcome factors in 185,967 colon cancer patients. *Langenbeck's Arch Surg*. 2020;405(1):71-80. doi:10.1007/s00423-019-01850-6
395. Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, Haug U. Gender differences in colorectal

- cancer: implications for age at initiation of screening. *Br J Cancer*. 2007;96(5):828-831. doi:10.1038/sj.bjc.6603628
396. Low EE, Demb J, Liu L, et al. Risk Factors for Early-Onset Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2020;159(2):492-501.e7. doi:10.1053/j.gastro.2020.01.004
397. Hoffmeister M, Schmitz S, Karmrodt E, et al. Male sex and smoking have a larger impact on the prevalence of colorectal neoplasia than family history of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010;8(10):870-876. doi:10.1016/j.cgh.2010.07.004
398. Mori N, Keski-Rahkonen P, Gicquiau A, et al. Endogenous Circulating Sex Hormone Concentrations and Colon Cancer Risk in Postmenopausal Women: A Prospective Study and Meta-Analysis. *JNCI cancer Spectr*. 2021;5(6). doi:10.1093/jncics/pkab084
399. White A, Ironmonger L, Steele RJC, Ormiston-Smith N, Crawford C, Seims A. A review of sex-related differences in colorectal cancer incidence, screening uptake, routes to diagnosis, cancer stage and survival in the UK. *BMC Cancer*. 2018;18(1):906. doi:10.1186/s12885-018-4786-7
400. González LV, de Miguel Ibáñez R, Sotos FE. Colorectal Cancer Prevalence and Survival in Cuenca (Spain). *J Gastrointest Cancer*. Published online January 13, 2022. doi:10.1007/s12029-021-00784-x
401. White A, Ironmonger L, Steele RJC, Ormiston-Smith N, Crawford C, Seims A. A review of sex-related differences in colorectal cancer incidence, screening uptake, routes to diagnosis, cancer stage and survival in the UK. *BMC Cancer*. 2018;18(1):906. doi:10.1186/s12885-018-4786-7
402. Soltani G, Poursheikhani A, Yassi M, Hayatbakhsh A, Kerachian M, Kerachian MA. Obesity, diabetes and the risk of colorectal adenoma and cancer. *BMC Endocr Disord*. 2019;19(1):113. doi:10.1186/s12902-019-0444-6
403. Silva A, Pereira SS, Monteiro MP, Araújo A, Faria G. Effect of Metabolic Syndrome and Individual Components on Colon Cancer Characteristics and Prognosis. *Front Oncol*. 2021;11:631257. doi:10.3389/fonc.2021.631257
404. Caan BJ, Meyerhardt JA, Kroenke CH, et al. Explaining the Obesity Paradox: The Association between Body Composition and Colorectal Cancer Survival (C-SCANS Study). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(7):1008-1015. doi:10.1158/1055-9965.EPI-17-0200
405. Silva A, Gomes F, Pereira SS, Monteiro MP, Araújo A, Faria G. Visceral obesity is associated with lower stage colon tumors in males without survival advantage. *Surg Oncol*. 2021;37:101606. doi:10.1016/j.suronc.2021.101606
406. Casas-Vara A, Santolaria F, Fernández-Bereciartúa A, González-Reimers E, García-Ochoa A, Martínez-Riera A. The obesity paradox in elderly patients with heart failure: analysis of nutritional status. *Nutrition*. 2012;28(6):616-622. doi:10.1016/j.nut.2011.10.006
407. Kuchiba A, Morikawa T, Yamauchi M, et al. Body mass index and risk of

- colorectal cancer according to fatty acid synthase expression in the nurses' health study. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(5):415-420. doi:10.1093/jnci/djr542
408. Hakimi AA, Furberg H, Zabor EC, et al. An epidemiologic and genomic investigation into the obesity paradox in renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(24):1862-1870. doi:10.1093/jnci/djt310
409. Wells K, Wise PE. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. *Surg Clin North Am.* 2017;97(3):605-625. doi:10.1016/j.suc.2017.01.009
410. Bai H, Wang R, Cheng W, et al. Evaluation of Concordance Between Deficient Mismatch Repair and Microsatellite Instability Testing and Their Association with Clinicopathological Features in Colorectal Cancer. *Cancer Manag Res.* 2020;12:2863-2873. doi:10.2147/CMAR.S248069
411. SEAP. Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España 2017. In: 2017th ed. ; 2017:663.
412. Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science.* 2006;312(5778):1355-1359. doi:10.1126/science.1124234
413. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, et al. Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2017;3(2):211-219. doi:10.1001/jamaoncol.2016.4227
414. Nakagawa-Senda H, Hori M, Matsuda T, Ito H. Prognostic impact of tumor location in colon cancer: the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project. *BMC Cancer.* 2019;19(1):431. doi:10.1186/s12885-019-5644-y
415. Kishiki T, Kuchta K, Matsuoka H, et al. The impact of tumor location on the biological and oncological differences of colon cancer: Multi-institutional propensity score-matched study. *Am J Surg.* 2019;217(1):46-52. doi:10.1016/j.amjsurg.2018.07.005
416. Kim S-E, Paik HY, Yoon H, Lee JE, Kim N, Sung M-K. Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk. *World J Gastroenterol.* 2015;21(17):5167-5175. doi:10.3748/wjg.v21.i17.5167
417. Strum WB, Boland CR. Interval Colorectal Cancer 2006-2015: Novel Observations. *Dig Dis Sci.* 2021;66(3):855-860. doi:10.1007/s10620-020-06242-1
418. Alexiusdottir KK, Möller PH, Snaebjornsson P, et al. Association of symptoms of colon cancer patients with tumor location and TNM tumor stage. *Scand J Gastroenterol.* 2012;47(7):795-801. doi:10.3109/00365521.2012.672589
419. Patel M, McSorley ST, Park JH, et al. The relationship between right-sided tumour location, tumour microenvironment, systemic inflammation, adjuvant therapy and survival in patients undergoing surgery for colon and rectal cancer. *Br J Cancer.* 2018;118(5):705-712. doi:10.1038/bjc.2017.441
420. Aoyama T, Kashiwabara K, Oba K, et al. Clinical impact of tumor location on the colon cancer survival and recurrence: analyses of pooled data from three large phase III randomized clinical trials. *Cancer Med.* 2017;6(11):2523-2530.

- doi:10.1002/cam4.1208
421. Benedix F, Kube R, Meyer F, et al. Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(1):57-64. doi:10.1007/DCR.0b013e3181c703a4
 422. Wright CL, Stewart ID. Histopathology and mismatch repair status of 458 consecutive colorectal carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(11):1393-1406. doi:10.1097/00000478-200311000-00001
 423. Gan T, Schaberg KB, He D, et al. Association Between Obesity and Histological Tumor Budding in Patients With Nonmetastatic Colon Cancer. *JAMA Netw open*. 2021;4(4):e213897. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.3897
 424. Landau MA, Zhu B, Akwuole FN, Pai RK. Site-specific Differences in Colonic Adenocarcinoma: KRAS Mutations and High Tumor Budding Are More Frequent in Cecal Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(3):351-358. doi:10.1097/PAS.0000000000001004
 425. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(10):635-647. doi:10.1038/s41577-018-0044-0
 426. Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2005;54(8):721-728. doi:10.1007/s00262-004-0653-2
 427. Zhao Y, Ge X, He J, et al. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer differs by anatomical subsite: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol*. 2019;17(1):85. doi:10.1186/s12957-019-1621-9
 428. Saha S, Shaik M, Johnston G, et al. Tumor size predicts long-term survival in colon cancer: an analysis of the National Cancer Data Base. *Am J Surg*. 2015;209(3):570-574. doi:10.1016/j.amjsurg.2014.12.008
 429. Tella OI de, Stavale JN, Herculano MA, et al. [Size and proliferative index correlation in acoustic neuromas]. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006;64(1):72-76. doi:10.1590/s0004-282x2006000100015
 430. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Mod Pathol*. 2011;24(9):1248-1253. doi:10.1038/modpathol.2011.85
 431. López I, P Oliveira L, Tucci P, Alvarez-Valín F, A Coudry R, Marín M. Different mutation profiles associated to P53 accumulation in colorectal cancer. *Gene*. 2012;499(1):81-87. doi:10.1016/j.gene.2012.02.011
 432. Kim J-Y, Park K, Jung HH, et al. Association between Mutation and Expression of TP53 as a Potential Prognostic Marker of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res Treat*. 2016;48(4):1338-1350. doi:10.4143/crt.2015.430
 433. Aladhraei M, Al-Salami E, Pongvarin N, Suwannalert P. The roles of p53 and

- XPO1 on colorectal cancer progression in Yemeni patients. *J Gastrointest Oncol.* 2019;10(3):437-444. doi:10.21037/jgo.2019.01.17
434. Cao D-Z, Ou X-L, Yu T. The association of p53 expression levels with clinicopathological features and prognosis of patients with colon cancer following surgery. *Oncol Lett.* 2017;13(5):3538-3546. doi:10.3892/ol.2017.5929
435. Melincovici CS, Miha CM, Mărginean M, et al. The prognostic significance of p53, Bax, Bcl-2 and cyclin E protein overexpression in colon cancer - an immunohistochemical study using the tissue microarray technique. *Rom J Morphol Embryol.* 2016;57(1):81-89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27151692>
436. Zlobec I, Dawson HE, Blank A, et al. Are tumour grade and tumour budding equivalent in colorectal cancer? A retrospective analysis of 771 patients. *Eur J Cancer.* 2020;130:139-145. doi:10.1016/j.ejca.2020.02.007
437. Watanabe T, Muro K, Ajioka Y, et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2016 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2018;23(1):1-34. doi:10.1007/s10147-017-1101-6
438. Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E, et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2017;28(suppl_4):iv22-iv40. doi:10.1093/annonc/mdx224
439. Natoli M, Christensen J, El-Gebali S, Felsani A, Anderle P. The role of CDX2 in Caco-2 cell differentiation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013;85(1):20-25. doi:10.1016/j.ejpb.2013.03.018
440. Verzi MP, Shin H, Ho L-L, Liu XS, Shivdasani RA. Essential and redundant functions of caudal family proteins in activating adult intestinal genes. *Mol Cell Biol.* 2011;31(10):2026-2039. doi:10.1128/MCB.01250-10
441. Boyd M, Hansen M, Jensen TGK, et al. Genome-wide analysis of CDX2 binding in intestinal epithelial cells (Caco-2). *J Biol Chem.* 2010;285(33):25115-25125. doi:10.1074/jbc.M109.089516
442. Coskun M. The role of CDX2 in inflammatory bowel disease. *Dan Med J.* 2014;61(3):B4820. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24814920>
443. Xu W, Zhu Y, Shen W, et al. Combination of CDX2 expression and T stage improves prognostic prediction of colorectal cancer. *J Int Med Res.* 2019;47(5):1829-1842. doi:10.1177/0300060518819620
444. Yu J, Liu D, Sun X, et al. CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling via transactivation of GSK-3 β and Axin2 expression. *Cell Death Dis.* 2019;10(1):26. doi:10.1038/s41419-018-1263-9
445. Asgari-Karchekani S, Karimian M, Mazoochi T, Taheri MA, Khomehchian T. CDX2 Protein Expression in Colorectal Cancer and Its Correlation with Clinical and Pathological Characteristics, Prognosis, and Survival Rate of Patients. *J Gastrointest Cancer.* 2020;51(3):844-849. doi:10.1007/s12029-019-00314-w

446. Derangère V, Lecuelle J, Lepage C, et al. Combination of CDX2 H-score quantitative analysis with CD3 AI-guided analysis identifies patients with a good prognosis only in stage III colon cancer. *Eur J Cancer*. 2022;172:221-230. doi:10.1016/j.ejca.2022.05.040
447. Liska D, Stocchi L, Karagkounis G, et al. Incidence, Patterns, and Predictors of Locoregional Recurrence in Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2017;24(4):1093-1099. doi:10.1245/s10434-016-5643-z
448. van der Geest LGM, Lam-Boer J, Koopman M, Verhoef C, Elferink MAG, de Wilt JHW. Nationwide trends in incidence, treatment and survival of colorectal cancer patients with synchronous metastases. *Clin Exp Metastasis*. 2015;32(5):457-465. doi:10.1007/s10585-015-9719-0
449. Biondo S, Gálvez A, Ramírez E, Frago R, Kreisler E. Emergency surgery for obstructing and perforated colon cancer: patterns of recurrence and prognostic factors. *Tech Coloproctol*. 2019;23(12):1141-1161. doi:10.1007/s10151-019-02110-x
450. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep*. 2016;6:29765. doi:10.1038/srep29765
451. Ahiko Y, Shida D, Kudose Y, et al. Recurrence hazard of rectal cancer compared with colon cancer by adjuvant chemotherapy status: a nationwide study in Japan. *J Gastroenterol*. 2021;56(4):371-381. doi:10.1007/s00535-021-01771-6
452. Read TE, Mutch MG, Chang BW, et al. Locoregional recurrence and survival after curative resection of adenocarcinoma of the colon. *J Am Coll Surg*. 2002;195(1):33-40. doi:10.1016/s1072-7515(02)01224-3
453. Sjövall A, Granath F, Cedermark B, Glimelius B, Holm T. Loco-regional recurrence from colon cancer: a population-based study. *Ann Surg Oncol*. 2007;14(2):432-440. doi:10.1245/s10434-006-9243-1
454. Elferink MAG, Visser O, Wiggers T, et al. Prognostic factors for locoregional recurrences in colon cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(7):2203-2211. doi:10.1245/s10434-011-2183-4
455. Holt J, Schwalb H, Elbourne H, Te Marvelde L, Reid C. Risk factors for recurrence in colorectal cancer: a retrospective analysis in a regional Australian hospital. *ANZ J Surg*. 2021;91(11):2482-2486. doi:10.1111/ans.17209
456. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Brouquet A, Cervantes A, ESMO Guidelines Working Group. Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2010;21 Suppl 5:v70-7. doi:10.1093/annonc/mdq168
457. Böckelman C, Engelmann BE, Kaprio T, Hansen TF, Glimelius B. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: a systematic review and meta-analysis of recent literature. *Acta Oncol*. 2015;54(1):5-16. doi:10.3109/0284186X.2014.975839

458. Betge J, Langner C. Vascular invasion, perineural invasion, and tumour budding: predictors of outcome in colorectal cancer. *Acta Gastroenterol Belg.* 2011;74(4):516-529. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22319961>
459. Landau MA, Zhu B, Akwuole FN, Pai RK. Histopathological Predictors of Recurrence in Stage III Colon Cancer: Reappraisal of Tumor Deposits and Tumor Budding Using AJCC8 Criteria. *Int J Surg Pathol.* 2019;27(2):147-158. doi:10.1177/1066896918787275
460. Ueno H, Ishiguro M, Nakatani E, et al. Prospective Multicenter Study on the Prognostic and Predictive Impact of Tumor Budding in Stage II Colon Cancer: Results From the SACURA Trial. *J Clin Oncol.* 2019;37(22):1886-1894. doi:10.1200/JCO.18.02059
461. Jensen CE, Villanueva JY, Loaiza-Bonilla A. Differences in overall survival and mutation prevalence between right- and left-sided colorectal adenocarcinoma. *J Gastrointest Oncol.* 2018;9(5):778-784. doi:10.21037/jgo.2018.06.10
462. Yahagi M, Okabayashi K, Hasegawa H, Tsuruta M, Kitagawa Y. The Worse Prognosis of Right-Sided Compared with Left-Sided Colon Cancers: a Systematic Review and Meta-analysis. *J Gastrointest Surg.* 2016;20(3):648-655. doi:10.1007/s11605-015-3026-6
463. Yoshino T, Argilés G, Oki E, et al. Pan-Asian adapted ESMO Clinical Practice Guidelines for the diagnosis treatment and follow-up of patients with localised colon cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2021;32(12):1496-1510. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.1752
464. Park JH, Kim MJ, Park SC, et al. Difference in Time to Locoregional Recurrence Between Patients With Right-Sided and Left-Sided Colon Cancers. *Dis Colon Rectum.* 2015;58(9):831-837. doi:10.1097/DCR.0000000000000426
465. van Wyk HC, Going J, Horgan P, McMillan DC. The role of perineural invasion in predicting survival in patients with primary operable colorectal cancer: A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;112:11-20. doi:10.1016/j.critrevonc.2017.02.005
466. Reima H, Soplepmann J, Innos K. Stage-specific survival differences between colon cancer subsites: a population-based study. *Acta Oncol.* 2021;60(12):1702-1705. doi:10.1080/0284186X.2021.1987515
467. Baguena G, Pellino G, Frasson M, et al. Prognostic Impact of pT Stage and Peritoneal Invasion in Locally Advanced Colon Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2019;62(6):684-693. doi:10.1097/DCR.0000000000001367
468. van Wyk HC, Roseweir A, Alexander P, et al. The Relationship Between Tumor Budding, Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2019;26(13):4397-4404. doi:10.1245/s10434-019-07931-6
469. Saito K, Okuyama T, Miyazaki S, et al. Tumor Budding as a Predictive Marker of Relapse and Survival in Patients With Stage II Colon Cancer. *In Vivo.* 36(4):1820-1828. doi:10.21873/invivo.12898

470. Joachim C, Macni J, Drame M, et al. Overall survival of colorectal cancer by stage at diagnosis: Data from the Martinique Cancer Registry. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(35):e16941. doi:10.1097/MD.00000000000016941
471. Shetiwy M, Elalfy AF, Eldamshety O, Abbas R, Abdelkhalek M. The Prognostic Significance of Lymph Node Status and Lymph Node Ratio (LNR) on Survival of Right Colon Cancer Patients: a Tertiary Center Experience. *J Gastrointest Cancer*. 2021;52(3):1010-1015. doi:10.1007/s12029-020-00525-6
472. Parnaby CN, Scott NW, Ramsay G, et al. Prognostic value of lymph node ratio and extramural vascular invasion on survival for patients undergoing curative colon cancer resection. *Br J Cancer*. 2015;113(2):212-219. doi:10.1038/bjc.2015.211
473. Betge J, Harbaum L, Pollheimer MJ, et al. Lymph node retrieval in colorectal cancer: determining factors and prognostic significance. *Int J Colorectal Dis*. 2017;32(7):991-998. doi:10.1007/s00384-017-2778-8
474. Martínez Ortega P, Cienfuegos JA, Baixauli J, et al. Prognostic significance of lymph node count in high-risk node-negative colon carcinoma. *Rev Esp Enferm Dig*. 2020;112(8):609-614. doi:10.17235/reed.2020.6709/2019
475. Bakst RL, Wong RJ. Mechanisms of Perineural Invasion. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2016;77(2):96-106. doi:10.1055/s-0036-1571835
476. Melgarejo da Rosa M, Clara Sampaio M, Virgínia Cavalcanti Santos R, et al. Unveiling the pathogenesis of perineural invasion from the perspective of neuroactive molecules. *Biochem Pharmacol*. 2021;188:114547. doi:10.1016/j.bcp.2021.114547

9. ANEXOS

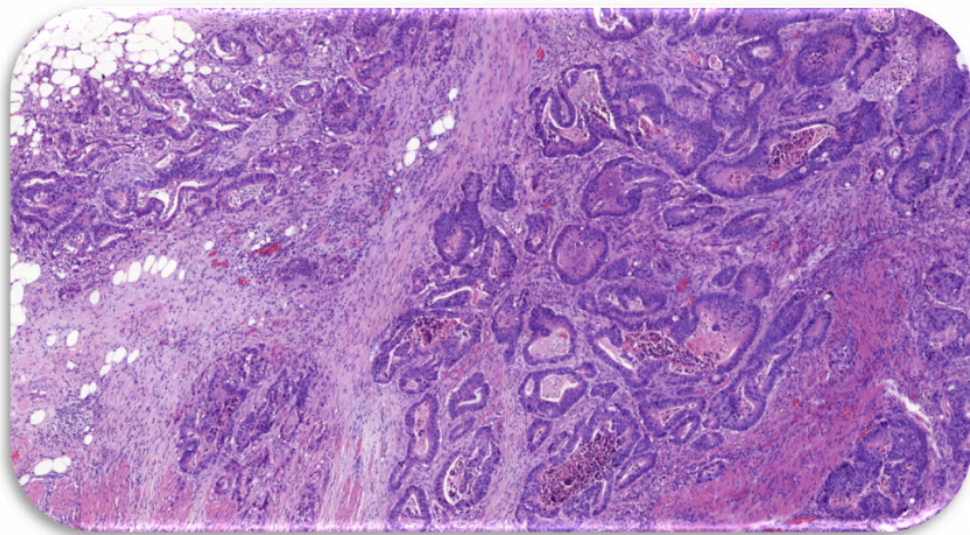
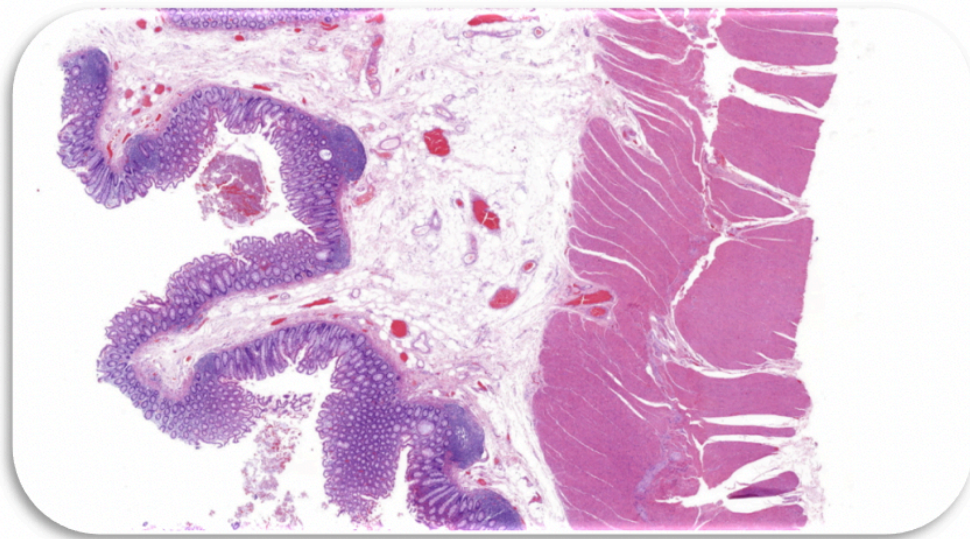


Tabla suplementaria I: Descripción de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

| Características epidemiológicas y clínicas | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
| 1 | 11/2/51 | V | 62 | 0 | 4/12/13 | Sí | 2 | Sí | 1 | 30/1/14 | 21/4/15 | No | | | | 22/9/16 | 1 | 29,76 |
| 2 | 5/5/46 | V | 64 | 0 | 13/5/10 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 2 | 31/1/11 | 1 | 12/10/13 | 1 | 29,40 |
| 3 | 7/12/46 | M | 64 | 1 | 9/3/10 | No | | Sí | 1 | 21/4/10 | 18/10/10 | No | | | | 26/5/16 | 0 | 29,97 |
| 4 | 17/3/48 | M | 65 | 0 | 18/6/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 9/4/19 | 0 | 25,59 |
| 5 | 6/12/49 | V | 62 | 1 | 8/3/11 | No | | Sí | 3 | 3/1/11 | 19/8/11 | No | | | | 2/7/13 | 1 | 32,03 |
| 6 | 10/12/49 | M | 63 | 1 | 18/6/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 1/6/17 | 0 | 18,90 |
| 7 | 24/1/50 | M | 62 | 0 | 30/8/12 | No | | No | | | | No | | | | 6/9/12 | 2 | 25,81 |
| 8 | 14/6/51 | V | 59 | 1 | 18/8/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 6/3/19 | 0 | 29,19 |
| 9 | 13/3/53 | V | 57 | 0 | 3/6/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 30/1/18 | 0 | 26,57 |
| 10 | 6/1/54 | V | 58 | 1 | 20/11/12 | No | | Sí | 3 | 27/8/12 | 11/3/13 | No | | | | 11/12/19 | 0 | 26,93 |
| 11 | 14/5/54 | M | 56 | 0 | 22/3/10 | No | | Sí | 1 | 16/4/10 | 15/10/10 | No | | | | 5/2/19 | 0 | 22,64 |
| 12 | 23/10/54 | M | 56 | 1 | 9/12/10 | No | | Sí | 1 | 25/1/11 | 21/6/11 | No | | | | 21/6/17 | 0 | 30,86 |
| 13 | 17/12/54 | V | 60 | 1 | 17/10/14 | No | | Sí | 1 | 19/11/14 | 8/4/15 | No | | | | 4/6/19 | 0 | 30,81 |
| 14 | 24/11/58 | V | 55 | 0 | 7/5/13 | No | | Sí | 3 | 28/1/13 | 4/3/13 | No | | | | 20/6/18 | 0 | 35,83 |
| 15 | 12/1/59 | V | 53 | 0 | 12/4/12 | No | | Sí | 3 | 9/1/12 | 20/8/12 | Sí | 5 | 6/5/13 | 5 | 6/6/16 | 1 | 33,69 |
| 16 | 28/2/59 | V | 53 | 1 | 7/2/12 | No | | Sí | 1 | 10/5/12 | 11/10/12 | No | | | | 13/12/18 | 0 | 26,45 |
| 17 | 15/10/60 | V | 52 | 1 | 9/8/12 | No | | Sí | 1 | 7/9/12 | 1/2/13 | No | | | | 3/10/19 | 0 | 29,01 |
| 18 | 15/7/61 | M | 51 | 0 | 25/1/12 | No | | Sí | 1 | 6/3/12 | 11/7/12 | Sí | 5 | 19/6/13 | 1 | 22/4/15 | 1 | 19,00 |
| 19 | 16/3/47 | V | 65 | 0 | 18/6/12 | Sí | 2 | Sí | 1 | 31/7/12 | 4/12/12 | Sí | 1 | 1/3/14 | 3 | 23/1/18 | 1 | 20,86 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 20 | 26/2/57 | M | 53 | 1 | 16/11/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 9/10/19 | 0 | 23,01 |
| 21 | 1/11/46 | V | 66 | 1 | 30/7/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 17/7/18 | 0 | 36,71 |
| 22 | 22/3/47 | M | 63 | 0 | 27/4/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 16/10/18 | 0 | 32,46 |
| 23 | 25/1/49 | V | 62 | 0 | 12/8/11 | No | | Sí | 1 | 12/9/11 | 15/2/12 | No | | | | 21/12/17 | 0 | 25,78 |
| 24 | 13/11/49 | M | 65 | 1 | 18/3/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 27/3/19 | 0 | 21,45 |
| 25 | 10/3/50 | V | 64 | 1 | 31/3/14 | No | | Sí | 1 | 29/4/14 | 30/9/14 | Sí | 3 | 18/4/17 | 3 | 25/9/19 | 1 | 33,79 |
| 26 | 16/6/50 | V | 61 | 0 | 5/5/11 | Sí | 4 | Sí | 1 | 22/7/11 | 30/1/12 | No | | | | 16/10/12 | 1 | 24,86 |
| 27 | 3/11/50 | M | 64 | 0 | 24/3/14 | No | | Sí | 3 | 16/12/13 | 16/12/13 | No | | | | 12/2/19 | 0 | 22,48 |
| 28 | 27/11/55 | V | 55 | 1 | 28/10/10 | No | | Sí | 3 | 29/11/10 | 16/5/11 | No | | | | 26/12/19 | 0 | 25,71 |
| 29 | 8/9/56 | M | 57 | 0 | 5/4/13 | No | | Sí | 1 | 14/6/13 | 11/11/13 | No | | | | 14/2/17 | 0 | 22,66 |
| 30 | 12/3/57 | V | 54 | 0 | 7/2/11 | No | | Sí | 1 | 30/3/11 | 1/12/11 | No | | | | 26/10/12 | 1 | 23,87 |
| 31 | 10/6/60 | V | 54 | 0 | 30/9/14 | No | | Sí | 1 | 29/10/14 | 27/3/15 | Sí | 5 | 10/12/15 | 1 | 5/12/18 | 1 | 21,67 |
| 32 | 25/12/63 | V | 48 | 0 | 21/7/11 | No | | Sí | 1 | 5/9/11 | 7/12/11 | Sí | 5 | 12/11/14 | 1 | 8/10/18 | 1 | 25,91 |
| 33 | 30/11/64 | V | 49 | 0 | 21/10/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 15/3/19 | 2 | 20,76 |
| 34 | 5/7/57 | V | 53 | 0 | 6/4/10 | No | | Sí | 1 | 18/5/10 | 11/11/10 | No | | | | 1/6/16 | 0 | 23,00 |
| 35 | 22/12/47 | V | 65 | 1 | 23/4/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 20/12/18 | 0 | 29,40 |
| 36 | 18/11/48 | M | 66 | 1 | 11/11/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 16/10/19 | 0 | 26,91 |
| 37 | 19/1/50 | V | 61 | 0 | 4/3/11 | No | | Sí | 1 | 4/5/11 | 4/10/11 | Sí | 2 | 25/1/12 | 3 | 12/12/19 | 0 | 25,54 |
| 38 | 21/12/50 | M | 64 | 1 | 24/1/14 | No | | Sí | 1 | 19/2/14 | 4/7/14 | No | | | | 11/4/19 | 0 | 25,56 |
| 39 | 25/7/52 | M | 58 | 0 | 28/9/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 19/1/17 | 0 | 31,63 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 40 | 18/6/53 | M | 57 | 0 | 2/9/10 | No | | Sí | 1 | 1/10/10 | 2/5/11 | Sí | 1 | 6/11/12 | 3 | 15/2/15 | 1 | 26,91 |
| 41 | 23/6/53 | V | 58 | 0 | 28/6/11 | No | | Sí | 1 | 31/7/11 | 30/9/11 | No | | | | 21/5/19 | 0 | 25,83 |
| 42 | 18/12/54 | V | 58 | 1 | 21/2/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 24/1/19 | 0 | 26,30 |
| 43 | 27/3/55 | M | 57 | 1 | 4/12/12 | No | | Sí | 1 | 12/2/13 | 5/3/13 | No | | | | 8/3/18 | 0 | 27,14 |
| 44 | 13/12/54 | M | 57 | 0 | 11/10/11 | No | | Sí | 3 | 20/7/11 | 5/3/12 | No | | | | 13/11/19 | 0 | 27,01 |
| 45 | 23/4/55 | M | 55 | 1 | 9/11/10 | No | | Sí | 1 | 22/12/10 | 15/8/11 | Sí | 1 | 27/2/12 | 1 | 13/5/14 | 1 | 25,24 |
| 46 | 29/4/56 | M | 58 | 1 | 20/5/14 | No | | Sí | 3 | 1/3/14 | 5/9/14 | No | | | | 22/5/19 | 0 | 27,34 |
| 47 | 24/7/60 | M | 54 | 2 | 8/4/14 | No | | Sí | 1 | 20/5/14 | 14/10/14 | No | | | | 5/6/19 | 0 | 22,48 |
| 48 | 15/9/64 | M | 50 | 1 | 26/6/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 5/6/19 | 0 | 20,81 |
| 49 | 24/2/68 | V | 46 | 0 | 28/8/14 | No | | Sí | 1 | 11/10/14 | 3/3/15 | No | | | | 20/11/19 | 0 | 25,34 |
| 50 | 20/4/68 | M | 45 | 0 | 5/11/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 20/3/19 | 0 | 20,45 |
| 51 | 22/4/46 | M | 64 | 0 | 17/6/10 | No | | Sí | 1 | 20/7/10 | 21/9/10 | No | | | | 6/5/19 | 0 | 26,90 |
| 52 | 25/11/46 | V | 66 | 1 | 16/4/12 | No | | Sí | 1 | 18/5/12 | 15/10/12 | Sí | 2 | 8/5/17 | 3 | 17/7/19 | 0 | 30,47 |
| 53 | 01/06/47 | V | 65 | 1 | 15/5/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 19/9/18 | 0 | 27,94 |
| 54 | 9/9/47 | M | 63 | 0 | 2/8/10 | No | | Sí | 1 | 15/9/10 | 18/2/11 | No | | | | 2/11/16 | 0 | 24,65 |
| 55 | 13/4/51 | M | 63 | 1 | 19/8/14 | No | | Sí | 3 | 6/10/14 | 18/3/15 | Sí | 5 | 28/5/15 | 5 | 16/9/16 | 1 | 27,94 |
| 56 | 4/6/52 | M | 60 | 0 | 23/5/12 | Sí | 2 | Sí | 1 | | | Sí | 5 | 9/7/12 | 6 | 31/10/15 | 1 | 19,91 |
| 57 | 14/10/52 | V | 62 | 1 | 25/11/14 | No | | Sí | 3 | 25/8/14 | 13/3/15 | No | | | | 17/10/19 | 0 | 28,70 |
| 58 | 20/9/53 | V | 58 | 1 | 5/4/11 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 13/6/19 | 0 | 34,72 |
| 59 | 20/5/54 | V | 58 | 1 | 10/1/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 13/9/16 | 0 | 30,48 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 60 | 23/2/50 | M | 60 | 0 | 2/2/10 | No | | Sí | 1 | 1/3/10 | 1/9/10 | No | | | | 25/10/17 | 0 | 20,69 |
| 61 | 13/6/56 | M | 54 | 0 | 18/5/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 6/2/19 | 0 | 35,32 |
| 62 | 21/9/60 | M | 51 | 1 | 20/10/11 | No | | Sí | 1 | 1/12/11 | 1/7/12 | Sí | 5 | 19/3/13 | 5 | 18/7/13 | 1 | 20,27 |
| 63 | 26/7/64 | V | 46 | 0 | 23/9/10 | No | | Sí | 1 | 20/10/10 | 24/1/11 | No | | | | 2/5/19 | 0 | 26,51 |
| 64 | 6/5/45 | V | 65 | 1 | 9/11/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 5/7/16 | 0 | 29,71 |
| 65 | 17/12/45 | V | 66 | 1 | 17/3/11 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 19/9/18 | 0 | 27,58 |
| 66 | 1/7/48 | V | 63 | 1 | 5/7/11 | No | | Sí | 1 | 2/9/11 | 27/1/12 | No | | | | 11/10/12 | 2 | 25,82 |
| 67 | 13/6/51 | V | 61 | 1 | 19/3/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 3/11/17 | 0 | 26,51 |
| 68 | 21/2/52 | M | 59 | 0 | 18/8/11 | No | | Sí | 3 | 16/5/11 | 12/12/11 | Sí | 5 | 1/6/12 | 1 | 13/7/13 | 1 | 34,41 |
| 69 | 10/7/57 | V | 55 | 0 | 13/12/12 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 2 | 8/8/13 | 3 | 12/9/19 | 1 | 25,71 |
| 70 | 8/11/57 | M | 55 | 1 | 26/3/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 10/4/19 | 0 | 20,34 |
| 71 | 16/11/59 | M | 55 | 1 | 5/9/14 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 4 | 6/4/17 | 3 | 19/9/19 | 0 | 25,95 |
| 72 | 22/1/61 | M | 49 | 0 | 30/10/10 | No | | Sí | 1 | 14/12/10 | 1/6/11 | No | | | | 19/7/18 | 0 | 26,48 |
| 73 | 15/6/62 | V | 51 | 1 | 29/5/13 | No | | Sí | 1 | 16/7/13 | 27/12/13 | No | | | | 7/6/18 | 0 | 28,38 |
| 74 | 16/1/63 | V | 50 | 0 | 28/6/13 | Sí | 1 | No | 0 | | | No | | | | 12/9/13 | 2 | 22,28 |
| 75 | 29/10/65 | V | 49 | 0 | 13/11/14 | No | | Sí | 1 | 12/12/14 | 13/5/15 | No | | | | 9/10/19 | 0 | 27,10 |
| 76 | 6/11/44 | M | 66 | 0 | 16/3/10 | No | | Sí | 3 | 15/12/09 | 10/8/10 | No | | | | 31/1/19 | 0 | 33,29 |
| 77 | 13/6/45 | V | 65 | 0 | 17/3/10 | No | | Sí | 1 | 10/5/10 | 1/8/10 | No | | | | 16/9/15 | 0 | 29,00 |
| 78 | 18/5/46 | V | 64 | 0 | 18/4/10 | No | | Sí | 1 | 17/5/10 | 29/7/10 | Sí | 5 | 11/9/12 | 1 | 9/4/13 | 1 | 27,48 |
| 79 | 11/9/46 | V | 64 | 0 | 3/10/10 | No | | Sí | 1 | 8/11/10 | 30/5/11 | No | | | | 9/6/16 | 0 | 26,62 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 80 | 17/10/48 | V | 62 | 1 | 23/11/10 | No | | Sí | 1 | 12/1/11 | 15/6/11 | No | | | | 17/7/19 | 0 | 28,52 |
| 81 | 21/5/49 | V | 62 | 1 | 9/6/11 | No | | Sí | 3 | 7/3/11 | 15/9/11 | Sí | 5 | 24/11/16 | 1 | 20/11/19 | 1 | 31,89 |
| 82 | 10/9/49 | V | 63 | 1 | 14/2/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 29/3/17 | 0 | 34,29 |
| 83 | 29/5/50 | V | 64 | 1 | 7/7/14 | No | | No | 0 | | | No | | | | 14/7/14 | 2 | 25,95 |
| 84 | 30/5/50 | V | 64 | 1 | 25/9/14 | No | | Sí | 1 | 24/11/14 | 16/3/15 | Sí | 5 | 9/1/16 | 3 | 18/8/18 | 1 | 25,86 |
| 85 | 4/1/51 | V | 62 | 0 | 20/3/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 19/1/15 | 2 | 25,62 |
| 86 | 14/3/51 | V | 59 | 0 | 4/2/10 | Sí | 2 | Sí | 3 | 28/10/09 | 11/6/10 | Sí | 5 | 27/10/10 | 1 | 19/8/11 | 1 | 26,13 |
| 87 | 6/3/52 | V | 62 | 0 | 12/2/14 | No | | Sí | 1 | 12/3/14 | 8/8/14 | No | | | | 8/1/19 | 0 | 31,38 |
| 88 | 13/10/52 | V | 60 | 0 | 9/7/12 | No | | Sí | 1 | 17/8/12 | 11/1/13 | Sí | 2 | 8/10/15 | 3 | 30/10/19 | 0 | 30,83 |
| 89 | 19/12/52 | V | 59 | 1 | 12/8/11 | No | | Sí | 3 | 19/9/11 | 2/3/12 | No | | | | 4/4/19 | 0 | 28,79 |
| 90 | 25/4/59 | V | 52 | 1 | 25/8/11 | No | | Sí | 1 | 23/9/11 | 23/2/12 | No | | | | 2/5/18 | 0 | 27,73 |
| 91 | 29/5/62 | M | 50 | 0 | 14/2/12 | No | | Sí | 1 | 20/3/12 | 27/6/12 | No | | | | 24/1/19 | 0 | 20,52 |
| 92 | 12/6/64 | M | 50 | 0 | 30/4/14 | No | | Sí | 3 | 27/1/14 | 17/9/14 | Sí | 5 | 18/10/16 | 1 | 3/6/19 | 3 | 21,34 |
| 93 | 5/7/68 | V | 44 | 0 | 30/10/12 | No | | Sí | 3 | 11/12/12 | 14/5/13 | No | | | | 18/10/19 | 0 | 29,04 |
| 94 | 2/3/88 | M | 25 | 0 | 18/10/13 | No | | Sí | 3 | 13/11/13 | 22/10/14 | Sí | 5 | 10/12/14 | 3 | 26/8/19 | 3 | 18,96 |
| 95 | 9/8/45 | V | 65 | 1 | 10/6/10 | No | | Sí | 3 | 26/7/10 | 31/7/10 | No | | | | 1/10/18 | 0 | 28,06 |
| 96 | 28/7/46 | V | 64 | 0 | 20/9/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 15/3/16 | 2 | 24,16 |
| 97 | 31/5/47 | V | 64 | 1 | 15/2/11 | No | | Sí | 1 | 29/3/11 | 7/9/11 | No | | | | 26/3/19 | 0 | 25,69 |
| 98 | 2/6/47 | V | 65 | 0 | 20/4/12 | No | | Sí | 1 | 21/5/12 | 19/10/12 | Sí | 5 | 28/5/13 | 1 | 2/12/13 | 1 | 24,11 |
| 99 | 24/1/51 | V | 61 | 1 | 6/3/12 | No | | Sí | 1 | 11/4/12 | 20/6/12 | Sí | 1 | 20/3/13 | 3 | 11/3/19 | 0 | 23,03 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|-----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 100 | 4/7/51 | V | 61 | 1 | 26/9/12 | No | | Sí | 1 | 12/11/12 | 17/5/13 | No | | | | 9/11/17 | 0 | 31,22 |
| 101 | 5/12/51 | V | 63 | 1 | 18/11/14 | Sí | 2 | Sí | 3 | | | Sí | 5 | 26/11/14 | 3 | 2/6/17 | 1 | 30,00 |
| 102 | 23/01/53 | V | 60 | 1 | 8/8/13 | No | | Sí | 1 | 14/10/13 | 20/2/14 | No | | | | 7/11/19 | 0 | 24,49 |
| 103 | 20/6/54 | V | 60 | 1 | 8/8/14 | No | | Sí | 1 | 29/8/14 | 17/9/14 | No | | | | 2/10/19 | 0 | 26,56 |
| 104 | 15/2/56 | V | 57 | 0 | 24/5/13 | No | | Sí | 3 | 15/2/13 | 24/10/13 | No | | | | 6/9/19 | 0 | 27,50 |
| 105 | 2/7/56 | M | 57 | 1 | 14/11/13 | No | | Sí | 3 | 16/12/13 | 21/5/14 | No | | | | 12/6/19 | 0 | 29,62 |
| 106 | 10/08/56 | M | 56 | 1 | 10/5/12 | No | | Sí | 1 | 19/6/12 | 13/11/12 | No | | | | 12/12/18 | 0 | 22,51 |
| 107 | 9/1/57 | M | 56 | 0 | 10/10/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 12/12/18 | 0 | |
| 108 | 15/6/59 | V | 54 | 1 | 19/2/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 6/10/17 | 0 | 28,39 |
| 109 | 22/4/61 | M | 53 | 0 | 28/11/14 | No | | Sí | 3 | 25/8/14 | 25/8/14 | Sí | 2 | 11/3/16 | 0 | 10/4/19 | 0 | 30,86 |
| 110 | 17/8/72 | M | 39 | 0 | 4/8/11 | Sí | 3 | Sí | 1 | 31/8/11 | 30/3/12 | Sí | 5 | 4/10/13 | 1 | 21/3/16 | 1 | 26,40 |
| 111 | 18/5/46 | M | 65 | 1 | 23/12/11 | Sí | 2 | Sí | 1 | 3/2/12 | 6/7/12 | Sí | 3 | 15/10/14 | 1 | 13/3/17 | 1 | 29,38 |
| 112 | 30/4/46 | V | 64 | 0 | 7/10/10 | No | | Sí | 1 | 10/11/10 | 5/4/11 | No | | | | 21/11/18 | 0 | 25,34 |
| 113 | 17/9/48 | V | 66 | 0 | 20/5/14 | No | | Sí | 1 | 3/7/14 | 4/12/14 | No | | | | 27/5/19 | 0 | 22,92 |
| 114 | 11/1/49 | V | 62 | 1 | 27/10/11 | No | | Sí | 1 | 12/12/11 | 21/2/12 | No | | | | 10/5/19 | 0 | 21,50 |
| 115 | 25/3/49 | V | 65 | 1 | 4/9/14 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 4 | 15/9/15 | 3 | 16/10/19 | 0 | 25,41 |
| 116 | 9/8/50 | V | 60 | 0 | 24/5/10 | No | | Sí | 1 | 5/7/10 | 22/12/10 | No | | | | 21/6/17 | 0 | 25,16 |
| 117 | 16/11/50 | M | 61 | 1 | 15/4/11 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 22/3/18 | 0 | 34,02 |
| 118 | 26/2/52 | V | 59 | 0 | 10/5/11 | No | | Sí | 3 | 7/2/11 | 12/9/11 | No | | | | 7/2/19 | 0 | 19,79 |
| 119 | 1/4/56 | V | 58 | 0 | 3/9/14 | No | | Sí | 3 | 29/4/14 | 12/1/15 | Sí | 2 | 15/1/15 | 1 | 16/12/19 | 1 | 24,77 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|-----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 120 | 6/9/56 | M | 54 | 0 | 18/1/10 | Sí | 5 | Sí | 1 | 26/3/10 | 20/7/11 | No | | | | 31/1/13 | 1 | 19,74 |
| 121 | 9/7/58 | M | 53 | 0 | 31/5/11 | No | | Sí | 1 | 17/6/11 | 28/9/11 | No | | | | 12/6/18 | 0 | 34,63 |
| 122 | 21/10/58 | V | 54 | 0 | 22/3/12 | No | | Sí | 3 | 9/12/11 | 30/7/12 | Sí | 4 | 10/5/13 | 6 | 25/6/19 | 0 | 23,88 |
| 123 | 15/11/58 | V | 55 | 1 | 15/4/13 | No | | Sí | 1 | 15/5/13 | 9/10/13 | No | | | | 21/11/18 | 0 | 22,13 |
| 124 | 28/2/60 | M | 52 | 1 | 14/8/12 | No | | Sí | 1 | 17/9/12 | 18/2/13 | No | | | | 30/11/17 | 0 | 21,51 |
| 125 | 10/10/63 | V | 51 | 0 | 2/12/14 | No | | Sí | 3 | 19/8/14 | 19/8/14 | No | | | | 9/12/19 | 0 | 26,86 |
| 126 | 21/12/64 | V | 50 | 0 | 7/8/14 | No | | No | | | | No | | | | 13/8/14 | 2 | |
| 127 | 28/7/66 | M | 47 | 1 | 14/10/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 17/12/19 | 0 | 19,49 |
| 128 | 11/4/70 | V | 43 | 0 | 31/10/13 | No | | Sí | 3 | 29/7/13 | 19/3/14 | Sí | 5 | 15/9/14 | 1 | 28/12/14 | 1 | 20,31 |
| 129 | 24/12/46 | M | 65 | 0 | 31/3/11 | Sí | 2 | Sí | 1 | 30/8/10 | 16/2/11 | Sí | 2 | 2/6/11 | 1 | 19/5/12 | 1 | 31,04 |
| 130 | 12/7/47 | M | 63 | 0 | 8/4/10 | No | | Sí | 3 | 10/5/10 | 16/10/10 | Sí | 4 | 20/2/13 | 3 | 13/4/15 | 1 | 37,58 |
| 131 | 26/10/47 | V | 66 | 0 | 26/3/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 3/11/17 | 0 | 27,12 |
| 132 | 14/9/49 | M | 62 | 1 | 12/5/11 | No | | Sí | 1 | 10/6/11 | 20/7/11 | Sí | 5 | 21/4/16 | 5 | 25/9/19 | 1 | 23,14 |
| 133 | 20/12/50 | M | 62 | 1 | 17/4/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 12/3/19 | 0 | 19,15 |
| 134 | 17/5/51 | M | 62 | 1 | 9/9/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 18/12/19 | 0 | 21,91 |
| 135 | 15/11/51 | V | 59 | 1 | 21/10/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 19/2/19 | 0 | 25,65 |
| 136 | 31/1/52 | M | 58 | 1 | 18/10/10 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 24/4/19 | 0 | 22,41 |
| 137 | 31/5/52 | M | 60 | 0 | 8/11/12 | Sí | 2 | Sí | 1 | 27/7/12 | 17/5/2013 | No | | | | 4/1/14 | 1 | 25,89 |
| 138 | 15/5/53 | V | 60 | 1 | 8/10/13 | No | | Sí | 1 | 13/11/13 | 13/11/13 | No | | | | 13/9/19 | 0 | 27,55 |
| 139 | 3/11/53 | V | 57 | 0 | 9/11/10 | No | | Sí | 1 | 29/12/10 | 25/5/11 | No | | | | 2/11/16 | 0 | 25,83 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|-----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 140 | 11/3/55 | V | 57 | 0 | 21/5/12 | Sí | 2 | Sí | 1 | 18/6/12 | 8/1/14 | No | | | | 13/4/16 | 1 | 26,84 |
| 141 | 20/6/55 | M | 57 | 1 | 15/5/12 | No | | Sí | 1 | 22/6/12 | 31/8/12 | No | | | | 21/5/19 | 0 | 25,46 |
| 142 | 27/8/55 | V | 56 | 0 | 4/10/11 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 2 | 31/10/12 | 7 | 13/11/13 | 1 | 25,14 |
| 143 | 14/10/55 | M | 57 | 1 | 11/12/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 4/6/19 | 0 | |
| 144 | 27/3/56 | V | 57 | 0 | 27/6/13 | No | | No | | | | No | | | | 24/10/18 | 0 | 29,74 |
| 145 | 9/3/60 | V | 52 | 0 | 23/2/12 | Sí | 2 | Sí | 1 | 27/3/12 | 28/8/12 | No | | | | 15/12/12 | 1 | 28,40 |
| 146 | 19/7/60 | M | 51 | 1 | 23/2/11 | No | | Sí | 1 | 21/3/11 | 31/8/11 | No | | | | 4/2/19 | 0 | 25,37 |
| 147 | 30/11/59 | V | 51 | 0 | 27/5/10 | No | | Sí | 1 | 28/6/10 | 1/11/10 | Sí | 5 | 22/6/10 | 1 | 21/6/12 | 1 | 20,72 |
| 148 | 2/9/61 | M | 53 | 1 | 3/7/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 21/10/19 | 0 | 23,12 |
| 149 | 28/3/80 | V | 33 | 0 | 9/4/13 | No | | Sí | 1 | 27/5/13 | 8/11/13 | Sí | 5 | 5/11/14 | 3 | 10/2/15 | 1 | 19,68 |
| 150 | 3/2/46 | V | 65 | 1 | 18/4/11 | No | | Sí | 0 | | | No | | | 0 | 2/1/16 | 2 | 30,79 |
| 151 | 16/9/48 | V | 66 | 1 | 30/7/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 15/1/19 | 0 | 29,96 |
| 152 | 11/11/50 | V | 61 | 1 | 7/6/11 | No | | Sí | 3 | 8/3/11 | 7/10/11 | No | | | | 11/4/19 | 0 | 28,20 |
| 153 | 22/6/52 | M | 58 | 0 | 24/6/10 | No | | Sí | 1 | 15/9/10 | 23/2/11 | Sí | 5 | 3/1/12 | 1 | 9/7/12 | 1 | 19,83 |
| 154 | 25/8/53 | M | 59 | 1 | 14/5/12 | No | | Sí | 1 | 22/6/12 | 4/9/12 | Sí | 2 | 12/9/13 | 0 | 7/11/19 | 0 | 32,47 |
| 155 | 12/2/56 | M | 57 | 1 | 30/4/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 31/7/18 | 0 | 21,30 |
| 156 | 22/2/56 | M | 56 | 1 | 24/2/11 | No | | Sí | 1 | 18/3/11 | 18/8/11 | No | | | | 6/4/16 | 0 | 26,18 |
| 157 | 14/7/56 | V | 56 | 0 | 29/5/12 | No | | Sí | 3 | 8/8/12 | 14/1/13 | Sí | 5 | 29/10/13 | 0 | 10/10/19 | 0 | 23,18 |
| 158 | 5/5/62 | V | 52 | 0 | 19/8/14 | No | | Sí | 1 | 22/5/14 | 29/1/15 | No | | | | 21/3/19 | 0 | 22,72 |
| 159 | 31/5/62 | V | 48 | 1 | 11/3/10 | No | | Sí | 0 | | | Sí | 5 | 14/10/10 | 0 | 30/7/11 | 1 | 26,79 |

Características epidemiológicas y clínicas

| ID | Fecha Nacimiento | Género | Edad dx | Motivo del dx | Fecha Cirugía | Mtx Dist | Lugar mtx | Seguim | QT/RT | Fecha Comienzo QT | Fecha Fin QT | Recaída | Lugar Recaída | Fecha Recaída | Tto Post Rec | Último Seguimiento | Estado Post Seguim | IMC |
|-----|------------------|--------|---------|---------------|---------------|----------|-----------|--------|-------|-------------------|--------------|---------|---------------|---------------|--------------|--------------------|--------------------|-------|
| 160 | 13/1/63 | M | 51 | 1 | 21/8/14 | No | | Sí | 3 | 29/9/14 | 20/2/15 | No | | | | 16/8/19 | 0 | 30,02 |
| 161 | 28/4/64 | M | 50 | 1 | 2/10/14 | No | | Sí | 1 | 4/11/14 | 10/3/15 | No | | | | 27/11/19 | 0 | 17,16 |
| 162 | 28/6/63 | M | 50 | 1 | 21/3/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 24/1/19 | 0 | 30,10 |
| 163 | 25/2/55 | V | 59 | 0 | 28/3/14 | No | | Sí | 3 | 2/1/14 | 30/7/14 | No | | | | 3/7/19 | 0 | 25,51 |
| 164 | 30/1/58 | V | 54 | 0 | 14/11/12 | No | | Sí | 1 | 2/1/13 | 2/10/13 | Sí | 2 | 26/12/12 | 3 | 16/4/14 | 2 | 18,90 |
| 165 | 2/1/53 | V | 57 | 0 | 21/9/10 | No | | Sí | 2 | | | No | | | | 24/4/12 | 2 | 32,82 |
| 166 | 23/5/47 | V | 64 | 1 | 30/3/11 | No | | Sí | 1 | 9/5/11 | 31/8/11 | Sí | 1 | 23/1/15 | 0 | 15/1/19 | 0 | 33,87 |
| 167 | 13/3/46 | V | 65 | 0 | 2/11/11 | No | | Sí | 1 | 14/12/11 | 16/5/12 | Sí | 1 | 24/5/12 | 5 | 6/6/19 | 0 | 24,52 |
| 168 | 25/10/53 | M | 60 | 1 | 10/9/13 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 18/7/19 | 0 | 29,74 |
| 169 | 28/01/58 | M | 54 | 1 | 12/3/12 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 29/8/18 | 0 | 26,35 |
| 170 | 14/2/71 | V | 42 | 0 | 31/7/13 | No | | Sí | 1 | 17/9/13 | 19/2/14 | No | | | | 15/1/19 | 0 | 19,61 |
| 171 | 27/8/53 | M | 59 | 0 | 27/2/12 | No | | Sí | 1 | 22/3/12 | 28/8/12 | No | | | | 29/11/17 | 0 | 27,92 |
| 172 | 9/2/56 | V | 58 | 1 | 2/10/14 | No | | Sí | 0 | | | No | | | | 20/11/19 | 0 | 24,98 |
| 173 | 9/12/70 | M | 41 | 0 | 17/8/11 | Sí | 5 | Sí | 1 | 27/9/11 | 19/3/12 | No | | | | 18/12/12 | 1 | 31,56 |
| 174 | 15/1/79 | M | 33 | 0 | 6/11/12 | No | | Sí | 3 | 23/7/12 | 16/4/13 | No | | | | 19/2/19 | 0 | 26,85 |

Legenda:

- ID: Identificación del paciente.
- Edad dx (años): Edad al diagnóstico.
- Motivo del dx: Motivo del diagnóstico: 0= Síntomas; 1= Cribado/Revisión; 2= Familiar.
- Mtx Dist: Metástasis a Distancia.
- Lugar mtx: Lugar donde se ha encontrado la metástasis: 1= Duodeno; 2= Hígado; 3= Adenopatías Paraaórticas; 4= Peritoneal e Hígado; 5= Pulmón e Hígado.
- Seguim: Seguimiento.
- QT/RT: Quimioterapia o Radioterapia: 0= No; 1= Quimioterapia; 2= Radioterapia; 3= Ambos.
- Fecha Comienzo QT: Fecha de comienzo de la Quimioterapia.
- Fecha Fin QT: Fecha de Finalización de la Quimioterapia.
- Lugar de Recaída: 1= Pulmón; 2= Hígado; 3= Peritoneal; 4= Colorrectal; 5= Otros.
- Tto Post Rc: Tratamiento Post-Recaída: 0= Cirugía; 1= Quimioterapia; 2= Radioterapia; 3= Cirugía + Quimioterapia; 4= Cirugía + Rt; 5= Qt + Rt; 6= Qt + Qx + Rt; 7= No.
- Estado Post Seguim: Estado post-seguimiento: 0= Vivo; 1= Muerte por tumor; 2= Muerte por otra causa; 3= Vivo con enfermedad.
- IMC: Índice de Masa Corporal.

Tabla suplementaria II: Descripción de las características histológico-diagnósticas de los tumores incluidos en el estudio.

| Características histológico-diagnósticas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-------------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumoral | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
| 1 | 3 | 4 | 1 | 3 | 0 | 0 | Sí | Sí | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,32 | 184,44 | 99,36 | 221,06 | 3 | 2B | 4 | | 25 |
| 2 | 4 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 91,10 | 250,89 | 94,20 | 202,18 | 1 | 0 | 1 | | 8 |
| 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 18,96 | 22,15 | 99,42 | 237,70 | 2 | 1B | 3 | a | 6 |
| 4 | 2 | 0,8 | | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 99,74 | 278,71 | 2 | 0 | 1 | | 11 |
| 5 | 3 | 0,3 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,88 | 199,57 | 98,10 | 279,55 | 1 | 0 | 1 | | 6 |
| 6 | 4 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,61 | 170,47 | 95,73 | 235,68 | 2 | 0 | 1 | | 7 |
| 7 | 1 | 7 | 1 | 3 | 0 | 2 | No | No | No | 1 | 0 | 0 | 1 | 75,94 | 101,64 | 0,03 | 0,03 | 3 | 1B | 3 | b | 28 |
| 8 | 3 | 2,5 | 0 | | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 96,67 | 183,33 | 94,85 | 163,48 | 1 | 0 | 1 | | 10 |
| 9 | 4 | 5,5 | 0 | 1 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 36,82 | 63,04 | 91,03 | 155,70 | 1 | 0 | 1 | | 28 |
| 10 | 4 | 1,3 | 1 | 1 | 0 | 3 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 96,59 | 177,88 | 100,00 | 265,69 | 2 | 0 | 1 | | 5 |
| 11 | 2 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,76 | 221,99 | 99,32 | 227,94 | 3 | 0 | 2 | a | 26 |
| 12 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 92,02 | 232,60 | 3 | 0 | 2 | a | 20 |
| 13 | 3 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,77 | 181,21 | 99,55 | 253,85 | 3 | 2A | 3 | b | 19 |
| 14 | 4 | 3,5 | 1 | | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,57 | 1,64 | 100,00 | 290,95 | 2 | 0 | 1 | | 10 |
| 15 | 4 | 1,3 | 1 | | 0 | 3 | Sí | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 93,10 | 203,45 | 97,26 | 203,50 | 2 | 0 | 1 | | 15 |
| 16 | 0 | 5,5 | 1 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 55,31 | 59,08 | 99,09 | 254,47 | 3 | 0 | 2 | a | 26 |
| 17 | 2 | 3,3 | 1 | 3 | 0 | 1 | Sí | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,32 | 0,36 | 99,21 | 264,81 | 3 | 2B | 3 | c | 14 |
| 18 | 2 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 98,88 | 156,02 | 98,79 | 200,40 | 3 | 2A | 3 | b | 75 |
| 19 | 2 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 98,38 | 253,13 | 3 | 0 | 4 | | 11 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Locali z | Tama ño (cm) | Macr o | Grad o Histol ógico | Marg en Tumo ral | Buddi ng | Inv Perineu ral | Invasi ón Vascu lar | Depó sitos Tumo r | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H- score | Positivid ad CDX2 % | CDX2 H- SCORE | pT_ HE | pN_ HE | Estadi aje | Estadi aje letra | Núm Gangli os Linf |
|----|-------------|--------------------|-----------|------------------------------|---------------------------|-------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------|------|------|------|------|-------------------|-----------------|---------------------------|------------------|-----------|-----------|---------------|------------------------|--------------------------|
| 20 | 1 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 91,14 | 235,78 | 94,11 | 228,88 | 3 | 0 | 2 | a | 28 |
| 21 | 2 | 1,1 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 1 | 0 | 0 | 1 | 6,79 | 7,55 | 99,93 | 283,48 | 1 | 0 | 1 | | 18 |
| 22 | 0 | 3,4 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 1 | 93,18 | 165,91 | 98,81 | 192,03 | 2 | 0 | 1 | | 20 |
| 23 | 2 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00 | 0,00 | 99,63 | 264,25 | 3 | 0 | 2 | a | 21 |
| 24 | 4 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,47 | 0,53 | 99,69 | 225,99 | 3 | 0 | 2 | a | 34 |
| 25 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 35,68 | 45,74 | 99,56 | 261,44 | 4A | 2A | 3 | c | 17 |
| 26 | 0 | 9 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | Sí | 1 | 0 | 0 | 1 | 56,31 | 79,94 | 97,75 | 182,53 | 4A | 1C | 4 | | 13 |
| 27 | 4 | 0,6 | 0 | | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,66 | 259,43 | 100,00 | 296,67 | 2 | 0 | 1 | | 4 |
| 28 | 4 | 3 | 0 | 3 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,98 | 214,52 | 99,06 | 206,15 | 3 | 0 | 2 | a | 14 |
| 29 | 0 | 5 | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 97,33 | 218,56 | 96,55 | 238,17 | 3 | 2B | 3 | c | 26 |
| 30 | 2 | 5 | 0 | 3 | 0 | 2 | Sí | Sí | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 94,70 | 226,52 | 4A | 2 | 3 | c | 26 |
| 31 | 0 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 16,14 | 16,44 | 99,22 | 215,97 | 4A | 2A | 3 | c | 54 |
| 32 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 24,85 | 29,90 | 98,24 | 203,34 | 3 | 0 | 2 | a | 11 |
| 33 | 0 | 11 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,58 | 0,68 | 99,67 | 195,72 | 4b | 0 | 2 | c | 41 |
| 34 | 0 | 4 | 1 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 2,07 | 2,29 | 97,05 | 99,23 | 3 | 1B | 3 | b | 21 |
| 35 | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 57,13 | 82,70 | 97,84 | 266,10 | 2 | 0 | 1 | | 13 |
| 36 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 26,82 | 27,90 | 99,30 | 280,92 | 1 | 0 | 1 | | 10 |
| 37 | 1 | 6 | 0 | 3 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 70,26 | 79,22 | 90,66 | 179,98 | 4A | 0 | 2 | b | 12 |
| 38 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 48,90 | 58,57 | 98,04 | 277,53 | 3 | 1b | 3 | b | 23 |
| 39 | 4 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00 | 188,89 | 95,89 | 185,54 | 1 | 0 | 1 | | 7 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumor | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-----------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 40 | 4 | 4 | 0 | 2 | | 2 | No | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,02 | 0,02 | 94,05 | 177,87 | 4B | 2A | 3 | c | 116 |
| 41 | 0 | 3,5 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 71,65 | 110,76 | 97,59 | 277,49 | 4A | 2B | 3 | c | 14 |
| 42 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 3,13 | 3,65 | 93,42 | 204,08 | 2 | 0 | 1 | | 9 |
| 43 | 1 | 1,5 | 0 | 1 | 0 | 0 | No | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 90,02 | 242,41 | 99,48 | 234,22 | 2 | 1C | 3 | a | 2 |
| 44 | 4 | 3 | | | 0 | 3 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 95,25 | 166,45 | 99,54 | 267,36 | 3 | 1A | 3 | b | 18 |
| 45 | 0 | 4,5 | 0 | 3 | 0 | 2 | Sí | Sí | Sí | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,07 | 0,07 | 86,25 | 128,98 | 4A | 1C | 3 | b | 32 |
| 46 | 4 | 0,5 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 91,09 | 109,82 | 99,44 | 268,12 | 3 | 1B | 3 | b | 24 |
| 47 | 0 | 2,4 | 0 | 1 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 95,09 | 229,52 | 98,84 | 234,59 | 1 | 1B | 3 | a | 38 |
| 48 | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 91,07 | 259,50 | 99,58 | 196,88 | 3 | 0 | 2 | a | 18 |
| 49 | 2 | 10 | 1 | | 0 | 0 | No | No | No | 1 | 0 | 0 | 1 | 0,38 | 0,39 | 98,44 | 265,30 | 4A | 1B | 3 | b | 27 |
| 50 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,44 | 230,11 | | | 1 | 0 | 1 | | 10 |
| 51 | 0 | 7 | 0 | 3 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 100,00 | 203,84 | 3 | 1B | 3 | b | 32 |
| 52 | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 9,38 | 10,42 | 100,00 | 208,91 | 3 | 0 | 2 | a | 22 |
| 53 | 2 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 10,68 | 12,63 | 95,91 | 229,39 | 2 | 0 | 1 | | 20 |
| 54 | 2 | 6 | 0 | 2 | | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 82,68 | 103,34 | 99,13 | 216,47 | 3 | 0 | 2 | a | 26 |
| 55 | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 88,25 | 198,31 | 30,59 | 32,73 | 2 | 1A | 3 | a | 14 |
| 56 | 0 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 77,47 | 132,56 | 98,14 | 226,27 | 3 | 1B | 4 | | 17 |
| 57 | 4 | 1 | | 1 | 0 | 3 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00 | 219,54 | 99,56 | 274,53 | 1 | 0 | 1 | | 11 |
| 58 | 2 | 2,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 14,49 | 20,90 | 89,60 | 216,21 | 2 | 0 | 1 | | 29 |
| 59 | 0 | 5 | 0 | 1 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00 | 0,00 | 98,08 | 177,07 | 2 | 0 | 1 | | 16 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumoral | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-------------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|----------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 60 | 2 | 6,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 90,24 | 143,40 | 98,40 | 257,44 | 3 | 0 | 2 | a | 9 |
| 61 | 4 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,79 | 1,98 | 91,30 | 236,17 | 2 | 0 | 1 | | 14 |
| 62 | 3 | 5 | | 2 | 0 | 1 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,59 | 1,69 | 99,37 | 255,61 | 3 | 1A | 3 | b | 12 |
| 63 | 1 | 2,5 | 0 | 1 | | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,40 | 2,10 | 84,42 | 89,45 | 3 | 0 | 2 | a | 39 |
| 64 | 4 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,63 | 236,16 | 98,41 | 260,09 | 3 | 1B | 3 | b | 8 |
| 65 | 2 | 5 | 0 | 3 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 3,79 | 4,91 | 99,50 | 202,09 | 3 | 0 | 2 | a | 50 |
| 66 | 1 | 3,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 97,91 | 184,03 | 89,57 | 129,18 | 3 | 0 | 2 | a | 7 |
| 67 | 1 | 1,7 | 0 | 1 | 0 | 1 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 91,52 | 218,61 | 96,38 | 253,38 | 1 | 0 | 1 | | 14 |
| 68 | 3 | 5 | 1 | 2 | 0 | 3 | Sí | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 98,08 | 153,27 | 99,49 | 193,90 | 4B | 0 | 2 | c | 7 |
| 69 | 4 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 1,14 | 1,20 | 100,00 | 287,65 | 2 | 0 | 1 | | 33 |
| 70 | 1 | 4 | 0 | 3 | 0 | 3 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 95,52 | 173,40 | 98,43 | 246,31 | 3 | 2B | 3 | c | 56 |
| 71 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 1 | 1 | 2 | 16,71 | 16,84 | 99,27 | 148,45 | 2 | 0 | 1 | | 25 |
| 72 | 2 | 1,7 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,94 | 238,71 | 97,65 | 269,93 | 4A | 1B | 3 | b | 11 |
| 73 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 98,21 | 261,04 | 96,70 | 279,06 | 3 | 2A | 3 | b | 24 |
| 74 | 0 | 6 | 1 | | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 1 | 2 | 6,38 | 7,22 | | | 4A | 2B | 4 | | 14 |
| 75 | 0 | 6 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,10 | 0,12 | 99,96 | 244,21 | 4A | 2A | 3 | c | 28 |
| 76 | 4 | 4 | 1 | 1 | 0 | 3 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,14 | 232,97 | 0,75; 55,12 | 0,75; 91,83 | 3 | 0 | 2 | a | 29 |
| 77 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 1 | 100,00 | 200,00 | 98,65 | 258,97 | 3 | 0 | 2 | a | 2 |
| 78 | 0 | 4,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,96 | 233,79 | 74,27 | 122,50 | 3 | 2A | 3 | b | 24 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumoral | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-------------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|---------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 79 | 4 | 9 | | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 99,38 | 209,51 | 92,38; 58,05 | 161,22; 64,62 | 3 | 0 | 2 | a | 18 |
| 80 | 2 | 1,6 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 0 | 99,72 | 226,79 | 99,25 | 231,80 | 2 | 0 | 1 | | 2 |
| 81 | 4 | 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | No | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,20 | 189,16 | 100,00 | 278,08 | 2 | 2A | 3 | b | 14 |
| 82 | 2 | 2,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 92,35 | 256,40 | 96,81 | 278,07 | 1 | 0 | 1 | | 9 |
| 83 | 1 | 2,6 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,31 | 0,32 | 99,39 | 276,14 | 1 | 1B | 3 | a | 13 |
| 84 | 0 | 3,5 | 1 | 3 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 99,75 | 218,20 | 99,90 | 221,39 | 3 | 2B | 3 | c | 32 |
| 85 | 3 | 4 | 0 | 1 | 0 | 1 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 1 | 0,55 | 0,78 | 95,93 | 205,15 | 1 | 0 | 1 | | 17 |
| 86 | 4 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 25,89 | 34,52 | 98,71 | 169,26 | 3 | 2B | 4 | | 26 |
| 87 | 0 | 5,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,60 | 0,60 | | | 3 | 2A | 3 | b | 16 |
| 88 | 2 | 1,7 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 94,71 | 232,13 | 87,78 | 188,45 | 4A | 1B | 3 | b | 37 |
| 89 | 4 | 1,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 98,74 | 188,61 | 99,06 | 213,65 | 3 | 0 | 2 | a | 11 |
| 90 | 2 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,80 | 3,34 | 99,78 | 245,71 | 3 | 0 | 2 | a | 29 |
| 91 | 0 | 10 | 0 | 3 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 58,66 | 81,96 | 97,33 | 241,83 | 3 | 0 | 2 | a | 28 |
| 92 | 4 | 4 | 1 | | 0 | 3 | Sí | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,24 | 201,86 | 100,00 | 298,81 | 3 | 2B | 3 | c | 35 |
| 93 | 4 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60,32 | 68,36 | 1 | 1b | 3 | a | 14 |
| 94 | 4 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | Sí | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 99,69 | 235,41 | 2 | 1c | 3 | a | 10 |
| 95 | 4 | 4,5 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | Sí | | 0 | 0 | 0 | 1 | 90,81 | 183,71 | 98,21 | 269,36 | 3 | 0 | 2 | a | |
| 96 | 4 | 8 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 83,82 | 176,43 | 99,15 | 258,42 | 2 | 0 | 1 | | 27 |
| 97 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,87 | 0,89 | 98,81 | 271,96 | 3 | 1C | 3 | b | 9 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumor | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|-----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-----------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 98 | 0 | 5 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 94,37 | 251,67 | 100,00 | 270,40 | 4A | 2A | 3 | c | 24 |
| 99 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 32,17 | 32,17 | 97,53 | 188,54 | 3 | 1B | 3 | b | 16 |
| 100 | 2 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,22 | 183,88 | 96,62 | 274,47 | 3 | 2A | 3 | b | 18 |
| 101 | 3 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 17,01 | 17,65 | 99,63 | 263,34 | 3 | 1B | 4 | | 38 |
| 102 | 0 | 7 | 1 | 3 | 0 | 1 | No | No | No | 1 | 0 | 0 | 1 | 80,00 | 120,00 | 100,00 | 274,81 | 3 | 1B | 3 | b | 3 |
| 103 | 0 | 3,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 99,86 | 251,14 | 3 | 1B | 3 | b | 30 |
| 104 | 4 | 5 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,39 | 221,09 | 97,19 | 267,84 | 2 | 0 | 1 | | 8 |
| 105 | 4 | 2,5 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,21 | 2,21 | 100,00 | 261,24 | 2 | 1b | 3 | a | 20 |
| 106 | 2 | 2,2 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,05 | 0,05 | 99,81 | 285,88 | 3 | 0 | 2 | a | 20 |
| 107 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 94,21 | 191,00 | 100,00 | 284,00 | 1 | 0 | 1 | | 17 |
| 108 | 0 | 2,8 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 1 | 19,16 | 22,90 | 99,98 | 293,27 | 1 | 0 | 1 | | 15 |
| 109 | 4 | 1,8 | 1 | | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 54,17 | 79,69 | 98,54 | 192,34 | 3 | 1A | 3 | b | 12 |
| 110 | 2 | 5,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,76 | 181,95 | 98,21 | 272,61 | 3 | 1B | 4 | | 16 |
| 111 | 1 | 4,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 96,71 | 273,48 | 99,46 | 266,70 | 3 | 2A | 4 | | 22 |
| 112 | 3 | 5 | 0 | 2 | | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,06 | 61,16 | 99,46 | 223,15 | 3 | 0 | 2 | a | 9 |
| 113 | 2 | 5 | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,10 | 0,11 | 99,60 | 274,89 | 3 | 1A | 3 | b | 9 |
| 114 | 2 | 8 | | 2 | | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 41,62 | 43,41 | 99,51 | 219,92 | 3 | 2A | 3 | b | 15 |
| 115 | 0 | 5 | 0 | | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 69,84 | 88,34 | 98,05 | 145,12 | 1 | 0 | 1 | | 24 |
| 116 | 2 | 4,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 0,00 | 94,88 | 240,96 | 3 | 1B | 3 | b | 18 |
| 117 | 1 | 2,8 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 93,59 | 251,68 | 96,21 | 248,23 | 2 | 0 | 1 | | 39 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumoral | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|-----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-------------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 118 | 4 | 4 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 3,57 | 3,72 | 99,18 | 204,52 | 3 | 0 | 2 | a | 29 |
| 119 | 4 | 3 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 7,72 | 10,84 | | | 3 | 2A | 3 | b | 16 |
| 120 | 2 | 3,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 94,06 | 245,83 | 99,63 | 254,74 | 4A | 1B | 4 | | 13 |
| 121 | 1 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,06 | 0,06 | 95,93 | 186,00 | 3 | 1B | 3 | b | 8 |
| 122 | 4 | 4 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 7,34 | 7,93 | 96,65 | 191,54 | 3 | 0 | 2 | a | 13 |
| 123 | 1 | 3,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 96,39 | 163,12 | 99,22 | 276,38 | 3 | 1A | 3 | b | 33 |
| 124 | 0 | 2,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 0,00 | 0,00 | 97,40 | 238,47 | 2 | 2A | 3 | b | 30 |
| 125 | 4 | 2 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 95,15 | 155,21 | 99,28 | 238,44 | 2 | 0 | 1 | | 9 |
| 126 | 1 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 16,40 | 16,79 | 99,12 | 194,51 | 3 | 0 | 2 | a | 15 |
| 127 | 4 | 2,5 | 1 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 26,65 | 26,88 | 100,00 | 287,16 | 2 | 0 | 1 | | 7 |
| 128 | 4 | 3,7 | 1 | 2 | 0 | 3 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,30 | 152,25 | 99,69 | 249,04 | 3 | 1A | 3 | b | 9 |
| 129 | 2 | 2,5 | 1 | 2 | 0 | 3 | Sí | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 0 | 96,76 | 262,95 | 97,22 | 276,63 | 2 | 1B | 4 | | 11 |
| 130 | 4 | 6,5 | 1 | 1 | 1 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 15,22 | 24,91 | 83,55 | 210,19 | 3 | 2A | 3 | b | 11 |
| 131 | 4 | 3,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 89,92 | 198,24 | 100,00 | 281,56 | 2 | 0 | 1 | | 9 |
| 132 | 3 | 3 | | 2 | 0 | 0 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 97,77 | 260,71 | 99,84 | 263,65 | 4A | 1B | 3 | b | 13 |
| 133 | 2 | 2,5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,02 | 275,03 | 98,57 | 286,43 | 2 | 0 | 1 | | 17 |
| 134 | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 84,15 | 84,77 | 99,83 | 282,71 | 3 | 0 | 2 | a | 15 |
| 135 | 2 | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 77,78 | 155,56 | 91,48 | 249,82 | 2 | 0 | 1 | | 32 |
| 136 | 2 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 87,50 | 206,25 | 98,62 | 217,24 | 2 | 0 | 1 | | 8 |
| 137 | 4 | 1,5 | 0 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,74 | 224,65 | 100,00 | 266,91 | 2 | 2B | 4 | | 26 |

Características histológico-diagnósticas

| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumor | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
|-----|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-----------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| 138 | 0 | 5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 1 | 37,14 | 41,24 | 3,83; 84,98 | 4,99; 113,55 | 2 | 1B | 3 | a | 29 |
| 139 | 1 | 5,5 | 0 | 3 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 99,01 | 238,14 | 91,68 | 264,27 | 3 | 0 | 2 | a | 26 |
| 140 | 0 | 8 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 88,42 | 120,31 | 98,76 | 265,72 | 4A | 0 | 4 | b | 35 |
| 141 | 0 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,23 | 0,24 | 96,52 | 192,98 | 3 | 0 | 2 | a | 10 |
| 142 | 3 | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 83,15 | 144,46 | 99,56 | 202,94 | 3 | 1B | 3 | b | 16 |
| 143 | 3 | 1,5 | 0 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 91,66 | 157,18 | 99,82 | 250,20 | 2 | 0 | 1 | | 19 |
| 144 | 2 | 5 | 1 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 93,22 | 254,56 | 100,00 | 291,88 | 3 | 0 | 2 | a | 20 |
| 145 | 1 | 4,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 92,37 | 250,22 | 95,96 | 243,61 | 3 | 1A | 4 | | 19 |
| 146 | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 100,00 | 258,82 | 97,04 | 200,66 | 2 | 1B | 3 | a | 13 |
| 147 | 1 | 4 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,04 | 0,04 | 98,56 | 259,74 | 4A | 2A | 3 | c | 14 |
| 148 | 1 | 4,5 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 1 | 0 | 0 | 1 | 21,60 | 26,46 | 98,76 | 282,14 | 2 | 0 | 1 | | 22 |
| 149 | 0 | | | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 73,36 | 80,62 | 100,00 | 262,71 | 4A | 1A | 3 | b | 84 |
| 150 | 0 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 91,59 | 170,09 | 98,48 | 215,66 | 2 | 0 | 1 | | 16 |
| 151 | 0 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,52 | 234,65 | 97,06 | 201,21 | 3 | 0 | 2 | a | 8 |
| 152 | 4 | 3 | 1 | 1 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,77 | 218,71 | 98,25 | 254,21 | 2 | 0 | 1 | | 19 |
| 153 | 0 | 6 | 0 | 3 | | 2 | No | No | | 1 | 0 | 0 | 1 | 60,00 | 80,00 | 81,62 | 105,37 | 4A | 2A | 3 | c | 48 |
| 154 | 2 | 6 | 1 | 2 | 0 | 0 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 77,60 | 104,66 | 100,00 | 294,99 | 3 | 0 | 2 | a | 22 |
| 155 | 2 | 2,3 | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 3,99 | 4,25 | 100,00 | 286,46 | 2 | 0 | 1 | | 10 |
| 156 | 2 | 5 | | 3 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 98,36 | 187,15 | 96,09 | 251,15 | 3 | 0 | 2 | a | 12 |

| Características histológico-diagnósticas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|-------------|-------|-------------------|----------------|---------|----------------|-------------------|-----------------|------|------|------|------|-------------|-------------|--------------------|--------------|-------|-------|----------|----------------|-------------------|
| ID | Localiz | Tamaño (cm) | Macro | Grado Histológico | Margen Tumoral | Budding | Inv Perineural | Invasión Vascular | Depósitos Tumor | MLH1 | MSH2 | MSH6 | PMS2 | P53 Tumor % | p53_H-score | Positividad CDX2 % | CDX2 H-SCORE | pT_HE | pN_HE | Estadaje | Estadaje letra | Núm Ganglios Linf |
| 157 | 4 | 4 | 1 | 3 | 0 | 1 | Sí | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 99,99 | 244,36 | 97,89 | 218,00 | 4A | 1B | 3 | b | 20 |
| 158 | 1 | | | | 0 | 3 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 0 | 98,56 | 225,33 | 96,58 | 262,29 | 3 | 1A | 3 | b | 12 |
| 159 | 2 | 4 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 83,95 | 143,21 | 97,13 | 199,79 | 3 | 1A | 3 | b | 6 |
| 160 | 3 | 3,5 | 1 | 3 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 21,54 | 24,73 | 98,89 | 189,89 | 3 | 2A | 3 | b | 16 |
| 161 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 92,93 | 231,26 | 99,45 | 288,25 | 3 | 1A | 3 | b | 25 |
| 162 | 3 | 2 | | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 1 | 1 | 0 | 18,09 | 21,73 | 100,00 | 291,99 | 2 | 0 | 1 | | 17 |
| 163 | 4 | 4 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,74 | 197,32 | 98,85 | 205,34 | 3 | 1A | 3 | b | 22 |
| 164 | 2 | 7 | 1 | 2 | 0 | 2 | No | No | Sí | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,03 | 0,04 | 96,04 | 275,96 | 3 | 2B | 3 | c | 23 |
| 165 | 4 | 1,7 | | 2 | 1 | 2 | No | No | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 11,49 | 16,71 | 98,06 | 217,33 | 3 | x | 3 | b | 0 |
| 166 | 2 | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 2 | 99,80 | 197,26 | 98,52 | 214,06 | 3 | 1B | 3 | b | 6 |
| 167 | 2 | 6 | 0 | 2 | 0 | 2 | Sí | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,01 | 200,64 | 97,97 | 256,71 | 3 | 1B | 3 | b | 12 |
| 168 | 0 | 4,3 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 82,89 | 138,16 | 99,98 | 290,71 | 3 | 0 | 2 | a | 20 |
| 169 | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | No | No | No | 0 | 1 | 1 | 0 | 55,58 | 63,55 | 95,27 | 261,72 | 2 | 0 | 1 | | 26 |
| 170 | 0 | 7 | | 3 | 0 | 1 | Sí | Sí | No | 2 | 0 | 0 | 2 | 13,66 | 16,02 | 93,54; 3,02 | 265,30; 3,17 | 4A | 0 | 2 | b | 15 |
| 171 | 2 | 5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 49,08 | 65,07 | 96,74 | 184,75 | 3 | 0 | 2 | a | 31 |
| 172 | 4 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 94,90 | 185,99 | 99,77 | 256,27 | 2 | x | 3 | a | 0 |
| 173 | 2 | 5 | 0 | 2 | 0 | 2 | No | Sí | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 56,75 | 76,82 | 86,10 | 146,55 | 4A | 2A | 4 | | 14 |
| 174 | 4 | 1,5 | 1 | 2 | 0 | 3 | No | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 98,78 | 201,71 | 96,95 | 260,12 | 2 | 1B | 3 | a | 3 |

Legenda:

- ID: Identificación del paciente.
- Localiz: Localización del Tumor: 0= Colon Derecho; 1= Ángulos y Transverso; 2= Colon Izquierdo y Sigma; 3= Recto-Sigma; 4= Recto.
- Tamaño (cm): Tamaño Tumoral.
- Macro: Aspecto Macroscópico Tumoral: 0= Exofítico/ Polipoide; 1= Endofítico/ Ulcerado.
- Grado Histológico: 1= Bien Diferenciado; 2= Moderadamente Diferenciado; 3= Pobremente Diferenciado.
- Margen Tumoral: 0= Libre; 1= Afecto.
- Budding: Budding Tumoral: 0= Bajo; 1= Medio; 2= Alto; 3= Guías recomiendan no cuantificar.
- Inv Perineural: Invasión Perineural.
- MLH1, MSH2, MSH6, PMS2: Estado de Tinción de Inmunohistoquímica: 0= Intacta; 1= Negativa; 2= Heterogénea.
- P53 Tumor %: Porcentaje de Células Teñidas con Inmunohistoquímica p53.
- Positividad CDX2 %: Porcentaje de Células Teñidas con Inmunohistoquímica CDX2.
- Núm Gangl Linf: Número de Ganglios Linfáticos

Tabla suplementaria III: Descripción de las características genéticas de los tumores incluidos en el estudio.

| Características genéticas | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
| 1 | No | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 2 | No | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 0 |
| 3 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 4 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 5 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 6 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 7 | | Sí | No | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 3 |
| 8 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 9 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 10 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 11 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 12 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 13 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 14 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 15 | No | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 16 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 17 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 18 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 19 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 20 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 21 | | No | No | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | No | 2 |
| 22 | | | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | | | | 2 |
| 23 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 24 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | | 0 |
| 25 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 26 | No | No | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | Sí | 3 |
| 27 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 28 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 4 | 0 | | 1 |
| 29 | No | No | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | No | 0 |
| 30 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 31 | No | | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 32 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 33 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 34 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | | | | | 1 |
| 35 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 1 | 0 | | | 1 |
| 36 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 37 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | | | 1 |
| 38 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 39 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 40 | No | | No | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 41 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 42 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 43 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 44 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 45 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 46 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 47 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 48 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 49 | | No | No | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | No | 2 |
| 50 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 51 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 52 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 53 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 54 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 55 | Sí | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 6 | | | | 0 |
| 56 | Sí | No | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | | No | 0 |
| 57 | | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 58 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 59 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 60 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 61 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 62 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 63 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 64 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 65 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 66 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 67 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 68 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 69 | No | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 70 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | | | 1 |
| 71 | | | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 2 |
| 72 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 73 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 74 | | | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 2 |
| 75 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 76 | | | | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 0 |
| 77 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 78 | No | | | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 79 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 80 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 81 | No | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 82 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 83 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | | | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|-----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 84 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 85 | | No | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | Sí | 3 |
| 86 | Sí | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 87 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | | 0 |
| 88 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 89 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 0 |
| 90 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 91 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 92 | Sí | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 0 |
| 93 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 94 | No | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 95 | | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 96 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 97 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 98 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 99 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 100 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 101 | Sí | | No | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 102 | | No | No | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | No | 2 |
| 103 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | | 1 |
| 104 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|-----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 105 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 2 | | | 1 |
| 106 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 3 | 3 | | 1 |
| 107 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 108 | | No | Sí | 1 | 0 | 1 | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 | | | No | 2 |
| 109 | Sí | | No | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 110 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 111 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 112 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 113 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 2 | 2 | | 1 |
| 114 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 115 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 6 | | | | 1 |
| 116 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 117 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 118 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 119 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 120 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | 0 | | 1 |
| 121 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 122 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 123 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 124 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 3 | 3 | | 1 |
| 125 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 6 | | | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|-----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 126 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 127 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | | | 1 |
| 128 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | | | 1 |
| 129 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 130 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 6 | | | | 1 |
| 131 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 6 | | | | 1 |
| 132 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 133 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 134 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 135 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 136 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 137 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 138 | | Sí | No | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | | | | 2 |
| 139 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 140 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 0 | | | | 1 |
| 141 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 142 | | No | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | | | No | 0 |
| 143 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 144 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 145 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 146 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |

Características genéticas

| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
|-----|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| 147 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 148 | | No | No | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | Sí | 3 |
| 149 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | | | 1 |
| 150 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 | | | | 0 |
| 151 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 152 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 153 | | Sí | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 3 |
| 154 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 155 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 156 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 0 |
| 157 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 158 | No | No | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | Sí | 3 |
| 159 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | | | | | 0 |
| 160 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 0 | | | | 1 |
| 161 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 162 | | | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 2 |
| 163 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 1 |
| 164 | Sí | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 165 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 166 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 0 |
| 167 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | | 1 |

| Características genéticas | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|------|------|------|---------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|----------|------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| ID | KRAS | BRAF | NRAS | EMS/IMS | LOH | BAT25 | BAT26 | D2S123 | D5S346 | D17S250 | TP53 MUT | Tipo de Mutación | Tipos de Mutación p53 | MLH1 hiperCH3 | Via de carcinogénesis |
| 168 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 0 |
| 169 | | | | 3 | 2 | | | | | | 0 | | | | 2 |
| 170 | | No | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | | | No | 2 |
| 171 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | | | 1 |
| 172 | | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | | | 1 |
| 173 | No | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | | | | 1 |
| 174 | | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | | | | 0 |

Leyenda:

- ID: Identificación del paciente.
- KRAS: Mutación en KRAS.
- BRAF: Mutación en BRAF.
- NRAS: Mutación en NRAS.
- EMS/IMS: Estado de Microsatélites (Estable o Inestable): 0= EMS; 1= IMS; 2= IMS de Bajo Grado.
- LOH: Pérdida de Heterocigosidad: 0= No; 1= Sí; 2= No necesita.
- BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250: Marcadores de Microsatélites de Panel de Bethesda: 0= No IMS/ No LOH; 1= IMS; 2= LOH; 3= No informativo; 4= No válido/No realizado.
- TP53 MUT: Mutación en TP53: 0= No; 1= Sí; 6= Analizado todos los exones a excepción de 6, sin haberse encontrado mutación en el resto de los analizados.
- Tipo Mut: Tipo de Mutación TP53: 0= Missense; 1= Nonsense; 2= Splicing; 3= Frameshift; 4= Missense y Nonsense.
- MLH1hiperCH3: Hipermetilación MLH1.
- Vía de Carcinogénesis: 0= No Determinada; 1= LOH; 2= IMS; 3= Serrada.

Certificado I: Comunicación en formato póster en la XLV Reunión Anual de la SEAP-IAP

Certificado

a favor de los Dres.:

*Jose Javier Aguirre Anda, Adriano Martinez Aracil, Julen Viana Errasti, Arrate Pereda Aguirre, Alicia Narro Marin,
Guiomar Perez De Nanclares Leal*

han presentado en la XLV Reunión Anual de la SEAP-IAP, celebrada en Madrid, el 10 y 11 de febrero de 2022 la comunicación en formato "póster" titulada

CARACTERIZACIÓN DEL CANCER COLORRECTAL RECIDIVANTE EN UNA COHORTE RETROSPECTIVA UNICÉNTRICA.

Para que conste donde proceda firmo el siguiente certificado en Madrid a 17 de febrero de 2022.



Dr. José Luis Rodríguez Peralto
**Presidente de la Sociedad
Española de Anatomía Patológica**

Código de verificación/Nº registro único: SEAP-RA-CPOS-20220217-90079007

SeAP-IAP
[Sociedad Española de Anatomía Patológica]
[International Academy of Pathology]



Certificado II: Comunicación en formato póster en el 33º Congreso Europeo de Anatomía Patológica.

33rd European Congress of Pathology

Pathology: Compass for Optimal Patient Therapy

29 – 31 August 2021 – virtual



BURSARY CERTIFICATE

The abstract

p53 immunohistochemical staining and correlation with TP53 status

presented by

Adriano Pablo Martínez Aracil, Spain

during the

33rd European Congress of Pathology

has been awarded a

Bursary

Holger Moch
ESP President

Göran Elmberger
Chair of the LOC
